

Kvaliteta meda na tržištu obzirom na zahtjeve propisa o medu

Šimić, Ružica

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:760293>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-23**

REPOZITORIJ

PTF

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

Šimić Ružica

**KVALITETA MEDA NA TRŽIŠTU OBZIROM NA ZAHTJEVE
PROPISA O MEDU**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2018.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za ispitivanje hrane i prehrane
Katedra za kakvoću hrane
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Znanost o hrani i nutricionizam

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Nastavni predmet: Kontrola kakvoće hrane

Tema rada je prihvaćena na XI. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2016./2017. održanoj 25. rujna 2017.

Mentor: doc. dr. sc. *Ivana Flanjak*

Pomoć pri izradi:

Kvaliteta meda na tržištu obzirom na zahtjeve propisa o medu

Ružica Šimić, 344-DI

Sažetak: Cilj ovog rada bio je procijeniti kvalitetu uzoraka meda na tržištu. Određeni su fizikalno-kemijski parametri prema propisima i provedena je peludna analiza kako bi se provjerila uniflornost uzoraka. Analizirano je 27 uzoraka najzastupljenijih uniflornih vrsta meda na hrvatskom tržištu, meda od bagrema, lipe i kestena. Od fizikalno-kemijskih parametara određeni su: udio vode, električna vodljivost, udio HMF-a, aktivnost dijastaze, slobodne kiseline, tvari netopljive u vodi i udio ugljikohidrata. Analize su pokazale da svi uzorci zadovoljavaju propise o medu što se tiče udjela vode, slobodnih kiselina, tvari netopljivih u vodi i udjela ugljikohidrata. Kada je riječ o električnoj vodljivosti, 2 uzorka meda od kestena nisu zadovoljila kriterij naveden u propisima. Govoreći o udjelu HMF-a, 3 uzorka meda od bagrema i 2 uzorka meda od kestena nisu zadovoljila kriterije. Aktivnost dijastaze nižu od propisanih 8, imalo je 6 uzoraka meda od bagrema. Osim toga, 8 uzoraka meda od bagrema i 2 uzorka meda od kestena nisu zadovoljili kriterije s obzirom na zahtjeve za uniflornost meda.

Ključne riječi: uniflorni med, fizikalno-kemijski parametri, peludna analiza, propisi o medu

Rad sadrži: 45 stranica
5 slika
8 tablica
0 priloga
49 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

- | | |
|--|---------------|
| 1. prof. dr. sc. <i>Ljiljana Primorac</i> | predsjednik |
| 2. doc. dr. sc. <i>Ivana Flanjak</i> | član-mentor |
| 3. prof. dr. sc. <i>Daniela Čačić Kenjeric</i> | član |
| 4. izv. prof. dr. sc. <i>Ivica Strelec</i> | zamjena člana |

Datum obrane: 28. rujna 2018.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Food and Nutrition Research
Subdepartment of Food Quality
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program Food science and nutrition

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Course title: Food Quality Control

Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. XI held on September 25th, 2017

Mentor: *Ivana Flanjak*, PhD, assistant prof.

Technical assistance:

The Quality of Mercantile Honey Considering the Honey-Related Requirements

Ružica Šimić, 344-DI

Summary: The aim of this work was to evaluate quality of mercantile honey. Quality assessment was performed through determination of physicochemical parameters and pollen analysis for evaluation of uniflorality of collected samples. The analysis was conducted on 27 samples of the most abundant honey types available on Croatian market, black locust honey, lime honey and chestnut honey. Following physicochemical parameters were determined: water content, electrical conductivity, HMF content, diastase activity, free acidity, insoluble matter and carbohydrate content. The analyses showed that all samples are in compliance with regulations regarding water content, free acidity, insoluble matter and carbohydrate content. Regarding electrical conductivity, 2 samples of chestnut honey did not meet criteria proposed by regulations while 3 samples of black locust honey and 2 of chestnut honey did not meet criteria regarding HMF content. Diastase activity lower than 8 showed 6 samples of black locust honey. Furthermore, 8 samples of black locust honey and 2 of chestnut honey did not meet criteria considering pollen analysis.

Key words: unifloral honey, physicochemical parameters, pollen analysis, honey regulations

Thesis contains: 45 pages
5 figures
8 tables
0 supplements
49 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|--|--------------|
| 1. <i>Ljiljana Primorac</i> , PhD, prof. | chair person |
| 2. <i>Ivana Flanjak</i> , PhD, assistant prof. | supervisor |
| 3. <i>Daniela Čačić Kenjerić</i> , PhD, prof. | member |
| 4. <i>Ivica Strelec</i> , PhD, associate prof. | stand-in |

Defense date: September 28, 2018

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology
Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

Zahvaljujem se mentorici doc. dr. sc. Ivani Flanjak na pruženoj pomoći pri provedbi eksperimentalnog dijela i korisnim savjetima koji su mi uvelike olakšali uspješnu izradu diplomskog rada.

Zahvaljujem se svojoj obitelji koja mi je pružila bezuvjetnu ljubav, razumijevanje i potporu tijekom cijelog školovanja.

Zahvaljujem se svim svojim prijateljima koji su vjerovali u mene i bez kojih ovo petogodišnje putovanje ne bi bilo tako lako i zabavno.

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. DEFINICIJA I VRSTE MEDA.....	4
2.2. SASTAV MEDA.....	5
2.2.1. Ugljikohidrati.....	5
2.2.2. Voda.....	6
2.2.3. Aminokiseline i proteini.....	7
2.2.4. Enzimi	8
2.2.5. Vitamini i minerali	10
2.2.6. Organske kiseline	11
2.2.7. Hidroksimetilfurfural.....	11
2.3. KONTROLA KVALITETE MEDA	13
2.4. OPIS ODABRANIH VRSTA MEDA.....	18
2.4.1. Med od bagrema	18
2.4.2. Med od lipe.....	18
2.4.3. Med od kestena	19
3. EKSPERIMENTALNI DIO	20
3.1. ZADATAK	21
3.2. MATERIJALI I METODE	21
3.2.1. Peludna analiza	21
3.2.2. Određivanje vode u medu.....	22
3.2.3. Određivanje električne vodljivosti meda.....	22
3.2.4. Određivanje HMF-a prema White-u	22
3.2.5. Određivanje aktivnosti diastaze Phadebas metodom.....	22
3.2.6. Određivanje slobodne kiselosti meda	23
3.2.7. Određivanje tvari netopljivih u vodi	23
3.2.8. Određivanje ugljikohidrata u medu.....	24
4. REZULTATI.....	25
5. RASPRAVA.....	33
6. ZAKLJUČCI.....	39
7. LITERATURA.....	41

Popis oznaka, kratica i simbola

DN	Dijastatski broj
F/G	Omjer udjela fruktoze i glukoze
F+G	Zbroj udjela fruktoze i glukoze
G/W	Omjer udjela glukoze i vode
HMF	Hidroksimetilfurfural
MP	Ministarstvo poljoprivrede
MPRRR	Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja
SO	Standardno odstupanje
$\bar{x}$	Prosječna vrijednost

1. UVOD

Med je pčelinji proizvod, slatka tvar koju proizvode medonosne pčele (*Apis mellifera*) iz nektara različitih biljaka ili medne rose (Anklam, 1998). Koristi se od davnina kao prirodni zaslađivač te u medicinske svrhe u apiterapiji, grani alternativne medicine koja koristi med i ostale pčelinje proizvode u liječenju različitih bolesti (Bogdanov i sur., 2008). U prehrambenoj industriji koristi se kao aditiv u mnogim pićima i prehrambenim proizvodima (Pasias i sur., 2017).

Najzastupljenije komponente meda su monosaharidi fruktoza i glukoza. Od ostalih ugljikohidrata prisutni su disaharidi maltoza, saharoza, izomaltoza, te oligosaharidi poput rafinoze. Osim ugljikohidrata, med sadrži različite organske i anorganske kiseline, aminokiseline, proteine, enzime, flavonoide, vitamine...(Lugomer i sur., 2017). Neke tvari koje ulaze u sastav meda potječu od biljaka, neke su dodane od strane pčela, a treće pak nastaju dozrijevanjem meda (Anklam, 1998). Sastav meda je promjenjiv i ovisi o različitim čimbenicima kao što su klimatski uvjeti, geografsko podrijetlo, vrsta pčela, uvjeti procesiranja i skladištenja. Zbog toga ne postoje dva identična uzorka meda (Lugomer i sur., 2017).

Kao vrijedan prehrambeni proizvod, med se često nastoji krivotvoriti s ciljem stjecanja financijske prednosti (Easter Strayer i sur., 2014). Kontrola kvalitete meda na tržištu uključuje određivanje autentičnosti meda s dva različita aspekta. Određivanje autentičnosti meda s aspekta proizvodnje uključuje različite fizikalno-kemijske parametre koji mogu ukazati na nepropisno rukovanje medom prilikom proizvodnje, procesiranja ili skladištenja. Autentičnost u pogledu označavanja vrste i/ili geografskog podrijetla meda, osim fizikalno-kemijskih parametara koji se koriste u rutinskoj kontroli, uključuje određivanje manje zastupljenih komponenti meda te peludnu (melisopalinološku) i senzorsku analizu (Bogdanov i Martin, 2002). Kako se prilikom određivanja autentičnosti meda oba aspekta uzimaju u obzir, kontrola kvalitete meda uključuje sva tri komplementarna pristupa (fizikalno-kemijske parametre, melisopalinološku i senzorsku analizu) (Persano Oddo i sur., 2004). Kriteriji kvalitete koje svaki med na tržištu mora zadovoljiti određeni su međunarodnim standardima i nacionalnim zakonodavstvom pojedinih zemalja. Postojanje razlika između međunarodnih standarda te nedosljednost nacionalnih propisa pojedinih zemalja s međunarodnim standardima doprinosi nastanku prepreka i nepoštenom tržišnom natjecanju. Sve su to razlozi zbog kojih je potrebno odrediti minimalne zahtjeve koji će biti obvezni za sve zemlje koje proizvode te uvoze ili izvoze med (Bogdanov i Martin, 2002).

Cilj rada bio je utvrditi kvalitetu meda od bagrema (*Robinia pseudoacacia* L.), lipe (*Tilia* sp.) i kestena (*Castanea sativa* Mill.) dostupnih na tržištu obzirom na zahtjeve propisa o medu.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. DEFINICIJA I VRSTE MEDA

Prema Pravilniku o medu (MP, 2015): „Med jest prirodno sladak proizvod što ga medonosne pčele (*Apis mellifera*) proizvode od nektara medonosnih biljaka ili sekreta živih dijelova biljaka ili izlučevina kukaca koji sišu na živim dijelovima biljaka, koje pčele skupljaju, dodaju mu vlastite specifične tvari, pohranjuju, izdvajaju vodu i odlažu u stanice saća do sazrijevanja.“

Med se dijeli prema podrijetlu i prema načinu proizvodnje i/ili prezentiranja. Prema podrijetlu razlikuje se cvjetni ili nektarni med te medljikovac ili medun. **Cvjetni med** se dobiva iz nektara različitih medonosnih biljaka i može biti uniflorni ili poliflorni. **Medljikovac** se pak proizvodi od sekreta živih dijelova biljaka ili izlučevina kukaca iz roda *Hemiptera* koji žive na živim dijelovima biljaka (MP, 2015).

Prema načinu proizvodnje i/ili prezentiranja razlikuje se med u saću, med sa saćem ili med s dijelovima saća, cijedeni med, vrcani med, prešani med te filtrirani med. **Med u saću** skladište pčele u stanicama svježe izgrađenog saća bez legla ili u satnim osnovama izgrađenim isključivo od pčelinjeg voska, a prodaje se u poklopljenom saću ili u sekcijama takvog saća. **Med sa saćem ili med s dijelovima saća** sadrži jedan ili više dijelova saća. **Cijedeni med** se dobiva ocjeđivanjem otklopljenog saća bez legla. **Vrcani med** se pak dobiva vrcanjem otklopljenih saća bez legla, dok se **prešani med** dobiva prešanjem saća bez legla. Pritom se kod potonjeg mogu, ali i ne moraju koristiti umjerene temperature koje ne prelaze 45 °C. **Filtrirani med** karakterizira značajno manje peludi koje ostaje na membranama prilikom uklanjanja stranih anorganskih ili organskih tvari filtracijom (MP, 2015).

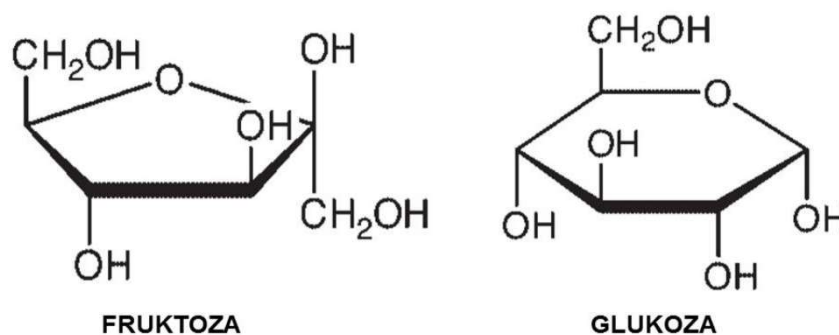
U posebnu skupinu izvdaja se **pekarski med** koji je prema Pravilniku o izmjenama Pravilnika o medu (MP, 2017) zamijenjen izrazom **med za industrijsku uporabu**. Takav med koristi se u industriji ili kao sastojak hrane koja se potom prerađuje te kao takav može imati strani okus ili miris ili biti u stanju vrenja ili prevrio ili biti pregrijan (MP, 2015).

