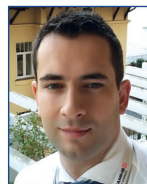


Ispitivanje kakvoće meda na hrvatskom tržištu u razdoblju 2019.-2021. godine



D. Pavliček, S. Furmeg*, V. Jaki Tkalec, M. Denžić Lugomer i T. Novosel

Sažetak

U ovom istraživanju provedeno je ispitivanje kakvoće medova na hrvatskom tržištu, uzorkovanih u razdoblju od 2019. do 2021. godine, kako bi se procijenila njihova kvaliteta i sukladnost prema zakonskoj regulativi. Analiza svih medova uključivala je fizikalno-kemijske pokazatelje: vodu, električnu vodljivost, hidroksimetilfurfural, aktivnost dijastaze, slobodne kiseline, reducirajuće šećere, saharozu te melisopalinološku analizu. Rezultati su interpretirani u odnosu na kriterije propisane Pravilnikom o medu i Pravilnikom o kakvoći uniflornog meda. Ukupno je analizirano 84 uzoraka meda, različitog botaničkog podrijetla (cvjetni, bagremov, kestenov, lipov, kaduljin, repičin, medljikovac) čijom je peludnom analizom utvrđeno da od 84 uzoraka njih 9 ne odgovara deklaraciji. Od fizikalno-kemijskih pokazatelja, hidroksimetilfurfural je bio najčešći uzrok nesukladnosti uzorka, jer je kod 13 medova koncentracija bila previsoka (>40 mg/kg). Osim što upućuje na pretjerano zagrijavanje i/ili neprikladno skladištenje

meda, u nekoliko navrata izmjerena koncentracija hidroksimetilfurfurala je bila čak preko 100 mg/kg, što može ukazivati na patvorenje. U dva meda dobivena aktivnost dijastaze iznosila je 6, što je ispod propisane vrijednosti (8). Previsok udio saharoze zabilježen je kod jednog cvjetnog (6,99 g/100 g) i jednog repičinog meda (7,57 g/100 g), dok je kod dva kestenova meda i jednog kaduljinog razlog nesukladnog rezultata bila električna vodljivost. Sadržaj vode, reducirajućih šećera i slobodnih kiselina u svim pretraženim uzorcima bio je u skladu s propisanim. Najviše je uzorkovano cvjetnih (30) i bagremovih medova (30) pa je shodno tome i najviše nesukladnih medova pripadalo upravo tim vrstama, 8 odnosno, 9. Ukupno je zabilježeno 29 nesukladnih rezultata, što je rezultiralo s 22 uzorka meda koji nisu odgovarali kriterijima iz Pravilnika, odnosno 26 % svih pretraženih uzoraka.

Ključne riječi: kakvoća meda, Hrvatska, fizikalno-kemijski pokazatelji, melisopalinološka analiza

Damir PAVLIČEK, mag. chem., Sanja FURMEG*, dipl. sanit. ing. (dopisni autor, e-mail: furmeg.vzk@veinst.hr), dr. sc. Vesna JAKI TKALEC; dr. med. vet., znanstvena suradnica, dr. sc. Marija DENŽIĆ LUGOMER, dipl. ing. kemije, Tiana NOVOSEL, mag. appl. chem., Hrvatski veterinarski institut, Veterinarski zavod Križevci, Hrvatska

Uvod

Medonosna pčela (*Apis mellifera*) svrstana je u eusocijalne kukce s obzirom da pčelinja zajednica predstavlja jedan organizam, izvan kojeg nijedna pčela ne može samostalno opstati (Bargańska i Namieśnik, 2010.). Tijekom prikupljanja hrane - peluda, nektara i smolastih tvari koje koriste za tvorbu svojih proizvoda, od kojih je svakako najvažniji med, medonosne pčele oprasuju entomofilne biljke. Kao tipičan prirodan proizvod, med sadrži tvari koje su blagotvorne za ljudsko zdravlje, a uglavnom se sastoji od monosaharida (~70 %), oligosaharida (~7 %), vode (~18-20 %), kao i drugih spojeva koji pripadaju različitim kemijskim skupinama (esencijalni elementi, organske kiseline, bjelančevine i aminokiseline, enzimi, flavonoidi, antocijanini, vitamini, steroli, fosfolipidi, eterična ulja i pigmenti), a sveukupno ih je gotovo 300 (Bargańska i sur., 2015.). Ovisno o području gdje su proizvedeni, klimatskim uvjetima, vrsti pčele, botaničkom podrijetlu (podrijetlo nektara ili medne rose), uvjetima skladištenja te patvorenju tijekom proizvodnje, ukoliko ga je bilo medovi pokazuju strukturne razlike. Zahvaljujući svojoj kvaliteti i ljekovitim svojstvima med ima globalnu konzumaciju i sve veću ekonomsku vrijednost, što ga čini primamljivim proizvodom za patvorenje. Dodatak zaslađivača, krivo navođenje botaničkog podrijetla, visok udio vode ili naknadan dodatak vode što može rezultirati fermentacijom meda i kvarenjem te uporaba previsoke temperature tijekom obrade ukapljivanjem ili pasterizacijom, predstavljaju najvažnije uzroke upitne kvalitete i izvornosti meda (Reybroeck, 2014.). Iako su razvijene zemlje najveći potrošači meda, većina proizvodnje ove namirnice odvija se u zemljama u razvoju, čija je uvozna cijena niža od lokalno proizvedenog i samim time je takav med iz ekonomskih razloga vrlo podložan krivom označavanju

(deklariranju). Vanjskotrgovinsko poslovanje je pod iznimnim pritiskom i izvoz meda iz ovih zemalja suočava se s rastućim problemima vezanim uz njegovu autentičnost. Sve veći izazov predstavljaju i brojni okolišni onečišćivači (teški metali, pesticidi i dr.) koji posjeduju toksična svojstva, a čije se rezidue mogu detektirati u medu (Zavrtnik i sur., 2020., Pavliček i sur., 2021.).

