

MINISTARSTVO POLJOPRIVREDE I ŠUMARSTVA

280

Na temelju članka 38. stavka 4. Zakona o stočarstvu (»Narodne novine« br. 70/97. i 36/98.) ministar poljoprivrede i šumarstva, uz suglasnost ravnatelja Državnog zavoda za normizaciju i mjeriteljstvo, donosi

PRAVILNIK

O KAKVOĆI MEDA I DRUGIH PČELINJIH PROIZVODA

I. OPĆE ODREDBE

Članak 1.

Ovim se Pravilnikom propisuju temeljni zahtjevi za kakvoću meda, matične mliječi, peluda, propolisa, pčelinjeg voska i pčelinjeg otrova (u daljnjem tekstu: med i drugi pčelinji proizvodi) te proizvoda na osnovi meda i drugih pčelinjih proizvoda, uvjeti za očuvanje njihove kakvoće, uvjeti stavljanja na tržište, sadržaj deklaracije i evidencije o proizvodu, postupci uzimanja uzoraka i metode ispitivanja udovoljavanja temeljnim zahtjevima kakvoće.

Članak 2.

Med i drugi pčelinji proizvodi i proizvodi na osnovi meda i drugih pčelinjih proizvoda prigodom stavljanja na tržište moraju udovoljavati uvjetima kakvoće propisanim ovim Pravilnikom.

Odredbe ovog Pravilnika odnose se i na med i druge pčelinje proizvode i proizvode na osnovi meda i drugih pčelinjih proizvoda iz uvoza.

Članak 3.

Kakvoća u smislu ovog Pravilnika jest skupno svojstvo proizvoda uvjetovano osnovnim sastavom, pridodanim tvarima, tehnološkim postupcima, pakiranjem meda i drugih pčelinjih proizvoda, proizvoda na osnovi meda i drugih pčelinjih proizvoda, njihova čuvanja i skladištenja.

II. MED I DRUGI PČELINJI PROIZVODI

MED

Članak 4.

Med jest sladak, gust, viskozni, tekući ili kristaliziran proizvod što ga medonosne pčele proizvode od nektara cvjetova medonosnih biljaka ili od medne rose, koje pčele skupljaju, dodaju mu vlastite specifične tvari i odlažu u stanice saća da sazrije.

Med sadrži šećere, prije svega glukozu i fruktozu, te saharozu, maltozu i druge polisaharide (uključujući i dekstrine), zatim bjelančevine, aminokiseline, enzime, organske kiseline, pelud, mineralne i druge tvari.

Boja meda može varirati od vrlo svijetlih do tamnijih nijansi.

Med može biti tekuće ili kremaste konzistencije, djelomice ili potpuno kristaliziran.

Članak 5.

Prema podrijetlu medonosnih biljaka ili medne rose med se razvrstava na:

1. nektarni med,

2. medljikovac.

Nektarni med jest proizvod što ga pčele proizvode od nektara medonosnih biljaka različitih vrsta (lipa, bagrem, kadulja, livadno bilje i dr.), a može biti monoflorni i poliflorni.

Medljikovac jest med što ga pčele proizvode od medne rose (crnogorice ili bjelogorice). Medljikovac se od cvjetnog meda razlučuje metodom električne vodljivosti, koja mora biti veća od 1,00 mS/cm (mili Simensa po centimetru).

Članak 6.

Monoflorni med jest med koji u netopivom sedimentu sadrži najmanje 45 % peludnih zrnaca iste biljne vrste.

Iznimno od odredbe stavka 1. ovoga članka, med se razvrstava u skupinu monoflorni ako udio peludnih zrnaca u netopivom sedimentu iznosi najmanje za:

- pitomi kesten (*Castanea sativa*) 85%;
- lucernu (*Medicago sp.*) 30%;
- ružmarin (*Rosmarinus officinalis*) 30%;
- lipu (*Tilia sp.*) 25%;
- kadulju (*Salvia sp.*) 20%;
- bagrem (*Robinia pseudacacia*) 20%;
- lavandu (*Lavandula sp.*) 20%.

Poliflorni med jest mješavina meda različitih vrsta.

Miješani med jest mješavina nektarnog meda i medljikovca.

Članak 7.