2.2. SASTAV MEDA

Med je namirnica koja sadrži oko 200 različitih spojeva od kojih su najzastupljeniji ugljikohidrati i voda. Kemijski sastav meda je varijabilan zbog širokog raspona biljnih izvora iz kojih se dobiva nektar (Ball, 2007). Varijabilnost u sastavu primjećuje se i kod medova koji potječu od istog biljnog izvora, a rezultat je sezonskih klimatskih promjena ili različitog geografskog podrijetla (Anklam, 1998). Ipak, uniflorne vrste meda pokazuju manju varijabilnost u kemijskom sastavu zbog veće dosljednosti u sastavu nektara (Ball, 2007). Postoje i razlike u sastavu cvjetnog meda u odnosu na medljikovac pa tako potonji ima veći udio pepela i oligosaharida, a manji udio monosaharida (Pita-Calvo i Vázquez, 2017). Općenito, med sadrži 80 - 85 % ugljikohidrata, 15 - 21 % vode, do 0,3 % proteina te 0,02 - 1,03 % minerala (Ball, 2007; Ullah Khan i sur., 2018). Od ostalih spojeva koji su prisutni u manjim količinama nalaze se organske kiseline, vitamini, minerali i elementi u tragovima, pigmenti, fenolni spojevi, hlapivi spojevi i krute čestice koje dopijevaju u med tijekom njegova nastajanja (Missio da Silva i sur., 2016).

2.2.1. Ugljikohidrati

Ugljikohidrati čine približno 95 - 99 % suhe tvari meda (Rao i sur., 2016). Najzastupljeniji su monosaharidi, glukoza i fruktoza (**Slika 1**), koji predstavljaju oko 75 % ugljikohidrata u medu. Kod većine medova dominantni monosaharid je fruktoza s prosječnom koncentracijom od 38,38 %, izuzev meda uljane repice i maslačka gdje udio glukoze može biti veći od udjela fruktoze (Missio da Silva i sur., 2016; Ullah Khan i sur., 2018). Sljedeći monosaharid po zastupljenosti je glukoza s prosječnom koncentracijom od 30,31 %. Od ostalih ugljikohidrata u medu se još nalazi 10 - 15 % disaharida i male količine drugih ugljikohidrata. Prosječna koncentracija disaharida saharoze je 1,31 %. Ostali disaharidi prisutni u medu su maltoza, turanoza, izomaltoza, maltuloza, trehaloza, nigerioza, kojibioza. U medu se nalaze i trisaharidi poput maltotrioze i melezitoe. Viši ugljikohidrati, oligosaharidi i dekstrini čine do 1 % ukupnih ugljikohidrata (Missio da Silva i sur., 2016; Ullah Khan i sur., 2018). Udio ugljikohidrata u medu nije stalan i mijenja se s vremenom tijekom skladištenja (Ball, 2007). Ovisno o temperaturama skladištenja utvrđene su manje ili veće promjene u koncentraciji fruktoze, glukoze i saharoze (Missio da Silva i sur., 2016).



Slika 1 Najzastupljeniji ugljikohidrati u medu (Ball, 2007)

Ugljikohidrati u medu sposobni su zakretati ravninu linearno polariziranog svjetla pri čemu su smjer i stupanj rotacije karakteristični za pojedini ugljikohidrat. Fruktaza pokazuje negativnu specifičnu rotaciju, dok glukoza, disaharidi i oligosaharidi pokazuju pozitivnu specifičnu rotaciju (Primorac i sur., 2011b). Stoga, ukupna specifična rotacija meda ovisi o ugljikohidratnom profilu meda. Zbog većeg sadržaja fruktoze, cvjetni medovi pokazuju negativnu specifičnu rotaciju. Medljikovac pak pokazuje pozitivnu specifičnu rotaciju zbog većeg sadržaja glukoze, disaharida i oligosaharida u odnosu na cvjetni med. Razlike u specifičnoj rotaciji različitih vrsta meda mogu doprinijeti razlikovanju cvjetnog meda od medljikovca ili samoj karakterizaciji cvjetnog meda (Primorac i sur., 2011b).

Ugljikohidrati prisutni u medu odgovorni su za svojstva poput energetske vrijednosti meda, viskoznosti, higroskopnosti, granulacije i kristalizacije. Omjer udjela fruktoze i glukoze (F/G) je koristan pri procjeni brzine kristalizacije meda, što je povezano sa većom topljivosti fruktoze u vodi za razliku od glukoze. Zbog toga medovi s većim sadržajem glukoze (med uljane repice i maslačka) brže kristaliziraju. Prosječan omjer udjela fruktoze i glukoze je 1,2:1 iako on uvelike ovisi o izvoru nektara (Anklam, 1998; Missio da Silva i sur., 2016). Osim u procjeni kristalizacije, omjer udjela fruktoze i glukoze je uz omjer udjela glukoze i vode te koncentraciju fruktoze i glukoze koristan pokazatelj prilikom klasifikacije uniflornih medova (Bogdanov i sur., 2004).

2.2.2. Voda

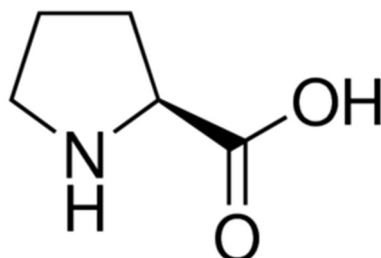
Nakon ugljikohidrata voda je drugi najzastupljeniji sastojak meda. Udio vode ovisi o brojnim čimbenicima kao što su botaničko podrijetlo meda, stupanj postignute zrelosti u košnici, metodama prerade i uvjetima skladištenja (Missio da Silva i sur., 2016). Primjereni uvjeti

procesiranja i skladištenja važni su jer je med higroskopan pa apsorbira vlagu iz zraka. Med s većim udjelom vode trebati će veću relativnu vlažnost zraka kako bi apsorbirao vlagu od meda s manjim udjelom vode (Bogdanov, 2011). Udio vode kreće se u rasponu 15 - 21 % i predstavlja važan parametar pri određivanju kvalitete meda, prije svega trajnosti meda (Missio da Silva i sur., 2016). Postoji veza između udjela vode u medu i broja kvasaca, pri čemu veći udio vlage znači i veći broj kvasaca koji često uzrokuju fermentaciju. Kod medova sa udjelom vlage 17 % i manje, zbog nepovoljnih uvjeta za razvoj kvasaca, postoji minimalna opasnost od fermentacije. Voda u medu ne nalazi se sva u slobodnom obliku već je dio vezan za ugljikohidrate i kao takva je nedostupna mikroorganizmima. Dakle, samo onaj dio vode koji se nalazi u slobodnom obliku u medu je mikrobiološki aktivan, tj. dostupan mikroorganizmima za fermentaciju. Aktivitet vode (a_w vrijednost) označava udio slobodne vode u namirnicama i zbog toga je bolji parametar kvalitete pri utvrđivanju mikrobiološkog kvarenja meda od udjela vode. Vrijednosti aktiviteta vode u medu kreću se u rasponu 0,55 - 0,75 pri čemu su samo medovi s aktivitetom vode $< 0,60$ mikrobiološki stabilni (Bogdanov, 2011). Kristalizacija glukoze u medu dovodi do povećanja vrijednosti aktiviteta vode što za posljedicu može imati fermentaciju meda od strane osmofilnih kvasaca pri čemu dolazi do promjene kvalitete meda zbog nastanka spojeva kao što su etanol i ugljikov dioksid (Missio da Silva i sur., 2016). Udio vode utječe i na fizikalna svojstva meda kao što su boja, miris i okus meda, relativna gustoća, topljivost, fluidnost, viskoznost i kristalizacija (Missio da Silva i sur., 2016). Tako primjerice, veći udio vode u medu znači manju viskoznost i relativnu gustoću, a veću fluidnost meda (Bogdanov, 2011).

2.2.3. Aminokiseline i proteini

Proteini i aminokiseline u medu mogu potjecati iz biljnih (pelud) i životinjskih (pčele) izvora (Missio da Silva i sur., 2016). Aminokiseline su osnovne građevne jedinice proteina. Nastaju razgradnjom proteina, bilo kemijskim putem ili probavnim procesima. U medu se nalaze vezane u obliku proteina ili u slobodnom obliku. Slobodne aminokiseline u medu zastupljene su u malom udjelu i zbog toga nemaju nutritivni značaj (White i Doner, 1980). Udio aminokiselina u medu kreće se oko 1 % (ovisno o podrijetlu meda) pri čemu je prolin najzastupljenija aminokiselina sa udjelom od 50 do 80 % ukupnih aminokiselina (Missio da Silva i sur., 2016; Pita-Calvo i Vázquez, 2017). Uglavnom nastaje kao produkt izlučivanja žlijezda slinovnica u pčela tijekom pretvorbe nektara u med (Missio da Silva i sur., 2016). Udio prolina koristi se kao pokazatelj zrelosti meda i mogućeg krivotvorenja meda dodatkom šećera. U zrelim i nekrivotvorenim medovima, udio prolina mora biti veći od 180 mg/kg, a prema nekim autorima veći od 200 mg/kg. U suprotnom se med smatra nezrelim i

krivotvorenim (Hermosín i sur., 2003; Missio da Silva i sur., 2016; Pita-Calvo i Vázquez, 2017). Velike varijacije udjela prolina u različitim uniflornim medovima onemogućavaju upotrebu spomenutog parametra pri klasifikaciji uniflornih medova (Bogdanov i sur., 2004). Kemijska struktura prolina prikazana je na **Slici 2**.



Slika 2 Kemijska struktura prolina (Merck, 2017)

Ostale aminokiseline prisutne u medu su glutamin, glutaminska kiselina, asparagin, asparaginska kiselina, histidin, glicin, treonin, arginin, α -alanin, β -alanin, γ -aminomaslačna kiselina, prolin, tirozin, valin, metionin, cistein, leucin, izoleucin, triptofan, fenilalanin, ornitin, lizin i serin (Missio da Silva i sur., 2016). Njihova relativna zastupljenost ovisi o podrijetlu meda (Hermosín i sur., 2003). Aminokiseline stupaju u reakciju sa šećerima tvoreći žute i smeđe produkte što se očituje tamnjenjem meda. Do reakcije dolazi dugotrajnim skladištenjem i zagrijavanjem meda. Iako se navedena reakcija odvija i u uvjetima bez primjene toplinske obrade, zagrijavanjem se reakcija odvija većom brzinom (White i Doner, 1980). Kako je pelud glavni izvor aminokiselina u medu, aminokiselinski profil meda može poslužiti za određivanje njegovog botaničkog podrijetla (Hermosín i sur., 2003).

2.2.4. Enzimi

Proteini u medu se nalaze i u obliku enzima poput invertaze (saharaze ili α -glukozidaze), β -glukozidaze, diastaze (amilaze), glukoza oksidaze, katalaze i kisele fosfataze (Ullah Khan *et al.*, 2018). Prisutnost enzima u medu razlikuje ga od ostalih zaslađivača. Neki enzimi potječu od peludi ili nektara, neke u med dodaju pčele prilikom pretvorbe nektara u med, a neki pak mogu nastati djelovanjem kvasaca i mikroorganizama koji se nalaze u medu. Enzimska aktivnost različitih vrsta meda se znatno razlikuje premda enzimi uglavnom potječu od pčela (Persano Oddo i sur., 1999; Bogdanov i sur., 2004). Zbog toga se enzimsko aktivnost može koristiti za klasifikaciju uniflornih vrsta meda pod uvjetom da su uzorci meda svježiji jer

aktivnost enzima u medu opada skladištenjem i primjenom temperature (Bogdanov i sur., 2004). Naime, svi enzimi u medu su osjetljivi na toplinu i zagrijavanjem se njihova aktivnost smanjuje ili potpuno inaktivira (White i Doner, 1980). Iz tog razloga je rasprostranjena uporaba enzimске aktivnosti kao pokazatelja svježine meda (Persano Oddo i sur., 1999). U medu se još mogu pronaći proteolitički enzimi (proteaze) koji razgradnjom proteina u medu utječu na kvalitetu i nutritivna svojstva meda (Naila i sur., 2018).

Invertaza (saharaza, sukraza, α -glukozidaza) je enzim koji katalizira pretvorbu saharoze u glukozu i fruktozu, glavne šećere u medu. Osim toga, katalizira pretvorbe mnogih drugih šećera. Zbog toga je dijelom odgovorna za ugljikohidratni profil meda (Persano Oddo i sur., 1999; Ullah Khan i sur., 2018). Kako invertaza sudjeluje i u reakcijama sinteze saharoze, razina saharoze u medu nikada neće doseći nulu. Konačni udio saharoze dakle predstavlja ravnotežu između razgradnje i sinteze (White i Doner, 1980). Osjetljivija je na temperaturu, skladištenje i druga fizikalna djelovanja od diastaze (Sancho i sur., 1992). Aktivnost invertaze koristi se u kontroli kvalitete meda kao dodatni parametar kvalitete koji ukazuje na svježinu meda (Bogdanov i sur., 1999).