Upravo zato, imperativ je odrediti pravilan kriterij kontrole kvalitete da bi potrošači konzumirali kvalitetniji i zdraviji proizvod (Ayvaz, 2017.). Analitička kontrola kvalitete meda važan je korak u ispunjenju zahtjeva kupaca i otklanjanju komercijalnih nagađanja, ali pritom nije dovoljno učiniti procjenu jednog pojedinačnog parametra, već je potrebno provesti više mjerenja koja uključuju fizikalno-kemijske pokazatelje i melisopalinološku analizu.

U Europskoj uniji (EU), kriteriji o sastavu, kvaliteti i označavanju meda propisani su Direktivom Vijeća 2001/110/EZ od 20. prosinca 2001. o medu (EC, 2001.). Države članice implementirale su ovu Direktivu u nacionalni zakon bez donošenja nacionalnih odredbi koje nisu predviđene ovom Direktivom da bi se izbjegavalo stvaranje novih prepreka za slobodnu distribuciju meda. Standardi kvalitete kojima mora udovoljavati med u proizvodnji i stavljanju na tržište u Republici Hrvatskoj propisani su Pravilnikom o medu (Pravilnik, 2015.) i Pravilnikom o kakvoći uniflornog meda (Pravilnik, 2009.). Navodi se da je med 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 do sazrijevanja odlažu u stanice saća. Prema podrijetlu med se dijeli na cvjetni med i

medljikovac, a prema načinu proizvodnje i/ili prezentiranju postoji: med u saću, med sa saćem ili dijelovima saća, cijedeći med, vrcani med, prešani med te filtrirani med. Posebna vrsta meda je pekarski med koji se koristi u industriji ili kao sastojak hrane koja se potom prerađuje i zbog toga može imati drugačije karakteristike od drugih vrsta medova. Kada se stavlja na tržište kao med ili upotrebljava u bilo kojem proizvodu namijenjenom za konzumaciju, medu se ne smiju dodavati nikakvi sastojci, uključujući prehrambene aditive, niti bilo kakvi drugi dodatci, a jednako tako pelud ili neki drugi sastojak karakterističan za med ne smije se uklanjati, osim ako je to neizbježno pri uklanjanju stranih anorganskih ili organskih tvari.

Većina istraživanja medova fokusirana je na određivanje geografskog i botaničkog podrijetla, kontrolu kvalitete i patvorenje (Arvanitoyannis i sur., 2005.). Iako postoje jednostavnije i brže metode za određivanje kvalitete meda, bazirane na infracrvenoj spektroskopiji (Ayvaz, 2017.), iz ekonomičnih razloga danas se još uvijek najviše koriste metode dane od strane Međunarodne komisije za med (IHC, 2009.), a to se pogotovo odnosi i na zemlje članice Europske unije, u kojima se preporučuje uporaba ovih međunarodno priznatih validiranih metoda da bi se osigurala sukladnost s postavljenim kriterijima sastava i ostalim specifičnim zahtjevima zakonske regulative za sve medove na tržištu Europske unije.

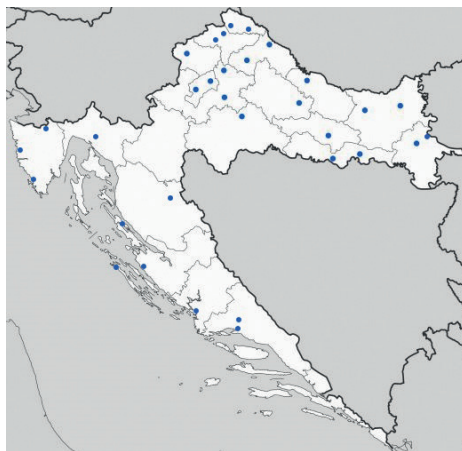
Da bi se procijenila kakvoća medova dostupnih na hrvatskom tržištu, provedena je melisopalinološka i fizikalno-kemijska analiza medova prikupljenih iz raznih krajeva Republike Hrvatske.

Materijali i metode

Uzorkovanje

Tijekom razdoblja od tri godine (2019.-2021.) uzorkovano je ukupno 84

meda na području Republike Hrvatske (Slika 1.), od čega je, prema deklariranom botaničkom podrijetlu, uzeto: 30 bagremovih, 30 cvjetnih, 10 kestenovih, po pet lipovih i kaduljinih medova te dva repičina meda i dva medljikovca.



Slika 1. Lokacije uzorkovanja medova u Republici Hrvatskoj u razdoblju 2019.-2021.

Priprema uzorka

Med koji se analizira mora predstavljati reprezentativni uzorak određene šarže meda. Prije same pretrage, svi se uzorci pripremaju na isti način, tako da se detaljno promiješaju (barem tri minute), pazeći pritom da se što manje mjehurića zraka umiješa u med, osobito kada se određuje udio hidroksimetilfurfurala. Kada je med kristaliziran, čvrste i kompaktne mase, može se prethodno smekšati na kuhalu ili u termostatiranoj vodenoj kupelji pri temperaturi ne višoj od 40 °C, uz lagano i pažljivo miješanje.