Med koji se stavlja na tržište mora udovoljavati ovim uvjetima:

1. da sadrži najmanje 65% reducirajućih šećera računatih kao invertni šećer, a medljikovac, najmanje 60% reducirajućih šećera;
2. da ne sadrži više od 5 % saharoze, osim za med od vrijeska (*Satureia sp.*), kadulje (*Salvia sp.*), ružmarina (*Rosmarinus officinalis*) i drače (*Paliurus spina-christi*), u kojih je dopušteno do 8% saharoze, a za med od bagrema (*Robinia pseudacacia*), lavande (*Lavandula sp.*) i medljikovca do 10% saharoze;
3. da ne sadrži više od 20% vode;
4. da ne sadrži više od 0,6% mineralnih tvari, osim medljikovca, koji smije sadržavati do 1,2% mineralnih tvari;
5. da mu ukupna kiselost nije veća od 40 mmol kiseline na 1000 gr. te da mu ona nije umjetno smanjena;
6. da ne sadrži više od 0,1% tvari netopljivih u vodi;
7. da mu aktivnost očitane dijastaze nakon miješanja nije niža od 8,0, a ako je niža od 8,0, hidrosimetilfurfurol (HMF) ne smije biti veći od 15 mg/kg;
8. da udio hidrosimetilfurfurola (HMF) nije veći od 40 mg/kg;
9. da pri dekrizalizaciji med nije zagrijavan na temperaturu višu od 40°C;

10. da je svojstvenog okusa i mirisa bez stranih primjesa;
11. da u njemu nije počeo proces vrenja, da nije u stanju vrenja i da nije provrio;
12. da mu nisu dodavani šećer (saharoza) ni drugi proizvodi koji su konzistencijom i sastavom slični medu;
13. da nije dobiven hranjenjem pčela šećerom i šećernim proizvodima, i da nije pomiješan s medom dobivenim na taj način;
14. da nije onečišćen stranim organskim i mineralnim tvarima, kukcima i njihovim dijelovima, leglom, izmetom, plijesni i dr.;
15. da nije obojen nikakvim bojama;
16. da mu nisu dodavana sredstva za konzerviranje i aromatiziranje.

Nije dozvoljeno miješanje domaćeg i uvoznog meda namijenjenog tržištu.

Članak 8.

Med se čuva u zatvorenim posudama i suhim, tamnim, provjetrenim prostorijama, na sobnoj temperaturi.

MATIČNA MLIJEČ

Članak 9.

Matična mliječ jest proizvod mliječne žlijezde mladih pčela radilica, mliječne boje, guste konzistencije, karakteristična okusa i mirisa.

Matična mliječ mora biti izvađena od 48 do 50 sati nakon presađivanja ličinaka, a ne smije potjecati iz zatvorenih matičnjaka ni iz legla trutova.

Članak 10.

Matična mliječ stavlja se na tržište u izvornom obliku ili liofilizirana.

Matična mliječ koja se stavlja na tržište u izvornom obliku mora udovoljavati ovim uvjetima:

1. da sadrži najmanje 30% suhe tvari,
2. da sadrži najmanje 11% bjelančevina.

Članak 11.

Matična mliječ mora se čuvati u hermetički zatvorenim tamnim posudama, na temperaturi od -18 °C.

Rok trajanja matične mliječi u izvornom obliku jest jedna godina, a u liofiliziranom obliku dvije godine.

PELUD

Članak 12.

Pelud jest proizvod što ga pčele radilice skupljaju na cvjetovima i oblikuju u grudice.

Prema načinu dobivanja pelud se dijeli na pelud skupljen skidačem (skidani pelud) i pelud dobiven vađenjem iz stanica saća (vađeni pelud).

Članak 13.

Pelud se stavlja na tržište osušen u obliku grudica ili mljeven, odnosno pothlađen.

Pelud koji se stavlja na tržište mora udovoljavati ovim uvjetima:

1. da osušen sadrži najmanje 92 %, a pothlađen 60 % suhe tvari,
2. mora biti karakterističnog okusa,
3. ne smije biti sušen na temperaturi višoj od 40°C,
4. ne smije sadržavati kukce i njihove dijelove, leglo, izmet i skladišne štetnike,
5. ne smije biti užegao.

Članak 14.

Svježi pelud mora se čuvati pothlađen na 18°C, umiješan u med ili steriliziran sušenjem u tamnoj hermetički zatvorenoj ambalaži.

Rok trajanja svježeg peluda jest jedna godina, a umiješanog u med dvije godine.

PROPOLIS

Članak 15.

Propolis jest pčelinji proizvod koji sadrži smolaste tvari koje pčele skupljaju s pupoljaka drvenastih biljaka.

Članak 16.

Propolis koji se stavlja na tržište mora udovoljavati ovim uvjetima:

1. mora sadržavati najmanje 35% tvari koje se ekstrahiraju alkoholom,
2. ne smije sadržavati katran ni spojeve slične katranu odnosno katranske smole,
3. ne smije sadržavati više od 5% mehaničkih nečistoća ni dijelova pčela,
4. ne smije sadržavati više od 30% voska.

PČELINJI VOSAK

Članak 17.

Pčelinji vosak jest proizvod voštanih žlijezda pčela radilica, koji one koriste za izgradnju saća.