Dijastaza pripada skupini amilolitičkih enzima (α -amilaze i β -amilaze). α -amilaze hidroliziraju α -D-(1 $\rightarrow$ 4) veze u lančanim molekulama škroba tvoreći dekstrin, dok β -amilaze hidroliziraju škrob na samim krajevima lanca pri čemu nastaje maltoza (Missio da Silva i sur., 2016). Nalazi se u promijenjivim količinama u svim vrstama meda (White i Doner, 1980). Relativno je stabilna na toplinu i uvjete skladištenja (Ullah Khan i sur., 2018). Ipak, primjenom povišenih temperatura aktivnost enzima opada (Šarić i sur., 2008). Zato se aktivnost diastaze koristi kao jedan od glavnih parametara u određivanju intenziteta zagrijavanja meda tijekom procesiranja i skladištenja (Lugomer i sur., 2017). Količina diastaze u medu je varijabilna, a vrijednosti ovise o biljnom te geografskom podrijetlu meda (Karimov i sur., 2014; Missio da Silva i sur., 2016).

Glukoza oksidaza, uz katalazu, regulira proizvodnju vodikovog peroksida u medu, jednog od antibakterijskih komponenti meda (Ullah Khan i sur., 2018). Naime, ona katalizira pretvorbu glukoze u δ -glukonolakton. On se zatim hidrolizira u glukonsku kiselinu, glavnu organsku kiselinu u medu. Pri pretvorbi glukoze u δ -glukonolakton nastaje vodikov peroksid koji ima baktericidno djelovanje (Missio da Silva i sur., 2016). Glukoza oksidaza potječe od pčela koje ovaj enzim luče iz hipofaringealnih žlijezda (White, 1978). Kao i kod ostalih enzima, količina glukoza oksidaze je varijabilna ovisno o vrsti meda (White i Doner, 1980).

Katalaza je enzim koji razgrađuje vodikov peroksid na vodu i kisik. Za razliku od glukoza oksidaze, ona potječe najvećim dijelom od peludi i manjim dijelom od nektara. Zbog toga

količina katalaze u medu, a time i vodikovog peroksida, ovisi o biljnom izvoru peludi, količini peludi koju je pčela prikupila i katalaznoj aktivnosti peludi (Weston, 2000).

Kisela fosfataza je hidrolaza koja hidrolizira organske fosfate u anorganske (Alonso-Torre i sur., 2006). Enzim u med uglavnom dospijeva iz peludi i dijelom iz nektara koji ga sadrži u dovoljnoj količini da doprinese aktivnosti u medu (White, 1978). Pokazuje manju enzimsku aktivnost od dijastaze, invertaze i glukoza oksidaze. Također je manje otporan na zagrijavanje i skladištenje od gore navedenih enzima. Vrijednosti kisele fosfataze povezuju se s kvarenjem meda uzrokovanim fermentacijom pri čemu je zapaženo da fermentirani medovi imaju veću aktivnost kisele fosfataze od onih koji nisu fermentirani. Prema nekim istraživačima postoji povezanost između kisele fosfataze i botaničkog podrijetla meda koja ga čini prikladnim parametrom pri karakterizaciji meda (Alonso-Torre i sur., 2006).

2.2.5. Vitamini i minerali

Med sadrži male količine vitamina čija je koncentracija izražena u ppm. Zbog toga se med ne smatra značajnim izvorom vitamina u prehrani (Ball, 2007). U medu se nalaze vitamini B skupine poput tiamina (vitamina B1), riboflavina (vitamina B2), nikotinske kiseline ili niacina (vitamina B3), pantotenske kiseline (vitamina B5), piridoksina (vitamina B6), biotina (vitamina B8 ili H) i folne kiseline (vitamina B9) (Rao i sur., 2016). Osim vitamina B skupine, u medu se nalazi askorbinska kiselina ili vitamin C koji je prisutan u gotovo svim vrstama meda te ima antioksidativni učinak (Missio da Silva i sur., 2016). Od ostalih vitamina prisutni su još retinol (vitamin A), tokoferol (vitamin E) i vitamin K (Meo i sur., 2017). Niski pH meda omogućava očuvanje vitamina. Ipak, njihov udio nije stalan te se mijenja uslijed rukovanja medom ili zbog određenih kemijskih reakcija koje se odvijaju u medu. Filtriranje meda smanjuje udio vitamina jer dolazi do gotovo potpunog uklanjanja peludi.

Sastav i količina mineralnih tvari u medu prvenstveno ovisi o njegovom botaničkom podrijetlu (Primorac i sur., 2011a). Svijetli nektarni medovi, poput meda od bagrema, tako imaju manji udio minerala od tamnijih medova poput medljikovca, meda od kestena i meda od vrijeska (Bogdanov i sur., 2007; Primorac i sur., 2011a). Osim o podrijetlu, udio minerala ovisi i o vrsti tla (Primorac i sur., 2011a). Najzastupljeniji mineral je kalij (K), a u manjim količinama nalaze se još sumpor (S), klor (Cl), kalcij (Ca), fosfor (P), magnezij (Mg), natrij (Na), željezo (Fe), bakar (Cu), silicij (Si) i mangan (Mn) (Ball, 2007). Teški metali poput arsena (As), olova (Pb), žive (Hg) i kadmija (Cd) imaju toksični učinak pa je njihova kvantifikacija važna u procjeni učinka na ljudsko zdravlje s tim više što je zapažena povećana koncentracija navedenih elemenata u uzorcima meda s industrijskih područja (Missio da Silva i sur., 2016). Zbog okolišnih čimbenika (zagađenje) koji utječu na vrijednosti minerala i elemenata u tragovima,

određivanje njihova udjela može ukazati na geografsko podrijetlo meda (Anklam, 1998). Iako razlike u udjelu minerala i elemenata u tragovima postoje, one nisu značajne i prema nekim autorima više su rezultat različitog botaničkog podrijetla meda nego geografskih i okolišnih čimbenika. Ipak, neosporno je da sva tri čimbenika utječu na udio minerala i elemenata u tragovima (Bogdanov i sur., 2007). Za razliku od vitamina i aminokiselina, minerali su stabilni i ne podliježu razgradnji djelovanjem svjetla, topline, oksidacijskih sredstava, pH i drugih čimbenika (Missio da Silva i sur., 2016).

2.2.6. Organske kiseline

Med sadrži prosječno 0,57 % organskih kiselina koje doprinose njegovom blago kiselkastom okusu i mikrobiološkoj stabilnosti (Missio da Silva i sur., 2016; Bogdanov i sur., 2004). Povezuju se i s kemijskim svojstvima meda poput kiselosti, pH i električne vodljivosti (Missio da Silva i sur., 2016). pH vrijednosti meda kreću se u rasponu 3,5 - 5,5 (Bogdanov i sur., 2004; Ball, 2007; Pita-Calvo i Vázquez, 2017). Iako se prvotno mislilo kako su mravlja i limunska kiselina dominantne organske kiseline u medu, najzastupljenija organska kiselina je ipak glukonska kiselina (Ball, 2007). Nastaje iz šećera glukoze djelovanjem enzima glukoza oksidaze koji izlučuju pčele. Ostale kiseline prisutne u medu su maslačna, octena, fumarna, galakturonska, glutarna, ketoglutarna, mliječna, jabučna, malonska, propionska, pirogroždana, šikiminska, jantarna, vinska, oksalna... Organske kiseline se također koriste za dokazivanje botaničkog i/ili geografskog podrijetla meda (Missio da Silva i sur., 2016).

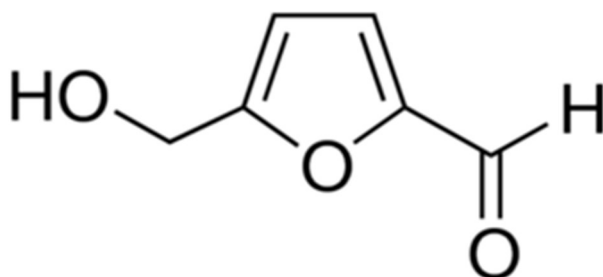
2.2.7. Hidroksimetilfurfural

Toplinska obrada meda je praktična metoda kojom se postiže uništavanje mikroorganizama, prevencija ili odgoda kristalizacije i olakšava se punjenje u ambalažu uslijed smanjenja viskoziteta (Biluca i sur., 2014). Med se najčešće zagrijava na temperature 32 – 40 °C koje su vrlo slične onim u košnicama. Ako se med izloži takvim temperaturama tijekom kratkog vremena obrade, to neće mnogo utjecati na kvalitetu. Ipak, neki se uzorci meda iz različitih razloga (otapanje, pasterizacija) podvrgavaju većim temperaturama što pogoduje nastanku hidroksimetilfurfurala (HMF-a) (Anklam, 1998; Biluca i sur., 2014).

Hidroksimetilfurfural (5-(hidroksimetil)furan-2-karbaldehid) je furanski spoj koji nastaje razgradnjom monosaharida (heksoza) u kiselom mediju ili Maillardovim reakcijama kada se med zagrijava ili skladišti na duži vremenski period (Missio da Silva i sur., 2016). Kako je fruktoza termolabilnija u odnosu na glukozu i saharozu, većinom je odgovorna za nastanak

HMF-a (Karimov i sur., 2014). Uz aktivnost dijastaze i invertaze, udio HMF-a je pokazatelj pregrijavanja i svježine meda (Naila i sur., 2018). Naime, velike količine HMF-a nastaju prekomjernim zagrijavanjem za vrijeme procesiranja ili neadekvatnim uvjetima skladištenja (Pita-Calvo i Vázquez, 2017). Koncentracija HMF-a značajno raste kako se povećava vrijeme skladištenja i temperatura toplinske obrade meda. Nastanak HMF-a ovisi i o drugim čimbenicima kao što su profil ugljikohidrata u medu, prisutnost organskih kiselina, pH, udio vlage, aktivitet vode i biljni izvor (Missio da Silva i sur., 2016). Tako primjerice, veći udio organskih kiselina i nizak aktivitet vode pogoduju stvaranju HMF-a (Amri i Ladjama, 2013). Dugotrajnim skladištenjem pri niskim temperaturama mogu nastati manje koncentracije HMF-a kao rezultat Maillardovih reakcija koje se sporije odvijaju pri spomenutim uvjetima (Biluca i sur., 2014). Visoki sadržaj HMF-a može ukazati na krivotvorenje meda dodatkom sirupa od invertnog šećera (Amri i Ladjama, 2013; Missio da Silva i sur., 2016).

Studije *in vitro* ukazale su na citotoksično, genotoksično, mutageno i karcinogeno djelovanje HMF-a. Zbog toga je nužno praćenje njegove koncentracije u medu (Biluca i sur., 2014). Kemijska struktura HMF-a prikazana je na **Slici 3**.



Slika 3 Kemijska struktura HMF-a (Merck, 2018)

2.3. KONTROLA KVALITETE MEDA

Visoka vrijednost nekih prehrambenih proizvoda razlog je čestog krivotvorenja takvih proizvoda s ciljem stjecanja ekonomske dobiti. Med se također ubraja u jedan od takvih prehrambenih proizvoda. Krivotvorenje u svrhu stjecanja ekonomske dobiti predstavlja svjesno, odnosno namjerno prodavanje bilo kakvih proizvoda koji ne zadovoljavaju standarde. Takva vrsta prijevare uključuje namjernu zamjenu ili dodatak neke tvari u svrhu povećanja vrijednosti konačnog proizvoda ili pak smanjenja troškova njegove proizvodnje. Regulatorna tijela i trgovinske organizacije imaju ulogu u sprječavanju ovakvih radnji i osiguravanju sigurnih, visokokvalitetnih i primjereno označenih prehrambenih proizvoda na međunarodnom tržištu (Easter Strayer i sur., 2014).

Autentičnost meda određena je međunarodnim standardima kao i nacionalnim zakonodavstvom pojedinih zemalja. Kada se stavlja na tržište ili upotrebljava u bilo kojem proizvodu namijenjenom za konzumaciju, u Republici Hrvatskoj med mora zadovoljiti određene kriterije sastava i kakvoće propisane Pravilnikom o medu (MP, 2015) koji je usklađen sa međunarodnim propisima (Codex Alimentarius Commission, 2001; Vijeće Europske unije, 2002). Ne smije sadržavati nikakve dodatke, uključujući prehrambene aditive i druge komponente koje nisu prirodno prisutne u medu. Mora biti svojstvenog okusa i mirisa, odnosno za vrijeme procesiranja i skladištenja ne smije doći do apsorpcije komponenata okusa i mirisa iz stranih primjesa. Ne smije sadržavati strane organske i anorganske tvari, kukce i njihove dijelove, izmet, plijesni... Nije dozvoljeno uklanjanje peludnih zrnaca ili drugih sastojaka karakterističnih za med, osim pri uklanjanju stranih organskih i anorganskih tvari kada je to neizbježno. Med ne smije fermentirati, pjeniti se niti biti podvrgnut zagrijavanju ili procesiranju do te mjere koja bi dovela do promjene u sastavu ili smanjenja kvalitete konačnog proizvoda. Također, ne smije biti podvrgnut nikakvim kemijskim ili biokemijskim procesima koji bi imali utjecaja na njegovu kristalizaciju (Codex Alimentarius Commission, 2001; Vijeće Europske Unije, 2002; Ruoff and Bogdanov, 2004). Kriteriji sastava meda koji se stavlja na tržište ili se koristi kao dodatak proizvodima namijenjenim za konzumaciju navedeni su u **Tablici 1**, a uključuju udio ugljikohidrata (zbroj fruktoze i glukoze, udio saharoze), udio vode, udio tvari netopljivih u vodi, električnu vodljivost, slobodne kiseline, aktivnost dijastaze te udio HMF-a (MP, 2015).