Melisopalinološka analiza

Svi uzorci meda podvrgnuti su kvalitativnoj melisopalinološkoj analizi da bi se odredila vrsta meda. Metoda je provedena prema postupku Von der Ohe i sur. (2004.); mikroskopiranje je izvršeno

svjetlosnim mikroskopom (Zeiss Axio Lab. A1) pri povećanju od 400 puta. Da bi se odredio postotak peludnih zrnaca određene biljne vrste u medu, potrebno je izbrojiti 500 peludnih zrnaca u pripremljenom preparatu. Peludna zrnca razlikuju se po veličini, građi, boji, obliku eksine – vanjskog omotača peludnih zrnaca (glatka, šupljikava, brazdasta), obliku (loptast, elipsoidan, trokutast), a svako od ovih svojstava karakteristično je za određenu biljnu vrstu (Bogdanov i Martin, 2002.).

Voda

Određivanje sadržaja vode u medu provedeno je AOAC metodom (AOAC, 2005.). Postupak se temelji na mjerenju indeksa refrakcije, koji raste s udjelom čvrste tvari tj. smanjenjem količine vode u medu, a kreće se u području od 1,3200 do 1,5000. Na temelju dobivene vrijednosti indeksa refrakcije odredi se sadržaj vode u medu (%), vodeći se tablicom danom u uputama IHC-a (IHC, 2009.).

Električna vodljivost

Električna vodljivost meda definira se kao vodljivost 20 % vodene otopine meda kod 20 °C, pri čemu se 20 % odnosi na suhu tvar meda. Mjerenje se izvodi konduktometrijski, određivanjem električne otpornosti otopine, koja predstavlja recipročnu vrijednost električne vodljivosti.

Hidroksimetilfurfural

Određivanje hidroksimetilfurfurala provedeno je uporabom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti uz detekciju s nizom dioda (HPLC-DAD). IHC predlaže ovu analitičku tehniku zbog svojih karakteristika, kao što su smanjeni utjecaj interferirajućih tvari i mogućnosti simultane analize više spojeva. Ciljni spoj određuje se kromatografijom obrnutih faza uz detekciju u ultraljubičastom području spektra (285 nm) elektromagnetskog zračenja.

Aktivnost dijastaze

Određivanje aktivnosti dijastaze u medu provedeno je spektrofotometrijskom metodom po Schade-u. U metodi se kao supstrat koristi škrob, a rezultat se izražava u jedinicama po Gothe-u. Jedinica aktivnosti dijastaze definira se kao količina α -amilaze potrebne za hidrolizu 1 %-tne otopine škroba enzimom iz 1 g meda tijekom jednog sata na temperaturi od 40 °C.

Slobodne kiseline

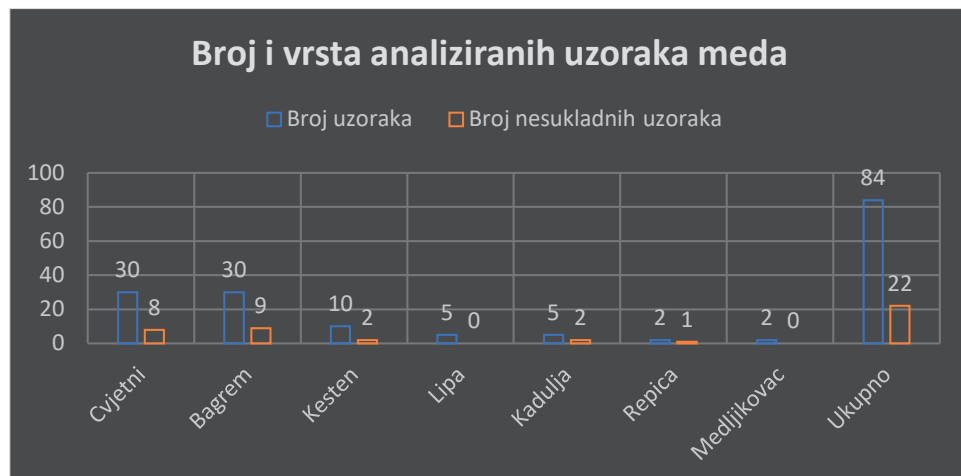
Određivanje slobodnih kiselina u medu, u sklopu ovog istraživanja, provedeno je titracijom do točke ekvivalencije, referentnom metodom za određivanje slobodnih kiselina u medu dane od IHC-a. Postupak se zasniva na titraciji uzoraka otopinom natrijeva hidroksida uz primjenu fenolftaleina do pojave svijetloružičaste boje.

Reducirajući šećeri i saharoza

Udio reducirajućih šećera određivan je metodom redukcije Fehlingove otopine (otopina bakrova sulfata i otopina kalijeva natrijeva tartarata i natrijeva hidroksida). Ova nespecifična metoda pruža informaciju o zbroju monosaharida glukoze i fruktoze, ali ne i o njihovom pojedinom udjelu. Da bi se odredio sadržaj saharoze u medu, bilo je potrebno prvo odrediti udio ukupnih šećera, a zatim se željena vrijednost dobiva razlikom ukupnih i reducirajućih šećera.

Rezultati i rasprava

U ovom istraživanju provedeno je ispitivanje fizikalno-kemijskih pokazatelja i melisopalinološka analiza 84 meda različitog botaničkog podrijetla, sa svrhom procjene kakvoće medova s područja Republike Hrvatske, uzorkovanih u razdoblju od 2019. do 2021. godine (Slika 2).