Pčelinji vosak jest kompleksna smjesa lipida i ugljikovodika.

Pčelinji vosak dobiva se pretapanjem saća i voštanih poklopaca.

Članak 18.

Pčelinji vosak stavlja se na tržište kao:

- nepročišćeni pčelinji vosak,
- pročišćeni pčelinji vosak (Cera flava),
- pročišćeni bijeli pčelinji vosak (Cera alba),
- satne osnove.

PČELINJI OTROV

Članak 19.

Pčelinji otrov jest proizvod otrovne žlijezde pčela radilica.

Članak 20.

Pčelinji otrov stavlja se na tržište sušen u obliku bijelog kristaličnog praha.

Članak 21.

Rok trajanja pčelinjeg otrova je jedna godina.

III. PROIZVODI NA OSNOVI MEDA I DRUGIH PČELINJIH PROIZVODA

Članak 22.

Proizvodi na osnovi meda i drugih pčelinjih proizvoda jesu mješavine meda s drugim pčelinjim proizvodima ili međusobne mješavine drugih pčelinjih proizvoda u koje se može dodati ljekovito bilje i/ili njihovi ekstrakti (valerijana, sljez, timijan, anis, breza i sl.).

Medu i drugim pčelinjim proizvodima može se dodavati ljekovito bilje i/ili njihovi ekstrakti.

Proizvodi iz stavka 1. i 2. ovoga članka mogu biti u obliku: kapi, tableta, kapsula, masti i sirupa.

Dodavanje drugih pčelinjih proizvoda medu ne drži se obogaćivanjem sastava meda.

Članak 23.

Med s dodacima jest mješavina meda s prehrambenim proizvodima (voće, proizvodi od voća i povrća, proizvodi od mlijeka, kaka, margarina i sl.) u koju se može dodavati ljekovito bilje i / ili ekstrakti ljekovitog bilja.

Med s dodacima mora sadržavati najmanje 60 % meda u gotovom proizvodu.

Članak 24.

Proizvodi iz članka 22. i 23. ovoga Pravilnika moraju udovoljavati temeljnim zahtjevima kakvoće koji su propisani ovim Pravilnikom i koji se koriste za njihovu proizvodnju.

IV. PAKIRANJE

Članak 25.

Med i drugi pčelinji proizvodi i proizvodi na osnovi meda i drugih pčelinjih proizvoda stave se na tržište kao pakovina s označenom nazivnom količinom punjenja sukladno posebnom propisu o mjeriteljskim zahtjevima za pakovine.

Ambalaža u koju se pakira med i drugi pčelinji proizvodi i proizvodi na osnovi meda i drugih pčelinjih proizvoda mora udovoljavati posebnom propisu o uvjetima u pogledu zdravstvene ispravnosti predmeta opće uporabe koji se mogu stavljati u promet.

Članak 26.

Medu i drugom pčelinjem proizvodu i proizvodu na osnovi meda i drugih pčelinjih proizvoda ne smiju se dodavati sredstva kao što su bojila, zaslađivači, arome, konzervansi i ne smiju se zračiti ionizirajućim ili ultravioletnim zrakama.

V. DEKLARACIJA I EVIDENCIJA O PROIZVODU

Članak 27.

Med i drugi pčelinji proizvodi i proizvodi na osnovi meda i drugih pčelinjih proizvoda koji se stavljaju na tržište kao pakovine moraju na ambalaži, omotu, naljepnici ili privjesnici imati deklaraciju s ovim podacima:

1. naziv proizvoda i njegovo ime namijenjeno tržištu, ako ga proizvod ima,
2. naziv tvrtke, odnosno ime i prezime i adresa proizvođača ili onoga koji je proizvod pakirao, ako ga nije pakirao proizvođač, i veterinarski kontrolni broj odobrenog objekta,
3. datum proizvodnje, odnosno pakiranja za proizvode koji imaju ograničen rok trajanja,
4. rok trajanja ili tekst »upotrebljivo do«,
5. netokoličinu (masu ili obujam) proizvoda,
6. za med - naziv medljikovac, ako je nektarni med naziv biljne vrste za monoflorni, odnosno naziv cvjetni za poliflorni med, te miješani med za mješavinu nektarnog meda i medljikovca,
7. za druge pčelinje proizvode i proizvode na osnovi meda i drugih pčelinjih proizvoda osnovne sastojke proizvoda i njihove količine izražene u mjernim jedinicama ili postocima prema opadajućim vrijednostima,
8. druge podatke važne za potrošača u skladu s posebnim propisima.

Tekst na deklaraciji mora udovoljavati posebnom propisu o mjeriteljskim zahtjevima za pakovine.

Članak 28.