Tablica 1 Kriteriji sastava meda na tržištu (MP, 2015)

Parametar	Granične vrijednosti
Količina šećera	
Količina fruktoze i glukoze (zbroj)	
cvjetni (nektarni) med	≥ 60 g/100g
medljikovac, miješani med	≥ 45 g/100g
Količina saharoze	
općenito	≤ 5 g/100g
bagrem, lucerna, slatkovina, eukaliptus, agrumi, <i>Banksia menziesii</i> , <i>Eucryphia lucida</i> , <i>Eucryphia miliganii</i>	≤ 10 g/100g
lavanda, boražina	≤ 15 g/100g
Količina vode	
općenito	≤ 20 %
vrijesak i pekarski med općenito	≤ 23 %
pekarski med od vrijeska	≤ 25 %
Količina tvari netopljivih u vodi	
općenito	≤ 0,1 g/100g
prešani med	≤ 0,5 g/100g
Električna provodnost	
vrste meda koje nisu dolje navedene i njihove mješavine	≤ 0,8 mS/cm
medljikovac i med kestena i njihove mješavine, osim dolje navedenih	≥ 0,8 mS/cm
iznimke: planika, vrijes, eukaliptus, lipa, vrijesak, manuka, čajevac	
Slobodne kiseline	
općenito	≤ 50 mEq/1000g
pekarski med	≤ 80 mEq/1000g
Aktivnost diastaze utvrđene nakon prerade i miješanja	
općenito, osim pekarskog meda	≥ 8
vrste s prirodno niskom količinom enzima i HMF < 15mg/kg	≥ 3
HMF nakon prerade i miješanja	
općenito, osim pekarskog meda	≤ 40 mg/kg
medovi iz regija tropske klime i mješavine istih	≤ 80 mg/kg

Ako je označeno i botaničko podrijetlo meda, osim gore navedenih fizikalno-kemijskih parametara, med mora zadovoljiti dodatne zahtjeve određene Pravilnikom o kakvoći uniflornog meda (MPRRR, 2009). Općenito vrijedi da se med može označiti prema određenoj biljnoj vrsti ako u netopljivom sedimentu sadrži minimalno 45 % peludnih zrnaca iste biljne vrste. Iznimno, zbog prirodnih karakteristika pojedinih biljnih vrsta (podzastupljenost ili

prezastupljenost peludi u odnosu na količinu nektara), med se može deklarirati kao uniflorni sa manje ili više od 45 % peludnih zrnaca u netopljivom sedimentu. U **Tablici 2** navedene su vrste meda te potrebni minimalni udjeli peludnih zrnaca određene biljne vrste potrebne da bi se med deklarirao kao uniflorni (MPRRR, 2009).

Tablica 2 Minimalni udjeli peludnih zrnaca za pojedine vrste uniflornih vrsta meda (MPRRR, 2009)

Naziv biljne vrste	Udio peludnih zrnaca u netopljivom sedimentu
Pitomi kesten (<i>Castanea sativa</i> Mill.)	85 %
Uljana repica (<i>Brassica napus</i> L.)	60 %
Facelija (<i>Phacelia tanacetifolia</i> Benth.)	60 %
Lipa (<i>Tilia</i> sp.)	25 % (10 %*)
Bagrem (<i>Robinia pseudoacacia</i> L.)	20 %
Metvica (<i>Mentha</i> sp.)	20 %
Vrijesak (<i>Calluna vulgaris</i> L.)	20 %
Vrisak, primorski vrijesak (<i>Satureja montana</i> L.)	20 %
Maslačak (<i>Taraxacum officinale</i> Weber)	20 %
Ružmarin (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.)	20 %
Kadulja (<i>Salvia officinalis</i> L.)	15 % (10 %*)
Planika (<i>Arbutus unedo</i> L.)	10 %
Agrumi (<i>Citrus</i> spp.)	10 % (5 %*)
Lavanda (<i>Lavandula</i> spp.)	10 % (5 %*)

*uz karakteristična senzorska svojstva meda za određenu biljnu vrstu (miris, okus, boja)

Prilikom određivanja autentičnosti meda, kao i ostalih pčelinjih proizvoda, potrebno je razmotriti dva različita aspekta (Bogdanov i Martin, 2002; Ruoff i Bogdanov, 2004).

Prvi aspekt uključuje **autentičnost u pogledu proizvodnje**, a određuje se s ciljem sprječavanja krivotvorenja meda dodatkom drugih sastojaka hrane (Bogdanov i Martin, 2002;

Ruoff i Bogdanov, 2004). Najčešći oblik krivotvorenja je dodatak manje skupih zaslađivača u med. U te svrhe koriste se invertni sirup, kukuruzni sirup, javorov sirup, melasa te sirup šećerne trske i repe. Danas se većinom koriste za prihranu pčela koja je potrebna kako bi se osigurale potrebe kolonije za hranom u uvjetima kada prirodni izvori hrane nisu dostupni. Prihrana pčela tijekom proizvodnje meda smatra se krivotvorenjem jer utječe na kvalitetu konačnog proizvoda. Med dobiven na taj način ima različiti profil šećera od nekrivotvorenog meda i smanjena nutritivna svojstva (Bogdanov i Martin, 2002; Ruoff i Bogdanov, 2004; Easter Strayer i sur., 2014). Filtracija meda predstavlja važan predmet rasprave jer se radi o procesu u kojem može doći do uklanjanja peludnih zrnaca iz meda. Kako bi se to spriječilo, mnoga europska zakonodavstva propisuju upotrebu filtera čiji promjer očica ne smije biti manji od 0,2 mm. Prema nekim propisima (Codex Alimentarius standard, EU Direktiva) dozvoljena je upotreba manjih filtera kako bi se otklonili nepoželjni kontaminanti. Takav med mora imati navod „filtrirani med“ na oznaci. Prekomjerno zagrijavanje meda u svrhu pasterizacije i otapanja može imati negativan učinak jer dolazi do gubitka hlapljivih spojeva, smanjenja aktivnosti enzima (dijastaze i invertaze) i nastanka HMF-a (Bogdanov i Martin, 2002; Ruoff i Bogdanov, 2004). Zbog opasnosti od fermentacije, nije za očekivati dodatak vode kao mogućnost krivotvorenja meda. Ipak, ova vrsta krivotvorenja se koristi kada se vrlo nizak sadržaj vode u medu želi podesiti na neku prihvatljiviju razinu. Navedena praksa je prema nekima potpuno legitiman način nadoknađivanja malih količina vode koje se izgube tijekom procesiranja meda (Bogdanov i Martin, 2002; Ruoff i Bogdanov, 2004).

Autentičnost u pogledu botaničkog i geografskog podrijetla je drugi aspekt autentičnosti meda. Određuje se zbog ekonomskog interesa u pogledu pogrešnog označavanja meda, budući da medovi određenih geografskih regija ili biljnih izvora postižu veće cijene u odnosu na druge. Zbog toga se nastoji odrediti botaničko podrijetlo meda, kako ne bi došlo do krivotvorenja s ciljem stjecanja ekonomske dobiti (Bogdanov i Martin, 2002; Ruoff i Bogdanov, 2004). Med predstavlja mješavinu različitih izvora biljaka jer pčelinja paša uključuje različite biljne izvore. Dakle, uniflorne vrste meda koje potječu u cijelosti od jedne biljne vrste su iznimno rijetke. Ako med u cijelosti ili većim dijelom potječe iz određenog biljnog izvora te ako senzorski, fizikalno-kemijski i mikroskopski parametri odgovaraju tom biljnom izvoru, može se deklarirati botaničko podrijetlo meda. Dakle, određivanje botaničkog podrijetla meda uključuje kombinaciju različitih analitičkih pristupa kao što su senzorska, fizikalno-kemijska i peludna analiza. Peludna analiza je i dalje najvažnija metoda za određivanje botaničkog podrijetla meda koja zahtjeva iskusno i specijalizirano osoblje. Ipak, zbog velike varijabilnosti u sadržaju peludi, pri određivanju botaničkog podrijetla meda potrebno je uključiti i druge parametre. Od fizikalno-kemijskih parametara koji se koriste, najkorisnijom se pokazala električna vodljivost te omjer fruktoze i glukoze. Fizikalno-kemijski

parametri mogu biti korisni pri razlikovanju uniflornih vrsta meda, dok se za razlikovanje uniflornih od poliflornih vrsta meda nisu pokazali učinkovitim. Kada fizikalno-kemijska i peludna analiza ne mogu dati jednoznačne rezultate, odluka se temelji na senzorskoj procjeni stručnjaka. Iako su hlapljivi spojevi predloženi kao specifični markeri za uniflorne vrste meda, njihova koncentracija je kod većine uniflornih vrsta meda slična te stoga nisu korisni za određivanje botaničkog podrijetla meda. Spojevi koji mogu poslužiti kao markeri za klasifikaciju uniflornih vrsta meda se vrlo vjerojatno nalaze među manje hlapljivim komponentama meda. Fenolni spojevi kao što su flavonoidi, predstavljaju karakteristične markere za pojedine uniflorne vrste meda (hesperidin i metilntranlinat u medu citrusa, kempferol u medu ružmarina) (Bogdanov i Martin, 2002; Ruoff i Bogdanov, 2004).

Zbog razlika u cijeni meda između pojedinih europskih zemalja kao i između pojedinih regija unutar jedne zemlje postoji ekonomski interes u pogrešnom označavanju geografskog podrijetla meda. Stoga je važno odrediti geografsko podrijetlo meda koristeći različite analitičke pristupe kako bi se izbjeglo krivotvorenje s ciljem stjecanja ekonomske dobiti (Bogdanov i Martin, 2002; Ruoff i Bogdanov, 2004). Prilikom određivanja geografskog podrijetla meda koristi se peludna analiza te brojni drugi parametri kakvoće poput udjela vode, prolina, sadržaja pepela, električne vodljivosti, slobodne i laktanske kiselosti, pH, HMF-a, enzima (dijastaze i invertaze) i ugljikohidrata (Bogdanov i Martin, 2002; Ruoff i Bogdanov, 2004). Istraživanja su pokazala kako elementi u tragovima poput kalcija, magnezija, cinka i stroncija mogu poslužiti u određivanju geografskog podrijetla meda. Određivanje aminokiselinskog sastava je, prema istraživanjima, još jedna obećavajuća metoda u pogledu određivanja geografskog podrijetla meda. Ipak, kako bi se utvrdila učinkovitost navedenih metoda, prilikom istraživanja je potrebno uzeti u obzir razlike u botaničkom podrijetlu meda. Flavonoidi, osim kao markeri botaničkog podrijetla, mogu također poslužiti kao markeri za određivanje geografskog podrijetla meda. Kontaminanti poput teških metala i pesticida, indikatori su zagađenja okoliša i kao takvi se mogu povezati s određenim geografskim područjima. Stoga se mogu koristiti za određivanje geografskog podrijetla meda. Ipak, njihova primjena u te svrhe nije posebno raširena (Bogdanov i Martin, 2002; Ruoff i Bogdanov, 2004).

Postojeće analitičke metode i statističke alate koji se koriste u određivanju autentičnosti meda potrebno je konstantno usavršavati s ciljem dobivanja pouzdanih rezultata koji će osigurati kvalitetne i vrijedne pčelinje proizvode. Nove, efikasnije analitičke metode je pak potrebno evaluirati i implementirati u nove norme (Bogdanov i sur., 1999; Ruoff i Bogdanov, 2004).

2.4. OPIS ODABRANIH VRSTA MEDA

Za potrebe ovog diplomskog rada odabrane su najzastupljenije unflorne vrste meda (med od bagrema, lipe i kestena) na tržištu u Republici Hrvatskoj.

2.4.1. Med od bagrema

Bagrem (*Robinia pseudoacacia* L.) ili „lažna akacija“ je listopadno drvo iz porodice mahunarki (lat. *Fabaceae*) koje potječe iz jugoistočnog dijela SAD-a. Otuda se proširio na Sjevernu Ameriku, Europu, Južnu Afriku i Aziju. U Europi ga se može vidjeti duž ulica i u parkovima velikih gradova (Healthy with honey, 2015). Jedna je od najzastupljenijih vrsta u kontinentalnoj Hrvatskoj pri čemu se najveće površine pod bagremom nalaze u Zagorju, Moslavačkom gorju, Baranji i Podravini (Pčelarstvo OnLine, 2018). Prenesen je u Slavoniju za vrijeme 18. i 19. stoljeća, a danas ga nalazimo u gotovo svim dijelovima Slavonije gdje se zbog svoje prilagodljivosti proširio prirodnim putem. U usporedbi s drugim biljnim vrstama, drvo bagrema daje najjaču i najobilniju pčelinju pašu na ovim prostorima (Udruga proizvođača Slavanskog meda, 2016). Cvjeta u svibnju ili lipnju, a cvjetovi su krem bijele boje, mirisni i skupljeni u viseće grozdove duljine oko 10 cm. Osim cvjetova koji privlače pčele, ostali dijelovi (kora, sjemenke, listovi) su otrovni. Ipak, prema nekim izvorima sjemenke su jestive u sirovom i/ili kuhanom obliku ako se sakupljaju od ljeta do jeseni (Healthy with honey, 2015; Pčelarstvo OnLine, 2018).