Slika 2. Prikaz broja i vrste analiziranih uzoraka meda

Melisopalinološka ili peludna analiza vrlo je važan segment u postupku procjene kakvoće meda. Med sadrži brojna peludna zrnca i elemente medljike koji zajedno pružaju vrijednu informaciju o okolišu u kojem pčele stvaraju med (Von der Ohe i sur., 2004.). Sadržaj peludi u medu odraz je poljoprivredne prakse neke regije, šumske vegetacije i cvjetne raznolikosti biljaka (Rašić i sur., 2018.). Stoga peludna analiza, zajedno sa senzorskom i fizikalno-kemijskom analizom, može poslužiti kao dobar alat za određivanje geografskog i botaničkog podrijetla meda. Ovom mikroskopskom analizom sedimenta meda mogu se dobiti i neki drugi korisni podatci o ekstrakciji, filtraciji i fermentaciji meda, načinima patvorenja meda te higijenskim aspektima, kao što je kontaminacija mineralnom prašinom, čađom ili škrobnim zrcima (Von der Ohe i sur., 2004.).

Melisopalinološkom analizom medova utvrđeno je da četiri od ukupno 30 analiziranih uzoraka, klasificiranih kao bagremov med, nisu zadovoljili propisanu minimalnu vrijednost udjela peludnih zrnaca. Kod kestenovih medova, od ukupno 10 analiziranih

dva su bila nesukladna, a jednak broj je dobiven i kod kaduljinih medova, gdje je analizirano njih ukupno pet. U slučaju peludne analize lipovih i repičinih medova te medljikovaca svi analizirani uzorci zadovoljili su propisanu vrijednost udjela peludnih zrnaca u netopljivom sedimentu.

U tabeli 1. prikazani su rezultati određivanja pokazatelja udjela vode, električne vodljivosti (EV), hidroksimetilfurfurala (HMF), aktivnosti dijastaze (AD), slobodnih kiselina te udjela reducirajućih šećera i saharoze.

Udio vode u medu važan je kriterij kvalitete koji ukazuje na rok valjanosti meda i sposobnosti da se odupre kvarenju fermentacijom zbog djelovanja kvasaca. Osim refraktometrije, objavljeni su radovi gdje se koriste i neki drugi načini određivanja, poput Karl Fischer-ove titracije (Sanchez i sur., 2010.), ultrazvučne reflektometrije (Cereser Camara i Laux, 2010.) i NIR tehnike (Ruoff i sur., 2007.). Provedena su različita istraživanja da bi se odredila korelacija udjela vode i aktiviteta vode u medu. Abramović i sur. (2008.) primijetili su da aktivitet vode u medu opada s ukapljivanjem, a proučavali su

Tabela 1. Rezultati analize fizikalno-kemijskih pokazatelja u medovima

Opisna statistika	Voda (%)	EV (mS/cm)	HMF (mg/kg)	AD	Slobodne kiseline (meqkg ⁻¹)	Reduc. šećeri (g/100 g)	Saharoza (g/100 g)
BAGREMOV MED (n=30)							
Srednja vrijednost	17,2	0,17	23,8	17,3	12,4	73,3	2,90
Standard. devijacija	0,98	0,06	19,8	7,59	4,13	4,94	2,10
Raspon	15,3-19,6	0,07-0,33	1,2-96,6	6-38	4,0-25,0	62,8-83,2	<0,5-9,5
CVJETNI MED (n=30)							
Srednja vrijednost	17,5	0,35	33,2	19,4	17,8	73,3	2,91
Standard. devijacija	0,99	0,16	35,5	7,59	6,61	4,37	1,52
Raspon	15,9-19,2	0,10-0,76	1,5-144,9	10-38	7,0-35,5	63,8-81,1	<0,5-6,99
KESTENOV MED (n=10)							
Srednja vrijednost	18,1	1,06	9,3	28,1	20,8	72,5	2,49
Standard. devijacija	1,55	0,28	9,71	3,41	3,91	3,68	1,60
Raspon	15,6-20,0	0,56-1,43	0,7-30,8	23-32	16,5-27,0	66,5-80,1	<0,5-4,63
LIPOV MED (n=5)							
Srednja vrijednost	17,1	0,57	13,8	19,2	14,9	73,0	2,32
Standard. devijacija	0,74	0,07	10,3	3,11	6,16	3,74	0,92
Raspon	16,4-18,3	0,49-0,66	1,7-24,2	16-24	7,0-22,5	68,1-76,7	<0,5-3,68
KADULJIN MED (n=5)							
Srednja vrijednost	15,9	0,55	22,3	22,8	25,6	69,3	2,96
Standard. devijacija	0,90	0,28	40,2	3,70	4,29	3,31	1,24
Raspon	14,8-17,1	0,33-1,02	1,8-94,1	18-28	20,5-31,0	64,7-73,6	<0,5-4,61
REPIČIN MED (n=2)							
Srednja vrijednost	18,5	0,19	18,6	15,0	14,0	80,5	5,7
Standard. devijacija	0,99	0,01	21,1	0	1,41	5,92	2,68
Raspon	17,8-19,2	0,18-0,19	3,6-33,5	15	13,0-15,0	76,3-84,6	3,8-7,6
MEDLJKOVAC (n=2)							
Srednja vrijednost	17,0	0,97	17,4	32,5	26,0	60,3	4,1
Standard. devijacija	0,64	0,18	20,2	21,9	4,95	2,30	0,36
Raspon	16,5-17,4	0,84-1,10	3,1-31,6	17-48	22,5-29,5	58,7-61,9	3,8-4,4