Na deklaraciji uvoznog meda koji je namijenjen obradi uz podatke iz članka 27. ovoga Pravilnika mora biti podatak o zemlji podrijetla i podatak o nazivu i adresi uvoznika.

Članak 29.

Na deklaraciji uvoznog meda i drugih pčelinjih proizvoda i proizvoda na osnovi meda i drugih pčelinjih proizvoda, uz podatke iz članka 27. ovoga Pravilnika mora biti i tekst »uvozni« med, drugi pčelinji proizvod ili proizvod na osnovi meda i drugog pčelinjeg proizvoda, podaci o zemlji podrijetla te nazivu i adresi uvoznika ako se uvozi kao gotov proizvod.

Članak 30.

Med koji ne udovoljava uvjetima propisanim u članku 7. ovoga Pravilnika može se koristiti kao sirovina u proizvodnji drugih proizvoda i mora se deklarirati kao »med nije za potrošnju«.

Članak 31.

Za med i druge pčelinje proizvode i proizvode na osnovi meda i drugih pčelinjih proizvoda koji ne udovoljavaju temeljnim zahtjevima kakvoće što ih propisuje ovaj Pravilnik, ne može se upotrebljavati naziv med, drugi pčelinji proizvod, proizvod na osnovi meda i drugih pčelinjih proizvoda, ni sličan naziv koji navodi na to da se proizvod drži medom odnosno nekim drugim pčelinjim proizvodom.

Članak 32.

Proizvođač je dužan za med i drugi pčelinji proizvod i proizvod na osnovi meda i drugog pčelinjeg proizvoda imati evidenciju o proizvodu.

Evidencija o proizvodu sadrži kratak opis tehnološkog postupka proizvodnje određenog proizvoda te izvješće o obavljenoj laboratorijskoj analizi proizvoda i njegovim senzorskim svojstvima.

Evidencija o proizvodu mora sadržavati i sljedeće podatke:

1. naziv proizvoda i njegovo ime namijenjeno tržištu, ako ga proizvod ima,

2. datum početka proizvodnje,
3. skupinu kojoj proizvod pripada prema odredbama ovog Pravilnika.

VI. ISPITIVANJE

Članak 33.

Ispitivanje udovoljavanja temeljnim zahtjevima kakvoće meda i drugih pčelinjih proizvoda i proizvoda na osnovi meda i drugih pčelinjih proizvoda obavlja ovlaštenu laboratorij (u daljnjem tekstu: laboratorij) registriran za obavljanje te djelatnosti ili je u sastavu pravne osobe registrirane za obavljanje te djelatnosti, a ispunjava i ostale uvjete propisane ovim Pravilnikom.

Članak 34.

Laboratorij mora imati posebne radne prostorije za:

1. preuzimanje i pohranjivanje uzoraka,
2. smještaj uređaja i instrumenata za ispitivanje,
3. smještaj kemikalija, laboratorijskog suđa i opreme,
4. pranje i sušenje laboratorijskog suđa i opreme,
5. obradu rezultata i pripremu izvješća.

Članak 35.

Laboratorij mora raspolagati uređajima, instrumentima i drugom opremom za ispitivanje koja je u suglasju s odnosnim stanjem znanosti i tehnike.

Članak 36.

Laboratorij mora imati pisane upute za provođenje metoda ispitivanja te za uporabu i rad svih uređaja i instrumenata koji se koriste za pripremu uzoraka i ispitivanje.

Članak 37.

Laboratorij mora imati u radnom odnosu stručno osposobljene zaposlenike, i to:

- a) najmanje jednog zaposlenika sa završenim dodiplomskim studijem kemijskog, prehrambenog, poljoprivrednog, veterinarskog ili farmaceutskog područja i dvije godine radnog iskustva;
- b) zaposlenike četvrtog (IV) stupnja obrazovanja: kemijski, prehrambeni, poljoprivredni, veterinarski ili farmaceutski tehničari, osposobljeni za rad na odgovarajućim poslovima - broj zaposlenika primjeren opsegu rada laboratorija;
- c) PKV/NKV - pomoćno osoblje prema opsegu rada laboratorija.

Nalaze ispitivanja potpisuje ovlaštena osoba - voditelj laboratorija.

Članak 38.

Laboratorij podnosi Ministarstvu poljoprivrede i šumarstva (u daljnjem tekstu: Ministarstvo) zahtjev za dobivanje ovlaštenja, uz koji prilaže:

1. izvadak iz registra Trgovačkog suda,
2. dokaz o prostornim uvjetima smještaja,

3. popis uređaja, instrumenata i tehničke opreme,
4. dokaz o stručnoj osposobljenosti i broju zaposlenika.

Članak 39.

Ispunjavanje propisanih uvjeta za dobivanje ovlaštenja utvrđuje stručno povjerenstvo koje imenuje ministar poljoprivrede i šumarstva (u daljnjem tekstu: ministar).