Med od bagrema je zbog svojih osobina vrlo cijenjen među potrošačima. Iz tog razloga jedan je od najcjenijih vrsta meda koje se mogu naći na europskom tržištu, a također se ubraja i u najcjenjenije vrste „Slavanskog meda“ (Persano Oddo i Piro, 2004; Udruga proizvođača Slavanskog meda, 2016). Izrazito je svijetle boje (gotovo bezbojan), slabog mirisa i ugodno blagog okusa. Zbog većeg udjela fruktoze u odnosu na glukozu sporo kristalizira. Karakteriziraju ga niske vrijednosti električne vodljivosti, kiselosti, udjela enzima, prolina, glukoze te omjera udjela glukoze i vode (G/W). S druge strane pak, ima visoke vrijednosti udjela fruktoze i saharoze te omjera udjela fruktoze i glukoze (F/G). Prema Direktivi Vijeća Europske unije, količina saharoze može biti veća od 10 g/100 g meda. Prisutnost čak i malih količina stranog nektara ili sastojaka medljike može narušiti osobine meda od bagrema i učiniti ga manje prihvatljivim za potrošače (Persano Oddo i Piro, 2004; Plantea, 2015a).

2.4.2. Med od lipe

Lipa (*Tilia spp.*) je rod koji obuhvaća oko 30 vrsta listopadnih stabala koja pripadaju istoimenoj porodici lipe (lat. *Tiliaceae*). Stabla lipe dosežu visinu do 40 m i tvore pravilne i široke krošnje koje daju ugodnu hladovinu za ljetnih vrućina. Listovi su srcoliki, a cvjetovi pravilni, žuti i vrlo mirisni. Često rastu u sastavu listopadnih šuma, ali sade se i pojedinačno

te u parkovima (Plantea, 2015b). Neke vrste lipe, kao što su velelisna lipa (*Tilia platyphyllos*) i sitnolisna lipa (*Tilia cordata*), prirodno rastu u mnogim europskim zemljama. S druge strane pak, niz različitih vrsta, hibrida i varijeteta lipe je kultivirano kako bi služilo kao ukrasno drveće. Sve te vrste vrlo su dobar izvor nektara i peludi. Stabla lipe mogu poslužiti i kao izvor medljike koju proizvode kukci iz reda *Hemiptera* (Persano Oddo i Piro, 2004). Stabla lipe u Slavoniji predstavljaju posljednje lipove šume u ovom dijelu Europe, a izdašna paša je stoljećima slavonskim pčelarima osiguravala med visoke kakvoće. Ipak, lipova šuma u Slavoniji se uslijed komercijalizacije šumarstva u 20. st. zanemaruje te se danas njezin opstanak može pripisati slavonskim pčelarima, odnosno proizvodnji meda (Udruga proizvođača Slavanskog meda, 2016).

Med od lipe proizvodi se uglavnom u zemljama srednje i istočne Europe te u Rusiji i Kini. Svijetložute je boje, jakog mirisa, trpkog i pomalo gorkog okusa. Karakterizira ga dugotrajna postojanost naknadnog okusa i umjerena brzina kristalizacije (Persano Oddo i Piro, 2004).

2.4.3. Med od kestena

Pitomi kesten (*Castanea sativa* Mill.) je listopadno stablo koje uz bukvu i hrast pripada porodici bukovki (lat. *Fagaceae*). Potječe iz područja Male Azije odakle se proširio na južnu Europu i Sredozemlje. Iako se nalazi u mnogim europskim zemljama, najviše ga ima u središnjim i južnim dijelovima Europe na nadmorskim visinama 500 – 1000 m (Persano Oddo i Piro, 2004). U Hrvatskoj najčešće raste u kontinentalnom dijelu na nadmorskim visinama do 900 m. U Slavoniji je prisutan već tisućljećima, a pojavljuje se u nižim dijelovima gorja u sastavu čistih ili miješovitih (kitnjakovih, grabovih i bukovih) šuma. Odlična je ispaša pčela jer kasno cvjeta i tada je gotovo jedini izvor peludi i nektara (Udruga proizvođača Slavanskog meda, 2016). Drvo kestena je dugovječno te može narasti preko 30 m visine tvoreći veliku i gustu krošnju. Ima muške i ženske cvjetove. Cvate početkom lipnja kroz period od 20 dana. Pčele intenzivno posjećuju cvijetove prvih 10-ak dana cvatnje. Pritom sa ženskih cvjetova sakupljaju nektar, a sa muških cvjetnu pelud (Plantea, 2015c). Također, može biti izvor medljike koju proizvode neki insekti iz reda *Hemiptera* (Persano Oddo i Piro, 2004).

Med od kestena je tamnosmeđe boje, izrazito jakog i oštrog mirisa na biljku (Plantea, 2015c). Karakterizira ga trpak i gorak okus u ustima te dugotrajna postojanost naknadnog okusa. Zbog visokog udjela vode i većeg udjela fruktoze u odnosu na glukozu, med od kestena se dugo zadržava u tekućem stanju (sporo kristalizira). Omjer udjela glukoze i vode (G/W) je nizak, dok su vrijednosti električne vodljivosti, pH, omjera udjela fruktoze i glukoze (F/G) te udjela enzima visoke (Persano Oddo i Piro, 2004).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog diplomskoga rada bio je odrediti fizikalno-kemijske parametre (udio vode, električna vodljivost, udio HMF-a, aktivnost dijastaze, slobodne kiseline, količina tvari netopljivih u vodi i ugljikohidrata) i napraviti peludnu analizu kako bi se utvrdilo da li analizirani uzorci meda zadovoljavaju zahtjeve propisa o medu.

3.2. MATERIJALI I METODE

Uzorci meda kupljeni su u supermarketima i na tržnicama u Osijeku i Đakovu tijekom srpnja 2017. godine, a koji su deklarirani kao uniflorni med od bagrema, lipe i kestena.

Analizirano je 27 uzoraka meda, i to:

- 15 uzoraka meda od bagrema (*Robinia pseudoacacia* L.)
- 8 uzoraka meda od lipe (*Tilia* spp.)
- 4 uzorka meda od kestena (*Castanea sativa* Mill.).

Rezultati su prikazani tablično, za svaki med pojedinačno. Pri dnu svake tablice prikazani su minimumi i maksimumi, izračunate prosječne vrijednosti te standardna odstupanja, za svaki analizirani fizikalno-kemijski parametar pojedinačno. Rezultati peludne analize iskazani su „zadovoljava“ ukoliko uzorak ima zadovoljen minimalno propisani udio peludnih zrnaca odgovarajuće biljne vrste u netopljivom sedimentu prema Pravilniku o kakvoći unifornog meda (MPRRR, 2009) odnosno „ne zadovoljava“ ukoliko je taj udio manji od propisanog za određenu vrstu meda.

3.2.1. Peludna analiza

Peludna (melisopalinološka) analiza pruža informaciju o botaničkom i geografskom (u slučajevima kada neka biljna vrsta raste samo na određenom području) podrijetlu meda. Također, može dati odgovor na pitanje da li se u medu nalazi prašina, čađa, zrnca škroba ili neka druga mikroskopska čestica koja nije karakteristična za med te da li je med podvrgnut određenom procesu kao što je ekstrakcija, filtracija ili fermentacija. Za izradu mikroskopskih preparata za peludnu analizu izvagano je 10 g dobro izmiješanog meda i otopljeno u 20 mL destilirane vode. Otopina meda zagrijavana je na vodenoj kupelji (45 °C) i potom stavljena na centrifugiranje (15 min na 3500 o/min). Nakon centrifugiranja sediment je prenesen na predmetno staklo i razmazan. Nakon sušenja, preparat je zatim mikroskopiran pri povećanju 200 – 400 x (Louveaux i sur., 1978). Sva peludna zrnca u vidnom polju prebrojana su i razvrstana prema biljnoj vrsti. Biljna vrsta određena je prema veličini, obliku, boji i građi

vanjske stijenke te obliku i broju pora klijanja, usporedbom s referentnim preparatima (Anklam, 1998; Von der Ohe i sur., 2004).

3.2.2. Određivanje vode u medu

Metoda se temelji na refraktometrijskom određivanju pri čemu se uz uobičajenu laboratorijsku opremu koristi refraktometar (Bogdanov, 2009). Mjerenje se izvodi pri stalnoj temperaturi od 20 °C. Ako se indeks refrakcije ne odredi na temperaturi od 20 °C, radi se korekcija temperature na način da se za svaki °C iznad 20 dodaje 0,00023 te za svaki °C ispod 20 oduzima 0,00023. Smanjenjem udjela vode odnosno porastom udjela suhe tvari indeks refrakcije raste. Uz pomoć tablice za proračun udjela vode u medu očita se pripadna vrijednost udjela vode (%) s obzirom na određeni indeks refrakcije (Bogdanov, 2009). Za određivanje udjela vode u analiziranim uzorcima meda korišten je Abbé-ov refraktometar, pri stalnoj temperaturi od 20 °C.

3.2.3. Određivanje električne vodljivosti meda

Određivanje električne vodljivosti temelji se na mjerenju električnog otpora koji je obrnuto proporcionalan električnoj vodljivosti. Električna vodljivost meda definirana je kao električna vodljivost 20 % (w/v) vodene otopine meda pri 20 °C, pri čemu se 20 % odnosi na suhu tvar meda. Rezultati se izraženi u mS/cm. Metoda je odgovarajuća za mjerenje električne vodljivosti uzoraka meda čija se vrijednost kreće u rasponu 0,1 – 3 mS/cm (Bogdanov, 2009).

3.2.4. Određivanje HMF-a prema White-u

Metodom se određuje koncentracija 5-hidroksimetil-furan-2-karbaldehida (HMF), a rezultati su izraženi u mg/kg. Određivanje se temelji na UV apsorpciji HMF-a na valnoj duljini od 284 nm. Kako bi se izbjegla interferencija ostalih komponenata koje apsorbiraju na toj valnoj duljini, određuje se apsorbancija otopine uzorka i standardne otopine. Otopina uzorka je vodena otopina meda, dok je standardna otopina vodena otopina meda kojoj je dodan natrij bisulfit. Razlika vrijednosti apsorbancije standardne otopine i otopine uzorka predstavlja apsorbanciju uzorka. Udio HMF-a u medu dobije se nakon razlike vrijednosti apsorbancije na 336 nm od vrijednosti na 284 nm. Metoda je primjenjiva na sve uzorke meda (Bogdanov, 2009).

3.2.5. Određivanje aktivnosti diastaze Phadebas metodom

Metoda se temelji na fotometrijskom određivanju plavih, u vodi topljivih fragmenata koji nastaju enzimatskom hidrolizom netopljivog, plavo obojenog, umreženog tipa škroba. Enzim

koji sudjeluje u reakciji je dijastaza. Škrob potječe od Phadebas tablete koja se koristi u testu. Jedna tableta sadrži 45 mg plavo obojenog škroba. Apsorbancija otopine se određuje na valnoj duljini od 620 nm i izravno je proporcionalna aktivnosti dijastaze uzorka. Osim apsorbancije otopine uzorka, određuje se i apsorbancija slijepe probe. Klasična metoda za određivanje aktivnosti dijastaze je metoda prema Schade-u gdje se aktivnost dijastaze izražava kao broj dijastaze (DN) u Schade jedinicama. Kada se za određivanje aktivnosti dijastaze koristi Phadebas metoda, broj dijastaze se dobije uvrštavanjem razlike apsorbancija (ΔA_{620}) u jednu od jednačbi. Razlika apsorbancija se dobije oduzimanjem apsorbancije uzorka od apsorbancije slijepe probe. Koja će se jednačba koristiti ovisi o očekivanoj vrijednosti aktivnosti dijastaze. Za vrijednosti aktivnosti dijastaze 8 – 40 koristi se **jednačba (1)**:

$$DN = 28.2 \times \Delta A_{620} + 2.64 \quad (1)$$

Za vrijednosti dijastaze do 8 koristi se **jednačba (2)**:

$$DN = 35.2 \times \Delta A_{620} - 0.46 \quad (2)$$

Metoda se može primijeniti na sve uzorke meda (Bogdanov, 2009).

3.2.6. Određivanje slobodne kiselosti meda

Slobodna kiselost predstavlja sadržaj slobodnih kiselina u medu. Određuje se titracijom otopine uzorka s 0,1 M otopinom natrijevog hidroksida do pH 8,3. Rezultati su izraženi u miliekvivalentima (mEq/kg) ili milimolima kiseline po kilogramu meda (mmol/kg). Prije titracije određen je pH otopine uzorka. Metoda se može primijeniti na sve uzorke meda (Bogdanov, 2009).

3.2.7. Određivanje tvari netopljivih u vodi

Netopljiva tvar se definira kao tvar za koju je postupkom utvrđeno da nije topljiva u vodi. Određuje se gravimetrijski, a rezultati se izražavaju kao maseni udio. Netopljiva tvar se skuplja na filter lončiću određene veličine pora. Nakon ispiranja topljivih sastojaka, filter lončić se suši do postizanja konstantne mase i zatim važe. Metoda se može primijeniti na sve uzorke meda (Bogdanov, 2009).

3.2.8. Određivanje ugljikohidrata u medu

Ugljikohidrati u medu određuju se visokotlačnom tekućinskom kromatografijom (HPLC) s detektorom indeksa loma (RI detektor). Određen je udio sljedećih ugljikohidrata u otopini meda: fruktoze (F), glukoze (G), saharoze (Sah), maltoze (Malt), melecitoze (Mel), rafinoze (Raf) i ksiloze (Ksi). Ugljikohidrati u medu identificirani su usporedbom vremena zadržavanja njihovih pikova i pikova standarda ugljikohidrata. Kvantifikacija je pak izvršena metodom vanjske kalibracije odnosno usporedbom površina pikova ugljikohidrata u medu i pikova standarda ugljikohidrata. Količina svakog ugljikohidrata izražena je kao maseni udio u gramima ugljikohidrata na 100 g meda (Bogdanov, 2009).