i utjecaj pregrijavanja. Zaključeno je da se aktivitet vode mijenja s fizičkim stanjem od tekućeg do kristaliziranog jer tijekom procesa kristalizacije, glukoza kristalizira, a molekule vode postaju slobodne, prouzročeci smanjenje koncentracije otopljene tvari, a povećanje aktiviteta vode. Udio vode u medu kreće se u području od 13 % do 25 %. Kada je udio vode viši (>18 %), med nije toliko stabilan i povećava se mogućnost fermentacije meda tijekom skladištenja, a kada je taj udio manji (<15 %) med postaje granuliran. Uglavnom ovisi o botaničkom podrijetlu, klimatskim uvjetima, stupnju zrelosti, tehnikama obrade i uvjetima skladištenja. Voda u medu izrazito utječe na njegova senzorska svojstva, osobito okus i kristalizaciju (Pita-Calvo i sur., 2017.).

Vrijednost udjela vode u analiziranim uzorcima kretala se u rasponu od 14,8 % u kaduljinom medu do granične vrijednosti od 20,0 %, koje su prisutne kod medova od kestena. Samim time, vidljivo je kako su svi analizirani medovi zadovoljili kriterije (Pravilnik, 2015.).

Električna vodljivost koristan je parametar kakvoće pri klasifikaciji uniflornih vrsta meda s obzirom da pruža dodatnu informaciju osamobotaničkom podrijetlu meda i može poslužiti u svrhu kvalitetnije interpretacije rezultata dobivenih melisopalinološkom analizom (Bogdanov i sur., 2004.). Vrijednost električne vodljivosti ovisi o mineralima, organskim kiselinama i udjelu bjelančevina u medu (Denžić Lugomer i sur., 2017.). Niske vrijednosti električne vodljivosti (<0.8 mS/cm) ukazuju na med cvjetnog podrijetla s manjim udjelom minerala i kiselina, dok tamnije vrste medova, poput medljikovca i kestenovog meda, karakterizira električna vodljivost viša od 0,8 mS/cm. Zbog značajnih prirodnih varijacija planika (*Arbutus unedo*), vrijes (*Erica* spp.), eukaliptus (*Eucalyptus* spp.), lipa (*Tilia* spp.), vrijesak (*Calluna vulgaris*), manuka (*Leptospermum*

scoparium) i čajevac (*Melaleuca* spp.) predstavljaju iznimke. Acquarone i sur. (2007.) su u svom istraživanju demonstrirali da se električna vodljivost, na temelju različitog sastava tla pojedinih regija, može upotrijebiti kao brza metoda za određivanje geografskog podrijetla meda. Osim konduktometrijske metode određivanja, predložene od IHC-a, električna vodljivost je u nekim radovima ispitivana i uporabom infracrvene spektroskopije Fourierove transformacije uz prigušenu totalnu refleksiju (FTIR-ATR) (Ruoff i sur., 2006.).

U ovom radu, električna vodljivost medova nije odgovarala propisanim vrijednostima kod tri analizirana meda, od čega se dva puta radilo o medu od kestena (0,56 mS/cm i 0,67 mS/cm), a jednom o medu od kadulje (1,02 mS/cm).

HMF je važan pokazatelj kvalitete meda zbog pretjeranog zagrijavanja, neprikladnog skladištenja meda i/ili patvorenja s invertnim šećerom ili sirupom; prirodno je prisutan u medu i dok se njegov udio u svježem medu kreće otprilike oko 1 mg/kg, pri temperaturama okoliša iznad 20 °C ta vrijednost brzo raste (Pita-Calvo i sur., 2017.). Razlozi određivanja HMF-a u medu povezani su s njegovim toksičnim svojstvima, međutim neka istraživanja upućuju da HMF ne predstavlja ozbiljan rizik za ljudsko zdravlje (Janzowski i sur., 2000.). Osim HPLC metode određivanja HMF-a u medu, često se koriste i spektrofotometrijske metode po White-u odnosno po Winkler-u. Usporedbom navedenih metoda s HPLC metodom razlike su zabilježene jedino pri koncentracijama nižim od 5 mg/kg gdje je dobivena bolja preciznost metode (Truzzi i sur., 2012.).

Analizom uzoraka medova u ovom istraživanju, HMF se pokazao kao najčešći uzrok nesukladnosti uzoraka. Od ukupno 84 uzorka, u njih čak 13 HMF je bio sadržan u nedopuštenoj količini, najviše cvjetnih (7) i bagremovih (5)

medova te jedan kaduljin med. Potrebno je spomenuti da se kod šest medova radilo o vrijednostima koje su bile i više nego dvostruko veće od propisanih 40 mg/kg, što upućuje na sumnju na svjesno patvorenje meda. Najveća koncentracija zabilježena je u cvjetnom medu i iznosila je čak 144,9 mg/kg. U sličnim radovima procjene kakvoće medova u Hrvatskoj, vrijednosti HMF-a kretale su se u području 0,38-38,9 mg/kg (Čalopek i sur., 2016.), odnosno 0,1-62,1 mg/kg (Denžić Lugomer i sur., 2017.).

Aktivnost dijastaze predstavlja jedan od glavnih parametara u određivanju intenziteta zagrijavanja meda tijekom prerade i skladištenja, s obzirom da se ta vrijednost zagrijavanjem smanjuje. IHC preporučuje dvije spektrofotometrijske metode za određivanje aktivnosti dijastaze - Schade i Phadebas metodu, a moguće ju je određivati i potencijometrijskom metodom, koja uključuje stvaranje kompleksa škrob-trijodid s karakterističnim obojenjem (Sakač i Sak-Bosnar, 2012.). Ova metoda pokazuje dobru korelaciju s obje referentne metode, a pritom je mnogo jednostavnija i brža te koristi relativno jeftinu instrumentaciju i ne zahtijeva dodatna razrjeđenja i podešavanja volumena pa je, uspoređujući ju s metodom po Schade-u, manje čimbenika koji doprinose mjernoj nesigurnosti.