Stručno povjerenstvo sastoji se od tri člana.

Stručno povjerenstvo obavlja očevid, nakon čega sastavlja zapisnik s prijedlogom za dobivanje ovlaštenja.

Na temelju zapisnika i prijedloga stručnog povjerenstva, uz suglasnost Državnog zavoda za normizaciju i mjeriteljstvo, Ministarstvo izdaje rješenje o ovlasti.

Popis ovlaštenih laboratorija objavljuje se u »Narodnim novinama«.

Članak 40.

Ako laboratorij ne ispunjava uvjete propisane ovim Pravilnikom, Ministarstvo će rješenjem oduzeti ovlaštenje i brisati ga s popisa ovlaštenih laboratorija.

VII. ZAVRŠNE ODREDBE

Članak 41.

Laboratorij mora do 31. prosinca 2002. godine udovoljiti uvjetima koje propisuje hrvatska norma HRN EN 45 001: 1996.

Članak 42.

Postupci uzimanja uzoraka meda i drugih pčelinjih proizvoda i proizvoda na osnovi meda i drugih pčelinjih proizvoda te metode fizikalnih i kemijskih analiza za ispitivanje udovoljavanja temeljnim zahtjevima kakvoće obavljaju se na temelju detaljnih opisa danih u prilogu ovog Pravilnika i čine njegov sastavni dio.

Članak 43.

Danom početka primjene ovog Pravilnika prestaje važiti Pravilnik o kvaliteti meda i drugih pčelinjih proizvoda te o metodama kontrole kvalitete meda i drugih pčelinjih proizvoda (»Narodne novine«, broj 53/91.).

Članak 44.

Ovaj Pravilnik stupa na snagu osmog dana od dana objave u »Narodnim novinama«, a primjenjuje se od 1. svibnja 2000. godine.

Klasa: 011-02/00-01/7
Urbroj: 525-01-00-01
Zagreb, 2. veljače 2000.

Ministar
mr. sc. Božidar Pankrećić, v. r.

POSTUPCI UZIMANJA UZORAKA MEDA I DRUGIH PČELINJIH PROIZVODA

Postupcima uzimanja uzoraka meda i drugih pčelinjih proizvoda utvrđuju se uvjeti i načini uzimanja uzoraka na kojima se obavlja ispitivanje udovoljavanja temeljnim zahtjevima kakvoće.

Uzorci meda i drugih pčelinjih proizvoda uzimaju se:

1. u proizvodnji - iz proizvodnih partija,
2. u trgovini - iz ambalažnih jedinica pošiljke,
3. u inspekcijskom nadzoru.

Proizvodna je partija odgovarajuća količina proizvoda iste vrste proizvedena istog dana, odgovarajućeg obujma, s obvezatnom oznakom za identifikaciju.

Ambalažne jedinice meda i drugih pčelinjih proizvoda jesu utvrđene količine proizvoda iste vrste pakirane u pojedinačna pakiranja odgovarajuće mase, s obvezatnom oznakom za identifikaciju. Ambalažne jedinice mogu biti pakirane u zajednička transportna pakiranja, na koja se primjenjuju odredbe ovog Pravilnika.

Pošiljka jest istovremeno isporučena količina proizvoda iste vrste u pojedinačnim i zajedničkim pakiranjima što se stavljaju u promet.

Uzorak za ispitivanje mora po sastavu biti prosječan u odnosu prema cjelokupnoj količini proizvoda od kojeg se uzima.

Uzorak za ispitivanje iz kante ili bačve uzima se sondom po cijeloj dubini posude.

Uzorak za ispitivanje proizvoda čine najmanje tri istovjetne po sastavu i obujmu jednake ambalažne jedinice od ukupno uzetog uzorka. Uzorke proizvoda mora uzimati stručna odnosno ovlaštena osoba, koja o tome obvezatno sastavlja zapisnik, u koji unosi podatke važne za rezultat ispitivanja: mjesto, datum i vrijeme uzimanja uzorka, svrhu uzimanja uzorka, vrstu i količinu proizvoda od kojega se uzorak uzima, broj pojedinačno uzetih uzoraka i količinu ukupno uzetog uzorka, oznake za identifikaciju uzorka i količinu uzorka što se stavlja na ispitivanje.

Zapisnik potpisuje stručna odnosno ovlaštena osoba koja uzima uzorak i predstavnik tvrtke.

Uzorak se pakira u staklene ili plastične posude koje se zatvaraju čistim i suhim zatvaračima i označavaju tako da se oznaka ne može lako skinuti ni izbrisati, a zatim se u njih utiskuje službeni pečat ili se na njih stavlja plomba.