4. REZULTATI

Tablica 3 Rezultati peludne analize i fizikalno-kemijskih parametara analiziranih uzoraka meda od bagrema

UZORAK	Udio vode (%)	Električna vodljivost (mS/cm)	Udio HMF-a (mg/kg)	Aktivnost dijastaze (DN)	Slobodne kiseline (mEq/kg)	Količina tvari netopljivih u vodi (g/100g)	Peludna analiza *
B1	17,3	0,125	13,1	20,8	5,1	< 0,01	zadovoljava
B2	17,4	0,132	21,8	3,8	5,6	< 0,01	zadovoljava
B3	17,1	0,164	19,0	6,4	9,9	0,01	zadovoljava
B4	17,3	0,151	40,5	5,8	7,5	0,01	ne zadovoljava
B5	17,6	0,116	86,6	3,9	7,5	0,01	zadovoljava
B6	16,4	0,151	33,2	10,2	12,9	0,01	zadovoljava
B7	16,9	0,270	73,5	2,0	7,9	0,01	ne zadovoljava
B8	15,2	0,148	27,1	10,7	13	0,01	zadovoljava
B9	18,0	0,271	14,1	6,0	10,2	0,01	zadovoljava
B10	15,8	0,136	18,8	12,4	11,4	< 0,01	ne zadovoljava
B11	16,2	0,153	2,0	18,9	13,9	< 0,01	ne zadovoljava
B12	16,7	0,171	2,3	19,3	13,3	< 0,01	ne zadovoljava
B13	18,4	0,130	0,6	15,3	10,2	0,01	ne zadovoljava
B14	16,0	0,122	0,1	14,8	9,3	0,01	ne zadovoljava
B15	15,9	0,158	7,2	15,5	11,3	0,01	ne zadovoljava
Min	15,2	0,116	0,1	2,0	5,1	< 0,01	
Max	18,4	0,271	86,6	20,8	13,9	0,01	
$\bar{X} \pm SO$	16,8±0,9	0,160±0,048	24,0±25,9	11,0±6,2	9,9±2,8	0,01±0,00	

*minimalni udio peludnih zrnaca bagrema (*R. pseudoacacia* L.) u netopivom sedimentu prema Pravilniku o kakvoći uniflornog meda iznosi 20 % (MPRRR, 2009)

Tablica 4 Rezultati peludne analize i fizikalno-kemijskih parametara analiziranih uzoraka meda od lipe

UZORAK	Udio vode (%)	Električna vodljivost (mS/cm)	Udio HMF-a (mg/kg)	Aktivnost dijastaze (DN)	Slobodne kiseline (mEq/kg)	Količina tvari netopljivih u vodi (g/100g)	Peludna analiza *
L1	17,8	0,518	34,8	10,0	16,9	< 0,01	zadovoljava
L2	17,8	0,464	8,5	9,4	11,6	< 0,01	zadovoljava
L3	18,2	0,637	10,1	10,0	12,8	0,01	zadovoljava
L4	16,4	0,622	18,2	11,9	24,5	0,01	zadovoljava
L5	16,3	0,777	0,0	37,3	33,2	0,01	zadovoljava
L6	17,8	0,585	9,9	8,3	33,0	0,01	zadovoljava
L7	17,0	0,388	0,0	21,2	20,3	0,01	zadovoljava
L8	18,0	0,589	0,0	33,2	24,6	0,01	zadovoljava
Min	16,3	0,388	0,0	8,3	11,6	< 0,01	
Max	18,2	0,777	34,8	37,3	33,2	0,01	
$\bar{X} \pm SO$	17,4±0,7	0,572±0,118	10,2±11,9	17,6±11,6	22,1±8,3	0,01±0,00	

*minimalni udio peludnih zrnaca lipe (*Tilia* spp.) u netopivom sedimentu prema Pravilniku o kakvoći uniflornog meda iznosi 25 % (MPRRR, 2009)

Tablica 5 Rezultati peludne analize i fizikalno-kemijskih parametara analiziranih uzoraka meda od kestena

UZORAK	Udio vode (%)	Električna vodljivost (mS/cm)	Udio HMF-a (mg/kg)	Aktivnost dijastaze (DN)	Slobodne kiseline (mEq/kg)	Količina tvari netopljivih u vodi (g/100g)	Peludna analiza *
K1	18,2	0,319	102,7	8,5	19,8	0,01	ne zadovoljava
K2	17,1	0,887	15,7	16,6	22,3	0,01	zadovoljava
K3	17,4	0,948	42,6	11,6	27,2	0,01	zadovoljava
K4	15,8	0,575	5,9	16,7	20,8	0,01	ne zadovoljava
Min	15,8	0,319	5,9	8,5	19,8	0,01	
Max	18,2	0,948	102,7	16,7	27,2	0,01	
$\bar{X} \pm SO$	17,1±1,0	0,682±0,292	41,7±43,5	13,3±4,0	22,5±3,3	0,01±0,00	

*minimalni udio peludnih zrnaca kestena (*C. sativa* Mill.) u netopivom sedimentu prema Pravilniku o kakvoći uniflornog meda iznosi 85 % (MPRRR, 2009)

Tablica 6 Udjeli identificiranih ugljikohidrata te zbroj i omjer udjela fruktoze i glukoze u analiziranim uzorcima meda od bagrema

UZORAK	F* (g/100g)	G* (g/100g)	F+G* (g/100g)	F/G*	Sah* (g/100g)	Ksi* (g/100g)	Malt* (g/100g)	Mel* (g/100g)	Raf* (g/100g)
B1	47,0	30,8	77,7	1,53	0,8	0,0	0,9	0,2	0,0
B2	47,1	31,0	78,1	1,52	0,6	0,0	1,2	0,1	0,0
B3	46,3	30,1	76,3	1,54	1,0	0,1	1,6	0,3	0,0
B4	42,6	32,1	74,9	1,33	1,6	0,1	2,6	0,3	0,0
B5	47,1	29,7	76,9	1,59	1,0	0,1	1,6	0,1	0,0
B6	41,8	24,5	66,4	1,71	3,2	0,0	0,8	0,9	0,0
B7	42,0	32,8	74,7	1,28	1,6	0,0	1,3	0,5	0,0
B8	42,6	25,5	68,0	1,67	3,4	0,0	1,2	1,8	0,0
B9	48,9	28,6	77,5	1,71	0,6	0,0	1,2	0,3	0,0
B10	42,1	27,8	70,0	1,51	3,0	0,0	0,0	1,1	0,0
B11	42,7	29,6	72,0	1,44	2,1	0,0	3,0	1,1	0,0
B12	41,3	31,3	72,6	1,32	1,9	0,0	2,7	1,0	0,0
B13	42,4	29,0	71,5	1,46	2,0	0,0	1,7	1,1	0,0
B14	43,5	26,9	70,4	1,62	3,6	0,0	1,8	2,2	0,0
B15	41,9	28,5	70,6	1,47	3,2	0,0	1,2	1,5	0,0
Min	41,3	24,5	66,4	1,28	0,6	0,0	0,0	0,1	0,0
Max	48,9	32,8	78,1	1,71	3,6	0,1	3,0	2,2	0,0
$\bar{X} \pm SO$	44,0±2,5	29,2±2,3	73,2±3,7	1,51±0,14	2,0±1,1	0,0±0,0	1,5±0,8	0,8±0,6	0,0

*F-fruktoza, G-glukoza, Sah-saharoza, Ksi-ksiloza, Malt-maltoza. Mel-melecitoza, Raf-rafinoza, F+G-zbroj udjela fruktoze i glukoze, F/G-omjer udjela fruktoze i glukoze

Tablica 7 Udjeli identificiranih ugljikohidrata te zbroj i omjer udjela fruktoze i glukoze u analiziranim uzorcima meda od lipe

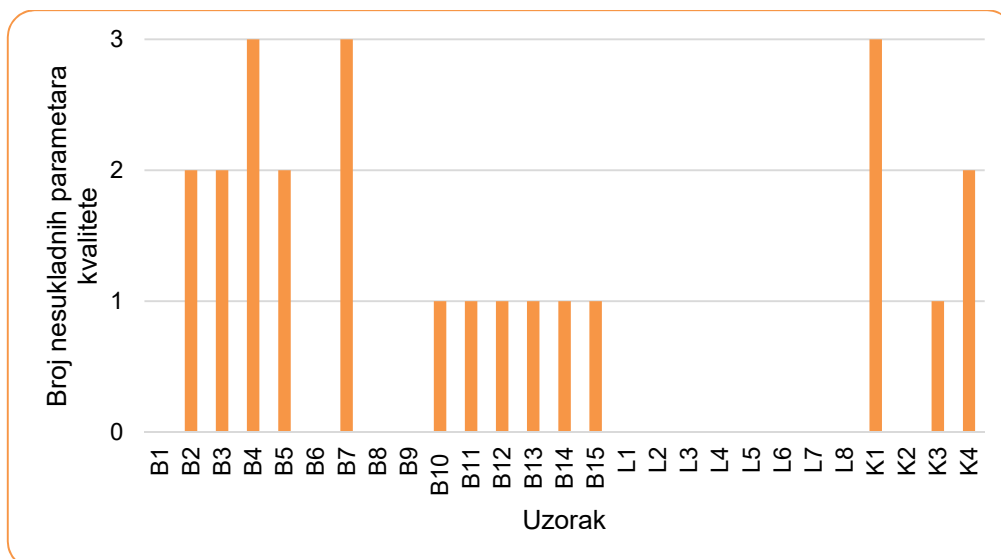
UZORAK	F* (g/100g)	G* (g/100g)	F+G* (g/100g)	F/G*	Sah* (g/100g)	Ksi* (g/100g)	Malt* (g/100g)	Mel* (g/100g)	Raf* (g/100g)
L1	37,5	28,2	65,6	1,33	2,5	0,0	5,5	0,3	0,0
L2	42,4	32,7	75,1	1,30	0,8	0,0	1,6	0,1	0,0
L3	35,5	27,7	63,3	1,28	2,4	0,3	6,8	0,0	0,0
L4	38,0	32,1	69,9	1,18	1,7	0,0	3,1	0,4	0,0
L5	37,8	32,0	69,8	1,18	1,7	0,0	4,6	0,7	0,0
L6	37,9	34,0	72,1	1,11	1,2	0,0	1,8	0,5	0,0
L7	39,6	30,7	70,4	1,29	0,2	0,0	1,5	0,0	0,0
L8	38,8	32,0	70,8	1,21	0,3	0,1	1,6	0,0	0,0
Min	35,5	27,7	63,3	1,11	0,2	0,0	1,5	0,0	0,0
Max	42,4	34,0	75,1	1,33	2,5	0,3	6,8	0,7	0,0
$\bar{X} \pm SO$	38,4±2,0	31,2±2,2	69,6±3,7	1,24±0,07	1,4±0,9	0,0±0,1	3,3±2,1	0,2±0,3	0,0

*F-fruktoza, G-glukoza, Sah-saharoza, Ksi-ksiloza, Malt-maltoza. Mel-melecitoza, Raf-rafinoza, F+G-zbroj udjela fruktoze i glukoze, F/G-omjer udjela fruktoze i glukoze

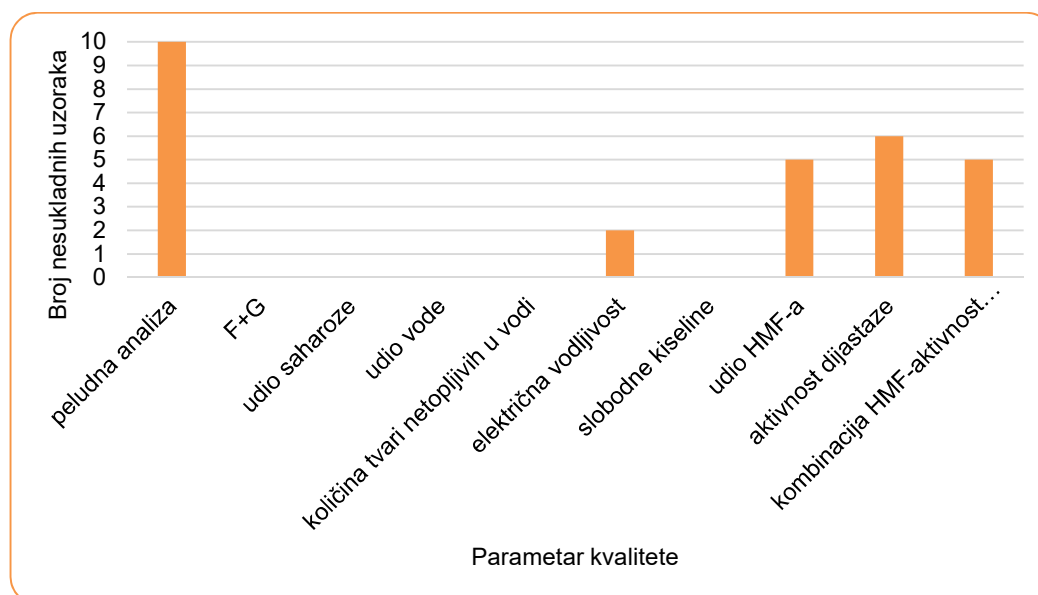
Tablica 8 Udjeli identificiranih ugljikohidrata te zbroj i omjer udjela fruktoze i glukoze u analiziranim uzorcima meda od kestena