Medovi kod kojih je zabilježena viša koncentracija HMF-a, u pravilu su imali nešto niže vrijednosti aktivnosti dijastaze, što je i bilo za očekivati s obzirom na korelaciju ova dva parametra. Uspirkos tome, tek dva bagremova meda od svih analiziranih uzoraka nisu zadovoljavali kriterij aktivnost dijastaze (> 8).

Kiselost meda dolazi od organskih kiselina iz različitih izvora nektara, djelovanja enzima glukoza oksidaze odgovornog za stvaranje glukonske kiseline, djelovanja mikroorganizama tijekom dozrijevanja, ali i minerala koji se nalaze u medu (Mădaş i sur.,

2019.). Uočeno je da udio slobodnih kiselina raste s porastom pepela u medu (Finola i sur., 2007.). Općenito, određivanje slobodnih kiselina u medu može poslužiti za procjenu fermentacije meda, ali je i koristan parametar za autentifikaciju unifloernih medova, a posebice razlikovanja cvjetnih medova od medljikovaca.

Što se tiče udjela slobodnih kiselina, čije su se vrijednosti kretale u rasponu 4,0-35,5 meq/kg-1 svi analizirani uzorci zadovoljavali su propisane kriterije. Dobiveni rezultati usporedivi su s onima u istraživanju Čalopeka i sur. (2016.). Usporedbom medova različitih biljnih vrsta koje nisu obuhvaćene ovim istraživanjem, Chakir i sur. (2016.) su zabilježili najviše vrijednosti slobodnih kiselina u medovima od lavande (*Lavandula* spp.), 30,74 meq/kg-1, dok su najniže vrijednosti dobivene u medovima od ružmarina (*Rosmarinus officinalis*), 10,69 meq/kg-1.

Fruktoza i glukoza su dva najdominantnija šećera u medu i moraju u dovoljnoj količini biti prisutni, dok za saharozu postoji najviša dopuštena količina koja se mora poštivati. Analiza udjela saharoze provodi se kako bi se kontroliralo patvorenje meda s komercijalnim šećerom.

Prema uputama za pojedini pokazatelj određivanja koje je definirala Međunarodna komisija za med (IHC) šećeri se određuju tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti s detektorom indeksa refrakcije (HPLC-RID), tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti s pulsnom amperometrijskom detekcijom (HPLC-PAD), plinskom kromatografijom s plameno-ionizacijskim detektorom (GC-FID) ili redukcijom Fehlingovim reagensom (modificirana Lane-Eynon metoda). Udio glukoze i omjer glukoza : voda važni su indikatori brzine prirodne kristalizacije meda koji upućuju na mnogo brži proces kristalizacije u slučajevima veće koncentracije

glukoze odnosno omjera glukoza : voda (Reybroeck, 2014.). S druge pak strane, ukoliko je taj omjer 1,7 ili manje, med neće kristalizirati.

Određivanjem sadržaja reducirajućih šećera najniže vrijednosti dobivene su kod medljikovca, 58,7-61,9 g/100 g, a najviše kod repičinih medova, 76,3-84,6 g/100 g. Iako su svi medovi odgovarali propisanim kriterijima, vidljivo je kako je udio reducirajućih šećera u mnogo širem rasponu nego u istraživanju Čalopeka i sur. (2016.).

Prosječna vrijednost sadržaja saharoze u pretraženim cvjetnim, bagremovim, kestenovim, lipovim i kaduljinim medovima iznosila je 2-3 g/100 g, dok je kod medljikovca i repičinog meda ta vrijednost nešto viša, vjerojatno i zbog toga što su analizirana samo po dva meda od svake vrste. Najveći udio saharoze zabilježen je upravo u repičinom medu (7,57 g/100 g), što je bio jedan od dva nesukladna rezultata za parametar saharozu. Visoki se udio ovog šećera može povezati s ranim vrcanjem meda, kada saharoza nije još u potpunosti pretvorena u glukozu i fruktozu enzimom invertazom pa sam med nije još dovoljno zreo (da C. Azeredo i sur., 2003.). Pretjerano prihranjivanje pčela šećernim pogačama u proljeće isto tako može biti uzrok povećane koncentracije saharoze, koja se kasnije opet može i tijekom skladištenja djelovanjem invertaze smanjiti (Anklam, 1998.).

Gledajući prema vrsti meda, gotovo 27 % cvjetnih i 30 % bagremovih medova nije odgovaralo pravilnicima (Pravilnik, 2009., 2015.). Te vrijednosti se otprilike slažu i s cjelovitom slikom dobivenom ovim istraživanjem, koja kaže kako je od 84 pretražena meda, njih 22 nesukladna, što čini ukupno 26 %. Drugim riječima, gotovo svaki četvrti med koji smo uzorkovali i analizirali ne odgovara pratećoj deklaraciji uz koju se med prodaje na tržištu i koja garantira njegovu kvalitetu i ekonomsku vrijednost.