Uzorci se čuvaju uz uvjete propisane ovim Pravilnikom za odgovarajuće proizvode.

Ako su proizvodi pakirani u originalne ambalažne jedinice manjeg obujma ili mase, uzorak može biti svaka slučajno uzeta pojedina jedinica.

Broj jedinica uzoraka za ispitivanje ovisi o vrsti proizvoda i veličini proizvodne partije odnosno pošiljke.

Broj jedinica uzoraka utvrđuje se na temelju ove tablice:

Vrsta pakiranja	Količina od koje se uzorak uzima	Broj ambalažnih jedinica koje se uzimaju kao uzorak	Masa ukupno uzetog uzorka (u g)
Kante ili bačve	1 jedinica	1	500
	d 2 do 5 jedinica	2	500
	> 5 do 60 jedinica	3	1.000
	> 60 do 80 jedinica	4	1.000
	> 80 do 100 jedinica	5	1.000
Za svaku daljnju stotinu ili započetu stotinu kanti odnosno bačvi broj kanti odnosno bačvi za uzimanje uzoraka povećava se za 1.			
Staklenke (do 1 kg)	od 1 do 100 jedinica	1	500
	> 100 do 500 jedinica	2	500
	> 500 do 1.000 jedinica	3	500
	> 1.000 do 10.000 jedinica	4	500
Ako je pošiljka veća od 10.000 staklenki, na svakih daljnjih 2.500 staklenki uzima se još po jedan uzorak.			
Ostale vrste	do 5.000 jedinica	1	–

pakiranja (do 250 g)	za svakih daljnjih 2.000 jedinica	1	–
-------------------------	--------------------------------------	---	---

Ako svaki uzeti uzorak meda sadrži više od tri ambalažne jedinice, od njih se formira jedan uzorak, pri čemu za svaku ambalažnu jedinicu uzorka mora postojati jednaka mogućnost da bude izdvojena kao ambalažna jedinica uzorka za ispitivanje.

Za uzimanje uzorka meda upotrebljava se metalna sonda s odjeljcima (slika br. 1.). Metalna se sonda sastoji od dvije koncentrične cijevi koje ulaze jedna u drugu. Donji dio sonde je zašiljen. Unutarnja cijev sonde ima ručicu kojom se, ako je okrenemo za 90°, sonda može zatvoriti.

Uzorak meda uzima se tako što se zatvorena čista i osušena sonda uroni u med do kraja zajedničkog otvora. U medu se ona otvori pa zatvori. Tada se, s uzetim uzorkom, izvlači iz proizvoda.

METODE FIZIKALNIH I KEMIJSKIH ANALIZA ZA ISPITIVANJE UDOVOLJAVANJA TEMELJNIM ZAHTEJVIMA KAKVOĆE MEDA I DRUGIH PČELINJIH PROIZVODA

Fizikalne i kemijske analize kojima se ispituje udovoljavanje temeljnim zahtjevima kakvoće meda i drugih pčelinjih proizvoda obuhvaćaju metode:

1. priprema uzorka za analizu,
2. određivanje reduciranih šećera,
3. određivanje saharoze,
4. određivanje vode u medu,
5. određivanje tvari netopljivih u vodi (gravimetrijska metoda),
6. određivanje pepela,
7. određivanje kiselosti,
8. određivanje aktivnosti dijastaze,
9. određivanje hidrosimetilfurfurola (fotometrijska metoda po Winkleru),
10. analize cvjetnog praha za med,
11. određivanje vode u matičnoj mliječi i cvjetnom prahu,
12. određivanje bjelančevina u matičnoj mliječi,
13. određivanje ekstrakta propolisa u alkoholnoj otopini.

1. PRIPREMA UZORAKA ZA ANALIZU

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

Ako je med u tekućem stanju, prije početka analize polako se izmiješa štapićem ili se protrese.

Ako je med granuliran, zatvorena posuda s uzorkom stavi se u vodenu kupelj i zagrijava 30 minuta na temperaturi od 60°C, a prema potrebi i na temperaturi od 65°C. U toku zagrijavanja može se promiješati štapićem ili kružno protresti, a zatim brzo prohladiti.

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

Ako med sadržava strane tvari, kao što su vosak, dijelovi pčela ili dijelovi saća, uzorak se zagrijava u vodenoj kupelji na temperaturi od 40°C, a zatim procijedi kroz tkaninu, koja se stavlja na ljepilo zagrijavano toplom vodom.

Ako je med u saću, saće se otvori, procijedi kroz žičano sito s kvadratnim otvorima promjera 0,5 mm x 0,5 mm. Ako dio saća i voska prođe kroz sito, uzorak se zagrijava u vodenoj kupelji na temperaturi od 60°C, a prema potrebi zagrijava se 30 minuta i na temperaturi od 65°C. Za vrijeme zagrijavanja promiješa se štapićem ili protrese kružnim pokretima, a zatim brzo prohladi.