UZORAK	F* (g/100g)	G* (g/100g)	F+G* (g/100g)	F/G*	Sah* (g/100g)	Ksi* (g/100g)	Malt* (g/100g)	Mel* (g/100g)	Raf* (g/100g)
K1	41,5	32,9	74,5	1,26	0,5	0,1	0,0	0,0	0,0
K2	39,8	27,4	67,1	1,45	0,2	0,1	3,9	0,0	0,0
K3	39,3	29,7	69,1	1,32	0,4	0,3	2,7	0,0	0,0
K4	41,4	30,3	71,5	1,37	2,9	0,1	1,3	0,9	0,0
Min	39,3	27,4	67,1	1,26	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0
Max	41,5	32,9	74,5	1,45	2,9	0,3	3,9	0,9	0,0
$\bar{X} \pm SO$	40,5±1,1	30,1±2,3	70,6±3,2	1,35±0,08	1,0±1,3	0,2±0,1	2,0±1,7	0,2±0,5	0,0

*F-fruktoza, G-glukoza, Sah-saharoza, Ksi-ksiloza, Malt-maltoza. Mel-melecitoza, Raf-rafinoza, F+G-zbroj udjela fruktoze i glukoze, F/G-omjer udjela fruktoze i glukoze



Slika 4 Broj parametara koji nisu sukladni zahtjevima propisa o medu po ispitivanom uzorku



Slika 5 Broj nesukladnih uzoraka obzirom na zahtjeve propisa o medu

5. RASPRAVA

Svaki prehrambeni proizvod, pa tako i med, prilikom stavljanja na tržište mora zadovoljiti propise o kvaliteti. Kvaliteta meda na tržištu u Republici Hrvatskoj regulirana je Pravilnikom o medu (MP, 2015) i Pravilnikom o izmjenama Pravilnika o medu (MP, 2017), a ukoliko je naznačeno i cvjetno ili biljno podrijetlo meda moraju biti zadovoljeni i zahtjevi Pravilnika o kakvoći uniflornog meda (MPRRR, 2009). Zadatak ovog rada bio je provjeriti sukladnost analiziranih uzoraka uniflornih vrsta meda u skladu sa zahtjevima propisa o medu.

Udio vode je važan parametar kakvoće pri određivanju stabilnosti meda, tj. njegove otpornosti na fermentaciju i granulaciju za vrijeme skladištenja (White, 1978). Prema nacionalnim i međunarodnim propisima, udio vode ne bi smio biti viši od 20 %. Iznimke su med od vrieska i pekarski med koji mogu imati udio vode najviše 23 % te pekarski med od vrieska koji može imati udio vode najviše 25 % (Codex Alimentarius Commission, 2001; Vijeće Europske unije, 2002; MP, 2015). Prosječna vrijednost udjela vode u analiziranim uzorcima iznosila je $16,8 \pm 0,9$ % (**Tablica 3**) za med od bagrema, $17,4 \pm 0,7$ % (**Tablica 4**) za med od lipe i $17,1 \pm 1,0$ % (**Tablica 5**) za med od kestena. Rezultati pokazuju da svi analizirani uzorci meda od bagrema, lipe i kestena imaju vrijednosti udjela vode manje od 20 % (**Tablice 3 - 5**) i time zadovoljavaju zahtjeve Pravilnika i međunarodnih propisa (Codex Alimentarius Commission, 2001; Vijeće Europske unije, 2002; MP, 2015). Od ukupno 27 analiziranih uzoraka, 15 uzoraka (7 uzoraka meda od bagrema; 5 uzoraka meda od lipe te 3 uzorka meda od kestena) je imalo udio vode iznad 17 % (**Tablice 3 - 5**). Dobiveni rezultati u skladu su s rezultatima dostupnim u literaturi za iste vrste meda (Lugomer i sur., 2017; Šarić i sur., 2008; Persano Oddo i sur., 1995).

Električna vodljivost je jedan od korisnijih parametara kakvoće pri klasifikaciji uniflornih vrsta meda (Bogdanov i sur., 2004). Kako raste sadržaj minerala i kiselina u medu, tako raste i njegova električna vodljivost (Naila i sur., 2018). Tamnije vrste meda (medljikovac, med od kestena) sadrže više mineralnih tvari i kiselina od svjetlijih, pa time imaju i veću električnu vodljivost (Primorac i sur., 2011a). Prema nacionalnim i međunarodnim propisima, električna vodljivost meda od bagrema ne bi smijela biti viša od 0,8 mS/cm. Med od kestena bi pak morao imati električnu vodljivost najmanje 0,8 mS/cm. Med od lipe se nalazi u kategoriji medova koji predstavljaju iznimke (Codex Alimentarius Commission, 2001; Vijeće Europske unije, 2002; MP, 2015), odnosno vrijednosti električne vodljivosti meda od lipe nalaze se u širokom rasponu od 0,3 mS/cm do 0,9 mS/cm (Persano Oddo i Piro, 2004). Rezultati električne vodljivosti svih 15 analiziranih uzoraka meda od bagrema (**Tablica 3**) odgovarali su propisima za datu vrstu meda. Od ukupno 4 analizirana uzorka meda od kestena, 2 uzorka (K1 i K4) nisu zadovoljila minimalno propisanu električnu vodljivost od 0,8 mS/cm (**Tablica 5**). Kako za med od lipe nije propisana minimalna i maksimalna vrijednost električne vodljivosti, rezultati su uspoređeni s literaturnim podacima. Raspon dobivenih vrijednosti

električne vodljivosti ($0,388 - 0,777$ mS/cm) za med od lipe u skladu je sa rasponom vrijednosti ($0,3 - 0,9$ mS/cm) iz baze podataka za europski med od lipe. Iz rezultata je vidljivo kako med od lipe pripada skupini meda čija električna vodljivost može biti veća od $0,8$ mS/cm, zbog mogućnosti pojave medljike (Persano Oddo i sur., 1995; Persano Oddo i Piro, 2004). Prosječna vrijednost električne vodljivosti meda od bagrema iznosila je $0,160 \pm 0,048$ mS/cm (**Tablica 3**), meda od lipe $0,572 \pm 0,118$ mS/cm (**Tablica 4**), a meda od kestena $0,682 \pm 0,292$ mS/cm (**Tablica 5**). Dobiveni rezultati slični su rezultatima dostupnim u literaturi za med od bagrema i lipe (Persano Oddo i sur., 1995; Persano Oddo i Piro, 2004; Šarić i sur., 2008; Primorac i sur., 2011a; Lugomer i sur., 2017). Prosječna vrijednost električne vodljivosti za med od kestena očekivano je viša u odnosu na prosječnu vrijednost električne vodljivosti za med od bagrema i lipe. Ipak, niža je u odnosu na rezultate dostupne u literaturi za istu vrstu meda (Persano Oddo i sur., 1995; Persano Oddo i Piro, 2004; Šarić i sur., 2008; Primorac i sur., 2011a; Lugomer i sur., 2017).

Udio HMF-a je značajan parametar kakvoće meda koji se koristi kao pokazatelj svježine i pregrijavanja meda. U sviježem medu gotovo da ga i nema (Bogdanov i sur., 1999; Amri i Ladjama, 2013), a koncentracija mu se povećava neadekvatnim skladištenjem (ovisno o pH meda i temperaturi skladištenja) i/ili prekomjernim zagrijavanjem tijekom procesiranja (Bogdanov i sur., 1999; Pita-Calvo i Vázquez, 2017). Dozvoljena količina HMF-a, prema nacionalnim i međunarodnim propisima, je najviše 40 mg/kg. Izuzetak su medovi podrijetlom iz regija tropskih klima i mješavine takvih medova. Za takve vrste medova vrijedi da HMF može biti najviše 80 mg/kg (Codex Alimentarius Commission, 2001; Vijeće Europske unije, 2002; MP, 2015). Od ukupno 15 uzoraka meda od bagrema, 3 uzorka (B4, B5 i B7) imala su vrijednost HMF-a višu od 40 mg/kg (**Tablica 3**). Prema dobivenim rezultatima, svi uzorci meda od lipe su zadovoljili propisanu vrijednost za HMF (**Tablica 4**), dok su kod 2 uzorka meda od kestena (K1 i K3) vrijednosti udjela HMF-a bile više od 40 mg/kg (**Tablica 5**). Prosječna vrijednost udjela HMF-a za med od bagrema iznosila je $24,0 \pm 25,9$ mg/kg (**Tablica 3**), za med od lipe $10,2 \pm 11,9$ mg/kg (**Tablica 4**), za med od kestena $41,7 \pm 43,5$ mg/kg (**Tablica 5**). Dobivene prosječne vrijednosti su više u odnosu na rezultate dostupne u literaturi što je rezultat visokih udjela HMF-a, kod nekoliko uzoraka čak i dvostruko viših vrijednosti (**Tablice 3 i 5**) (Persano Oddo i sur., 1995; Šarić i sur., 2008; Lugomer i sur., 2017). Za takve uzorke možemo zaključiti da nisu svježi i/ili su podvrgavani visokim temperaturama duže vrijeme.

Uz udio HMF-a, aktivnost dijastaze je također pokazatelj svježine i pregrijavanja meda (Naila i sur., 2018). Može se koristiti i za određivanje botaničkog podrijetla meda, ali kod svježih uzoraka jer skladištenjem i primjenom topline aktivnost dijastaze (i drugih enzima) opada (Karimov i sur., 2014). Prema nacionalnim i međunarodnim propisima, aktivnost dijastaze

izražena kao broj dijastaze (DN), ne smije biti niža od 8. Navedeno se ne odnosi na vrste meda s prirodno niskom količinom enzima čija je propisana minimalna vrijednost -3, uz uvjet da je količina HMF-a maksimalno 15 mg/kg (Codex Alimentarius Commission, 2001; Vijeće Europske unije, 2002; MP, 2015). Od ukupno 15 uzoraka meda od bagrema, 6 uzoraka (B2, B3, B4, B5, B7 i B9) nije zadovoljilo propisani minimum za aktivnost dijastaze (**Tablica 3**). Za razliku od meda bagrema, svih 8 uzoraka meda od lipe i 4 uzorka meda od kestena zadovoljili su propisanu minimalnu vrijednost od 8 (**Tablice 4 - 5**). Prosječna vrijednost aktivnosti dijastaze iznosila je $11,0 \pm 6,2$ (**Tablica 3**) za med od bagrema, $17,6 \pm 11,6$ (**Tablica 4**) za med od lipe i $13,3 \pm 4,0$ (**Tablica 5**) za med od kestena. Dobiveni rezultati slični su onima dostupnim u literaturi za med od bagrema i lipe, dok su za med od kestena niži u odnosu na literaturne podatke za tu vrstu meda (Persano Oddo i sur., 1995; Persano Oddo i Piro, 2004; Šarić i sur., 2008; Lugomer i sur., 2017).

Kiselost meda doprinosi njegovom okusu i stabilnosti, odnosno otpornosti na mikrobiološko kvarenje. Uz pH i ukupnu kiselost, slobodna kiselost (slobodne kiseline) je koristan parametar za razlikovanje uniflornih vrsta meda (Bogdanov i sur., 2004). Slobodna kiselost, prema nacionalnim i međunarodnim propisima, ne bi smijela iznositi više od 50 mEq kiseline na 1000 g meda. Navedeni propis se odnosi na sve vrste meda, izuzev pekarskog čija slobodna kiselost ne bi smijela biti viša od 80 mEq kiseline na 1000 g (Codex Alimentarius Commission, 2001; Vijeće Europske unije, 2002; MP, 2015). Prema dobivenim rezultatima, svi analizirani uzorci udovoljili su postavljene zahtjeve jer su vrijednosti slobodne kiselosti za sve uzorke bile manje od 50 mEq/kg (**Tablice 3 - 5**). Prosječna vrijednost slobodne kiselosti za med od bagrema iznosila je $9,9 \pm 2,8$ mEq/kg (**Tablica 3**), za med od lipe $22,1 \pm 8,3$ mEq/kg (**Tablica 4**), a za med od kestena $22,5 \pm 3,3$ mEq/kg (**Tablica 5**). Dobiveni rezultati u skladu su s rezultatima dostupnim u literaturi za istu vrstu meda (Persano Oddo i sur., 1995; Persano Oddo i Piro, 2004; Šarić i sur., 2008; Primorac i sur., 2011a).

Prema nacionalnim i međunarodnim propisima, količina tvari netopljivih u vodi ne bi smjela biti viša od 0,1 g/100g. Izuzetak je prešani med koji može imati najviše 0,5 g netopljivih tvari na 100g meda (Codex Alimentarius Commission, 2001; Vijeće Europske unije, 2002; MP, 2015). Dobiveni rezultati za svih 27 uzoraka meda su u skladu s postavljenim zahtjevima za navedeni parametar, tj. svi ispitivani uzorci su zadovoljili propise kada je u pitanju količina tvari netopljivih u vodi (**Tablice 3 - 5**).