Zaključak

Med je vrijedan prehrambeni proizvod što ga čini vrlo primamljivim za patvorenje s ciljem stjecanja ekonomske dobiti. To uključuje namjernu zamjenu ili dodatak neke tvari u svrhu povećanja vrijednosti konačnog proizvoda ili pak smanjenja troškova njegove proizvodnje. Svjesno prodavanje takvih medova koji ne zadovoljavaju standarde predstavlja sve veći izazov za regulatorna tijela i trgovine koje imaju ulogu sprječavanja prevare i osiguravanju sigurnih, visokokvalitetnih i primjereno označenih prehrambenih proizvoda na međunarodnom tržištu. Osim autentičnosti meda u pogledu proizvodnje, važna je i njihova kontrola u pogledu botaničkog i geografskog podrijetla, da bi se, prije svega, zaštitili potrošači.

Literatura

1. ABRAMOVIĆ, H., M. JAMNIK, L. BURKAN and M. KAČ (2008): Water activity and water content in Slovenian honeys. *Food Control*. 19, 1086-1090. 10.1016/j.foodcont.2007.11.008
2. ACQUARONE, C., P. BUERA and B. ELIZALDE (2007): Pattern of pH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. *Food Chem.* 101, 695-703. 10.1016/j.foodchem.2006.01.058
3. ANKLAM, E. (1998): A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chem.* 63, 549-562. 10.1016/S0308-8146(98)00057-0
4. AOAC (2005): AOAC Official Methods of Analysis. In: Sugars and Sugar products. AOAC Official Method No. 969.38 Moisture in Honey. AOAC International, Chapter 44, p. 26.
5. ARVANITOYANNIS, I. S., C. CHALHOUB, P. GOTSIOU, N. LYDAKIS SIMANTIRIS and P. KEFALAS (2005): Novel quality control methods in conjunction with chemometrics (multivariate analysis) for detecting honey authenticity. *Crit. Rev. Food Sci.* 45, 193-203. 10.1080/10408690590956369
6. AYVAZ, H. (2017): Quality Control of Honey Using New Generation Infrared Spectrometers. *TURJAF* 5, 326-334. 10.24925/turjaf.v5i4.326-334.1210
7. BARGAŃSKA, Ž. and J. NAMIEŚNIK (2010): Pesticide Analysis of Bee and Bee Product Samples. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 40, 159-171. 10.1080/10408347.2010.490484
8. BARGAŃSKA, Ž., M. ŚLEBIODA and J. NAMIEŚNIK (2015): Development of a Gas