Ako je med u saću granuliran, zagrijava se da bi se vosak otopio, promiješa se i ohladi. Nakon hlađenja vosak se odstrani.

2. ODREĐIVANJE REDUCIRANIH ŠEĆERA

Načelo

Metoda se temelji na redukciji Fehlingove otopine titracijom s pomoću otopine reduciranih šećera iz meda, a uz upotrebu metilenskog modrog bojila kao indikatora.

Reagensi

1) Fehlingova otopina

Otopina A: Otopi se 69,28 g bakrenog sulfata ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) i tome se doda destilirana voda do jedne litre. Otopina se pripremi 24 sata prije titracije.

Otopina B: Otopi se 346 g kalijnatrjjeva tartarata ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \times 4\text{H}_2\text{O}$) i 100 g natrijeva hidroksida (NaOH) u litri destilirane vode. Otopina se zatim filtrira.

2) Standardna otopina invertnog šećera (10 g/l vode): Izvaži se 9,5 g čiste saharoze, doda 5 ml otopine solne kiseline (oko 36,5 %) i destilirane vode do 100 ml. Otopina se može pohraniti nekoliko dana, ovisno o temperaturi: na temperaturi od 12°C do 15°C do sedam dana, a na temperaturi od 20°C do 25°C tri dana. Pripremljenoj otopini doda se vode do jedne litre. Neposredno prije upotrebe odgovarajuća se količina otopine neutralizira 1 mol otopinom NaOH/l, a zatim se razrijedi do zahtijevane potrebne koncentracije (2 g/l) - standardna otopina.

Napomena: 1%-tna zakiseljena otopina invertnog šećera stabilna je nekoliko mjeseci.

3) Otopina metilenskog modrog bojila: otopi se 2 g metilenskog modrog bojila u destiliranoj vodi, a zatim se razrijedi vodom do jedne litre.

4) Stipsa (alaun)

Otopina stipse: Pripremi se hladno zasićena otopina [$\text{K}_2\text{SO}_4\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \times 24\text{H}_2\text{O}$] u vodi. Zatim se uz stalno miješanje štapićem dodaje amonijev hidroksid dok otopina ne postane alkalna, što se utvrđuje lakmusom. Pusti se da se otopina slegne, provodi se ispiranje vodom, uz dekantiranje sve dok je voda slabo pozitivna pri testu na sulfat, što se utvrđuje otopinom barijeva klorida. Višak se vode odlije, a preostala pasta pohrani u boci s brušenim zatvaračem.

Priprema uzorka

Postupak I. - primjenljiv na med s talogom:

a) Izvaži se 25 g (W_1) homogeniziranoga meda i prenese u odmjerenu tikvicu obujma 100 ml, doda se 5 ml stipse i tikvica se dopuni vodom do oznake, pri temperaturi od 20°C, pa se otopina filtrira.

b) U odmjerenu tikvicu obujma 500 ml otpipetira se 10 ml uzorka pod a) i to se razrijedi destiliranom vodom do oznake na tikvici (razrijeđena otopina meda).

Postupak II. :

a) Izvaži se 2 g homogeniziranoga meda (W_2), prenese u odmjerenu tikvicu obujma 200 ml i otopi u vodi, a tikvica se dopuni vodom do oznake (otopina meda).

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

Standardizacija Fehlingove otopine

Fehlingova se otopina standardizira tako što se otpipetira 5 ml Fehlingove otopine A i pomiješa sa 5 ml Fehlingove otopine B. Ta otopina mora potpuno reagirati s 0,050 g invertnog šećera dodanoga u količini od 25 ml kao standardna otopina invertnog šećera (2 g/l).

Prethodna titracija

Ukupni obujam tvari koja reagira na kraju redukcijske titracije mora biti 35 ml, a to se postiže dodavanjem određene količine vode prije početka titracije. S obzirom na to da se Pravilnikom za med propisuje više od 60% reduciranih šećera (računatih kao invertni šećer), potrebno je najprije obaviti titraciju, da bi se utvrdio točan obujam vode što se dodaje da bi se u postupku analize osigurala redukcija pri stalnom obujmu. Obujam potrebne količine vode dobiva se odbijanjem potrošenog obujma razrijeđene otopine meda u prethodnoj titraciji ("X ml") od 25 ml (25 ml - "X ml").