Ugljikohidrati su najzastupljeniji sastojci meda. Pritom su udio fruktoze i glukoze, njihov međusobni omjer te omjer udjela glukoze i vode korisni pri klasifikaciji uniflornih vrsta meda. Određivanje udjela manje zastupljenih šećera nema veliki značaj pri određivanju botaničkog podrijetla meda, ali može poslužiti za razlikovanje cvjetnih vrsta meda od medljikovaca. Naime, potonji imaju veći udio oligosaharida (Bogdanov i sur., 2004). Prema nacionalnim i

međunarodnim propisima, minimalna količina ugljikohidrata, tj. zbroj udjela fruktoze i glukoze (F+G) iznosi 60 g/100 g za cvjetni med i 45 g/100 g za medljikovac (Codex Alimentarius Comission, 2001; Vijeće Europske unije, 2002; MP, 2015). Svih 27 analiziranih uzoraka meda zadovoljilo je propisanu minimalnu količinu zbroja udjela fruktoze i glukoze od 60 g/100 g za cvjetni med (**Tablice 6 - 8**). Maksimalna količina saharoze, prema nacionalnim i međunarodnim propisima, za većinu medova iznosi 5 g/100 g meda. Izuzetak su neke vrste meda, uključujući i med od bagrema sa maksimalno dozvoljenom količinom saharoze od 10 g/100 g meda. Neke druge pak vrste meda, poput meda od lavande i boražine, mogu imati količinu saharoze najviše 15 g/100 g meda (Codex Alimentarius Comission, 2001; Vijeće Europske unije, 2002; MP, 2015). Prema dobivenim rezultatima, svih 15 uzoraka meda od bagrema imalo je udio saharoze niži od maksimalno propisane vrijednosti (**Tablica 6**). Ostalih 12 uzoraka je također zadovoljilo zahtjev u pogledu propisane količine saharoze (**Tablice 7 - 8**). Od ostalih ugljikohidrata, određene su količine ksiloze, maltoze, melecitoze i rafinoze. Dobivene prosječne vrijednosti udjela fruktoze, glukoze i saharoze, kao i prosječne vrijednosti zbroja te omjera udjela fruktoze i glukoze za sve tri analizirane vrste meda (**Tablice 6 - 8**) slične su rezultatima dostupnim u literaturi (Persano Oddo i sur., 1995; Persano Oddo i Piro, 2004; Šarić i sur., 2008; Primorac i sur., 2011b).

Peludna analiza je, uz fizikalno-kemijsku analizu, metoda za određivanje i kontrolu botaničkog i geografskog podrijetla meda (Von der Ohe i sur., 2004). Prema Pravilniku o kakvoći uniflornog meda (MPRRR, 2009) med se može klasificirati kao uniflori med ako je udio peludnih zrnaca određene biljne vrste u netopljivom sedimentu najmanje 45 %. Izuzetak su neke vrste meda, među koje se ubrajaju sve tri analizirane vrste meda (MPRRR, 2009). Med se može klasificirati kao uniflori med od kestena ako u netopljivom sedimentu sadrži najmanje 85 % peludnih zrnaca kestena. Za med od lipe vrijedi da se može klasificirati kao takav ako u netopljivom sedimentu sadrži najmanje 25 % peludnih zrnaca lipe, odnosno 10 % ukoliko senzorska svojstva (miris, okus, boja) odgovaraju medu od lipe. Med od bagrema se pak može klasificirati kao takav ako u netopljivom sedimentu sadrži najmanje 20 % peludnih zrnaca bagrema. Peludnom analizom je utvrđeno kako 8 od ukupno 15 analiziranih uzoraka, klasificiranih kao med od bagrema, nisu zadovoljila propisanu minimalnu vrijednost udjela peludnih zrnaca *R. pseudoacacia* L. u netopljivom sedimentu (**Tablica 3**). Svih 8 uzoraka meda od lipe zadovoljili su propisanu vrijednost udjela peludnih zrnaca *Tilia* spp. u netopljivom sedimentu (**Tablica 4**). Od ukupno 4 analizirana uzorka meda od kestena, 2 uzorka (K1 i K4) nisu zadovoljila pravilnikom propisanu minimalnu vrijednost udjela peludnih zrnaca *C. sativa* Mill. u netopljivom sedimentu (**Tablica 5**).

Gledajući ukupno kvalitetu analiziranih uzoraka meda sa tržišta, čak 7 analiziranih uzoraka nije zadovoljilo zahtjeve 2 ili više parametara kvalitete (**Slika 4**) dok je parametar sa najviše

nesukladnih uzoraka bio peludna analiza (10 od ukupno 27 uzoraka) (**Slika 5**) što ukazuje na pogrešno navođenje botaničkog podrijetla meda odnosno uzorci nisu uniflori već multiflori. Nakon peludne analize, udio HMF-a i aktivnost diastaze sljedeći su ispitivani parametri sa visokim udjelom nesukladnosti što ukazuje na neprikladno procesiranje i/ili dugotrajno skladištenje uzoraka.

6. ZAKLJUČCI

- S ciljem utvrđivanja kvalitete meda na tržištu analizirano je 27 uzoraka meda, od čega je 15 uzoraka deklarirano kao med od bagrema, 8 uzoraka kao med od lipe te 4 uzorka kao med od kestena.
- Obzirom na zahtjeve propisa o medu, svi analizirani uzorci bili su u skladu s postavljenim kriterijima za sljedeće fizikalno-kemijske parametre: udio vode, slobodne kiseline, udio tvari netopljivih u vodi te udio ugljikohidrata.
- Od analiziranih parametara kvalitete, peludna analiza se pokazala kao parametar s najviše nesukladnih uzoraka, zatim slijede udio HMF-a i aktivnost dijastaze.
- Od ukupno 3 analizirane vrste uniflornog meda, med od lipe se pokazao najboljim jer je svih 8 uzoraka zadovoljilo zahtjeve propisa po pitanju fizikalno-kemijskih parametara i melisopalinološke analize.
- Kvaliteta meda na tržištu pokazala se nezadovoljavajućom jer gotovo polovina uzoraka nije zadovoljila 1 ili više zahtjeva propisa o medu.

7. LITERATURA

- Alonso-Torre SR, Cavia MM, Fernández-Muiño MA, Moreno G, Huidobro JF, Sancho MT: Evolution of acid phosphatase activity of honeys from different climates. *Food Chemistry* 97:750-755, 2006.
- Amri A, Ladjama A: Physicochemical characterization of some multifloral honeys from honeybees *Apis mellifera* collected in the Algerian northeast. *African Journal of Food Science* 7:168-173, 2013.
- Anklam E: A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry* 63:549-562, 1998.
- Ball DW: The chemical composition of honey. *Journal of Chemical Education* 84:1643-1646, 2007.
- Biluca FC, Della Betta F, Pirassol de Oliveira G, Morilla Pereira L, Valdemiro Gonzaga L, Oliveira Costa AC, Fett R: 5-HMF and carbohydrates content in stingless bee honey by CE before and after thermal treatment. *Food Chemistry* 159:244-249, 2014.
- Bogdanov S: Harmonised methods of the international honey commission. International honey commission (IHC), 1-63, 2009.
- Bogdanov S: Physical properties of honey. U *Book of Honey*, str. 19-26. Bee Product Science 2011. www.bee-hexagon.net [07.12.2017.]
- Bogdanov S, Haldimann M, Luginbühl W, Gallmann P: Minerals in honey: environmental, geographical and botanical aspects. *Journal of Apicultural Research and Bee World* 46:269-275, 2007.
- Bogdanov S, Jurendic T, Sieber R, Gallmann P: Honey for nutrition and health: a review. *American Journal of the College of Nutrition* 27:677-689, 2008.
- Bogdanov S, Lüllmann C, Martin P, Von der Ohe W, Russmann H, Vorwohl G, Persano Oddo L, Sabatini AG, Marcazzan GL, Piro R, Flamini C, Morlot M, Lhéritier J, Borneck R, Marioleas P, Tsigouri A, Kerkvliet J, Ortiz A, Ivanov T, D'Arcy B, Mossel B, Vit P: Honey quality and international regulatory standards: review by the International Honey Commission. *Bee World* 80:61-69, 1999.
- Bogdanov S, Martin P: Honey authenticity: a review. *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene* 93:232-254, 2002.
- Bogdanov S, Ruoff K, Persano Oddo L: Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie* 35:4-17, 2004.
- Codex Alimentarius Commission: Revised Codex Standard for Honey, Codex Stan 12-1981, Rev.1 (1987), Rev.2, 1-7, 2001.

- Easter Strayer S, Everstine K, Kennedy S: Economically motivated adulteration of honey: quality control vulnerabilities in the international honey market. *Food Protection Trends* 34:8-14, 2014.
- Healthy with honey: Acacia honey is made of false acacia!, 2015.
<http://healthywithhoney.com/acacia-honey-is-made-of-false-acacia/> [27.04.2018.]
- Hermosín I, Chicón RM, Cabezudo MD: Free amino acid composition and botanical origin of honey. *Food Chemistry* 83:263-268, 2003.
- Karimov E, Xalilzad Z, Hobbi P, Alekperov J: Quality evaluation of honey from different region of Azerbaijan. *Journal of Food Chemistry and Nutrition* 2:71-79, 2014.
- Louveaux J, Maurizio A, Vorwohl G: Methods of melissopalynology. *Bee World* 59:139-153, 1978.
- Lugomer MD, Pavliček D, Kiš M, Končurat A: Quality assessment of different types of Croatian honey between 2012 and 2016. *Veterinarska Stanica: znanstveno-stručni veterinarski časopis* 48:93-99, 2017.
- Meo SA, Al-Asiri SA, Mahesar AL, Ansari MJ: Role of honey in modern medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences* 24:975-978, 2017.
- Merck: 5-(Hydroxymethyl)furfural, 2018.
<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/53407?lang=en®ion=HR>
[28.08.2018.]
- Merck: L-proline, 2017.
<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/p0380?lang=en®ion=HR>
[17.11.2017.]
- MPRRR, Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: *Pravilnik o kakvoći uniflornog meda*. Narodne novine 122/09, 2009.
- MP, Ministarstvo poljoprivrede: *Pravilnik o medu*. Narodne novine 53/15, 2015.
- MP, Ministarstvo poljoprivrede: *Pravilnik o izmjenama Pravilnika o medu*. Narodne novine 47/17, 2017.
- Missio da Silva P, Gauche C, Gonzaga LV, Oliveira Costa AC, Fett R: Honey: chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry* 196:309-323, 2016.
- Naila A, Flint SH, Sulaiman AZ, Ajit A, Weeds Z: Classical and novel approaches to the analysis of honey and detection of adulterants. *Food Control* 90:152-165, 2018.

- Pasias IN, Kiriakou K, Proestos C: HMF and diastase activity in honeys: a fully validated approach and a chemometric analysis for identification of honey freshness and adulteration. *Food Chemistry* 229:425-431, 2017.
- Pčelarstvo OnLine: *Bagrem*. 2018. <http://www.pcelarstvo.hr/index.php/ostalo/herbarij/77-bagrem> [27.04.2018.]
- Persano Oddo L, Piazza MG, Pulcini P: Invertase activity in honey. *Apidologie* 30:57-65, 1999.
- Persano Oddo L, Piazza MG, Sabatini AG, Accorti M: Characterization of unifloral honeys. *Apidologie* 26:453-465, 1995.
- Persano Oddo L, Piro R: Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie* 35:38-81, 2004.
- Pita-Calvo C, Vázquez M: Differences between honeydew and blossom honeys: a review. *Trends in Food Science & Technology* 59:79-87, 2017.
- Plantea: *Bagrem*, 2015a. <https://www.plantea.com.hr/bagrem/> [27.04.2018.]
- Plantea: *Lipa*, 2015b. <https://www.plantea.com.hr/lipa/> [27.04.2018.]
- Plantea: *Pitomi kesten*, 2015c. <https://www.plantea.com.hr/pitomi-kesten/> [27.04.2018.]
- Primorac LJ, Flanjak I, Cvijetić M, Đapić Z: Electrical conductivity and ash content of selected honey types. U *13 th Ružička Days "TODAY SCIENCE – TOMORROW INDUSTRY"*, str. 406-411. Faculty of Food Technology, Osijek, 2011a.
- Primorac LJ, Flanjak I, Kenjeric D, Bubalo D, Topolnjak Z: Specific rotation and carbohydrate profile of Croatian unifloral honeys. *Czech Journal of Food Sciences* 29:515-519, 2011b.
- Rao PV, Krishnan KT, Salleh N, Gan SH: Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: a comparative review. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 26:657-664, 2016.
- Ruoff K, Bogdanov S: Authenticity of honey and other bee products. *Apiacta* 38:317-327, 2004.
- Sancho MT, Muniategui S, Huidobro JF, Lozano JS: Aging of honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40:134-138, 1992.
- Šarić G, Matković D, Hruškar M, Vahčić N: Characterisation and classification of Croatian honey by physicochemical parameters. *Food Technology and Biotechnology* 46:355-367, 2008.

- Udruga proizvođača Slavanskog meda: *Slavonski med Specifikacija proizvoda*, 2016.
<http://www.pcelarska-udruga-bilogora.hr/wp-content/uploads/2016/08/Slavonski-med-Specifikacija-proizvoda.pdf> [02.09.2018.]
- Ullah Khan S, Anjum SI, Rahman K, Ansari MJ, Ullah Khan W, Kamal S, Khattak B, Muhammad A, Ullah Khan H: Honey: single food stuff comprises many drugs. *Saudi Journal of Biological Sciences* 25:320-325, 2018.
- Vijeće Europske Unije: Direktiva vijeća 2001/110/EC od 20. prosinca 2001. o medu. *Službeni list Europske Unije*, L10:47-52, 2002.
- Von der Ohe W, Persano Oddo L, Piana ML, Morlot M, Martin P: Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie* 35:18-25, 2004.
- Weston RJ: The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. *Food Chemistry* 71:235-239, 2000.
- White JW Jr., Doner LW: Honey composition and properties. *Beekeeping in the United States: Agriculture Handbook* 335:82-91, 1980.
- White JW Jr.: Honey. *Advances in Food Research* 24:287-374, 1978.