- Chromatography - Tandem Mass Spectrometry Procedure for Determination of Pesticide Residues in Honey and Honeybee Samples. *J. Chromatograph Separat. Techniq.* S6-002. 10.4172/2157-7064.S6-002
9. BOGDANOV, S. and P. MARTIN (2002): Honey authenticity: a review. Swiss Bee Research Centre, dairy Research Station, Liebefeld. 1-20.
 10. BOGDANOV, S., K. RUOFF and L. PERSANO ODDO (2004): Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie* 35, 4-17. 10.1051/apido:2004047
 11. CERESER CAMARA, V. and D. LAUX (2010): Moisture content in honey determination with a shear ultrasonic reflectometer. *J. Food Eng.* 96, 93-96. 10.1016/j.foodeng.2009.06.049
 12. CHAKIR, A., A. ROMANE, G. L. MARCAZZAN and P. FERRAZZI (2016): Physicochemical properties of some honeys produced from different plants in Morocco. *Arab. J. Chem.* 9, 946-954. 10.1016/j.arabjc.2011.10.013
 13. ČALOPEK, B., K. MARKOVIĆ, N. VAHČIĆ and N. BILANDŽIĆ (2016): Quality assessment of eight types of honey. *Vet. stn.* 47, 317-325.
 14. DA C. AZEREDO, L., M. A. A. AZEREDO, S. R. DE SOUZA and V. M. L. DUTRA (2003): Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chem.* 80, 249-254. 10.1016/S0308-8146(02)00261-3
 15. DENŽIĆ LUGOMER, M., D. PAVLIČEK, M. KIŠ, A. KONČURAT and D. MAJNARIĆ (2017): Quality assessment of different types of Croatian honey between 2012 and 2016. *Vet. stn.* 48, 93-99.
 16. EC (2001): Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey. *Off. J. Eur. Commun.* L10, 47-52.
 17. FINOLA, M. S., M. LASAGNO and J. M. MARIOLI (2007): Microbiological and chemical characterization of honeys from Central Argentina. *Food Chem.* 100, 1649-1653. 10.1016/j.foodchem.2005.12.046
 18. IHC (2009): Harmonised methods of the International Honey Commission, Swiss Bee Research Centre, Federal Dairy Station, Liebefeld.
 19. JANZOWSKI, C., V. GLAAB, E. SAMIMI, J. SCHLATTER and G. EISENBRAND (2000): 5-Hydroxymethylfurfural: assessment of mutagenicity, DNA-damaging potential and reactivity towards cellular glutathione. *Food Chem. Toxicol.* 38, 801-809. 10.1016/S0278-6915(00)00070-3
 20. MÁDAŞ, M. N., L. A. MÁRGHITAŞ, D. S. DEZMIREAN, O. BOBIŞ, O. ABBAS, S. DANTHINE, F. FRANCIS, E. HAUBRUGE and B. K. NGUYEN (2019): Labeling Regulations and Quality Control of Honey Origin: A Review. *Food Rev. Int.* 36, 215-240. 10.1080/87559129.2019.1636063
 21. PAVLIČEK, D., N. BILANDŽIĆ, I. TLAK GAJGER and M. DENŽIĆ LUGOMER (2021): Use of neonicotinoids and monitoring of its residues in honeybees and honeybee products. *Vet. stn.* 52, 565-577. (In Croatian). 10.46419/vs.52.5.12 10.46419/vs.52.5.12
 22. PITA-CALVO, C., M. E. GUERRA-RODRÍGUEZ and M. VÁZQUEZ (2017): Analytical Methods Used in the Quality Control of Honey. *J. Agric. Food Chem.* 65, 690-703. 10.1021/acs.jafc.6b04776
 23. Pravilnik (2009): Pravilnik o kakvoći uniflornog meda Narodne novine br. 122.
 24. Pravilnik (2015): Pravilnik o medu. Narodne novine br. 53.
 25. RAŠIĆ, S., E. ŠTEFANIĆ, S. ANTUNOVIĆ, J. JOVIĆ i S. KRISTEK (2018): Peludna analiza meda sjeveroistočne Hrvatske. *Poljoprivreda* 24, 43-49.
 26. REYBROECK, W. (2014): Quality Control of Honey and Bee Products. In: GUPTA, R. K., W. REYBROECK, J. VAN VEEN and A. GUPTA: Beekeeping for Poverty Alleviation and Livelihood Security. Springer Nature 481-506. 10.1007/978-94-017-9199-1_18
 27. RUOFF, K., M. T. IGLESIAS, W. LUGINBÜHL, J.-O. BOSSET, S. BOGDANOV and R. AMADÓ (2006): Quantitative analysis of physical and chemical measurands in honey by mid-infrared spectrometry. *Eur. Food Res. Technol.* 223, 22-29. 10.1007/s00217-005-0085-z
 28. RUOFF, K., W. LUGINBÜHL, S. BOGDANOV, J.-O. BOSSET, B. ESTERMANN, T. ZIOLKO, S. KHERADMANDAN and R. AMADÓ (2007): Quantitative determination of physical and chemical measurands in honey by near-infrared spectrometry. *Eur. Food Res. Technol.* 225, 415-423. 10.1007/s00217-006-0432-8
 29. SAKAČ, N. and M. SAK-BOSNAR (2012): A rapid method for the determination of honey diastase activity. *Talanta* 93, 135-138. 10.1016/j.talanta.2012.01.063
 30. SANCHEZ, V., R. BAEZA, C. CIAPPINI, M. C. ZAMORA and J. CHIRIFE (2010): Comparison between Karl Fischer and refractometric method for determination of water content in honey. *Food Control.* 21, 339-341. 10.1016/j.foodcont.2008.08.022
 31. TRUZZI, C., A. ANNIBALDI, S. ILLUMINATI, C. FINALE, M. ROSSETTI and G. SCARPONI (2012): Determination of very low levels of 5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde (HMF) in natural honey: comparison between the HPLC technique and the spectrophotometric white method. *J. Food Sci.* 77, C784-790. 10.1111/j.1750-3841.2012.02782.x
 32. VON DER OHE, W., L. PERSANO ODDO, L. PIANA and M. MARLOT (2004): Harmonized methods of melissopolynology. *Apidologie* 35, 518-525. 10.1051/apido:2004050
 33. ZAVRTNIK, S., J. LOBOREC, I. GRČIĆ and D. ŽUBČIĆ (2020): Honey bee (*Apis mellifera*) in biomonitoring of environmental pollution. *Vet. stn.* 51, 441-453. (In Croatian). 10.46419/vs.51.4.5

Quality control of honey from the Croatian market in the period 2019-2021

Damir PAVLIČEK, MChem., Sanja FURMEG, BSc. Sanit. Ing., Vesna JAKI TKALEC, DVM, PhD, Scientific Associate, Marija DENŽIĆ LUGOMER, Grad. Eng. Chem, PhD, Tiana NOVOSEL, MS, Applied Chem., Croatian Veterinary Institute, Veterinary Department Križevci, Križevci, Croatia

In this study, honey samples collected throughout Croatia in the period 2019-2021 were subjected to quality control to assess whether they meet the legally stipulated quality requirements. Analysis of all honey samples included physico-chemical parameters moisture, electrical conductivity, hydroxymethylfurfural, diastase activity, free acidity, reducing sugars, sucrose and melissopalynology analysis. The obtained results were compared with the criteria of honey composition in two pieces of legislation: Ordinance on honey and the Regulation on the quality of unifloral honey. Pollen analysis performed on 84 honey samples of different botanical origin (floral, acacia, chestnut, lime tree, sage, rapeseed, honeydew), and nine samples were found to be non-compliant with the data listed on the label. Among the physico-chemical parameters, hydroxymethylfurfural proved to be the most common cause of sample non-compliance, with excessive concentrations (>40 mg/kg) in 13 samples. Although this

indicates excessive heating and improper storage of honey, several samples had hydroxymethylfurfural concentrations in excess of 100 mg/kg, which may indicate honey adulteration. In two honeys, the obtained diastase activity was 6, which is below the prescribed value (of 8). Excessive sucrose content was recorded in one flower honey (6.99 g/100 g) and one rapeseed honey (7.57 g/100 g), while in two samples of chestnut honey and one sage honey electrical conductivity was the reason for non-compliance. All samples met the criteria for moisture content, reducing sugars and free acidity. Most of the collected samples were floral (30) and acacia honeys (30), and accordingly, most non-compliant samples belonged to these two plant species, eight and nine samples respectively. In total, there were 29 non-compliant results which resulted in 22 honey samples (26% of the total) failing to meet the Regulation criteria.

Key words: *honey quality; Croatia; physico-chemical parameters; melissopalynology analysis*