Pipetom se odmjeri 5 ml Fehlingove otopine A i prenese u stožastu Erlenmeyerovu tikvicu obujma 250 ml, doda se 5 ml Fehlingove otopine B, 7 ml destilirane vode, malo plovućca ili drugoga sličnog sredstva i 15 ml razrijeđene otopine meda iz birete. Medna se mješavina zagrijava do vrenja, pa dvije minute polako vrije, za koje se vrijeme doda 1 ml 0,2 %-tne otopine metilenskog modrog bojila. Titracija se završi ukupno za tri minute, ponovnim dodavanjem razrijeđene otopine meda sve dok ne iščezne boja indikatora. Potrošeni obujam razrijeđene otopine meda koji je potpuno reduciran obilježava se s "X ml".

Određivanje

Pipetom se odmjeri 5 ml Fehlingove otopine A i prenese u stožastu Erlenmeyerovu tikvicu obujma 250 ml te se doda 5 ml Fehlingove otopine B. Zatim se doda (25 ml - "X ml") destilirane vode, malo kamena plovućca ili drugoga odgovarajućeg sredstva i iz birete razrijeđena otopina meda, tako da za kompletnu titraciju ostane oko 1,5 ml ("X ml" - 1,5 ml). Zatim se hladna mješavina zagrijava do vrenja i dvije minute održava umjereno vrenje. Za vrijeme vrenja doda se 1,0 ml 0,2 %-tne otopine metilenskoga modrog bojila. Titracija se, dodavanjem razrijeđene otopine meda do obezbojenja indikatora, mora završiti ukupno za tri minute. Potrošena količina razrijeđene otopine meda obilježava se s "Y ml".

Izračunavanje

Invertni se šećer izražava u g/100 g (%) i izračunava u ovisnosti o načinu pripreme uzoraka (postupak I. ili II.).

Ako se primijeni postupak I., upotrijebit će se formula:

$$\text{postotak invertnog šećera, } C = 25/W_1 \times 1000/Y_1$$

gdje je:

C - invertni šećer, u g

W_1 - masa uzetog uzorka, u g

Y_1 - obujam razrijeđene otopine meda potrošenoga za određivanje, u ml.

Ako se primijeni postupak II., upotrijebit će se formula:

$$\text{postotak invertnog šećera, } C = 2/W_2 \times 1000/Y_2$$

gdje je:

C - invertni šećer, u g

W_2 - masa uzetog uzorka, u g

Y_2 - obujam razrijeđene otopine meda, potrošenoga za određivanje, u ml.

Napomena: Radi preciznosti i ponovljivosti rezultata nužno je da se za svaki pokus odredi koliki obujam vode valja dodati da bi ukupan obujam iznosio 35 ml. U ovoj su tablici dane približne vrijednosti, uz pretpostavku da je početna masa uzorka iznosila 25 g odnosno 2 g.

Udio invertnog šećera, u %	Potrebna količina vode, u ml
60	8,3
65	9,6
70	10,7
75	11,6

Ponovljivost

Razlika između titracija u dva određivanja obavljena istovremeno ili ubrzo jedno za drugim ne smije iznositi više od 0,1 ml.

3. ODREĐIVANJE SAHAROZE

Načelo

Metoda se temelji na hidrolizi saharoze, redukciji Fehlingove otopine titracijom reduciranim šećerom iz hidrolizata meda uz metilensko modro bojilo.

Reagensi

- 1) Fehlingova otopina (A i B), utvrđena metodom određivanja reduciranih šećera,
- 2) standardna otopina invertnog šećera, utvrđena metodom određivanja reduciranih šećera,
- 3) solna kiselina C (HCl) = 6,34 mol/l,
- 4) otopina natrijeva hidroksida C (NaOH) = 5 mol/l,
- 5) 2 %-tna otopina metilenskoga modrog bojila (2 g/l).

Priprema uzorka

Postupak I.

Izvaže se 25 g (W_1) homogeniziranog meda i prenese u odmjernu tikvicu obujma 100 ml, doda se 5 ml stipse i tikvica dopuni vodom do oznake, pri temperaturi od 20°C, pa se otopina filtrira.

Odmjeri se 10 ml te otopine i doda destilirane vode do obujma 250 ml - otopina meda (za određivanje saharoze).

Postupak II.

Izvaže se 2 g (W_2) homogeniziranog meda, prenese u odmjernu tikvicu i otopi u destiliranoj vodi pa se tikvica dopuni vodom do obujma 200 ml (otopina meda).

Hidroliza uzorka

Otopina meda (50 ml) prenese se u odmjernu tikvicu obujma 100 ml i doda se 25 ml destilirane vode. Toplomjer se zaroni u pripremljeni uzorak, koji se zagrijava do temperature od 65°C u kipućoj vodenoj kupelji. Tikvica se zatim iznese iz kupelji i doda se 10 ml solne kiseline [C(HCl) = 6 mol/l]. Pusti se da se otopina hladi 15 minuta, zatim se temperatura ugodi na 20°C i otopina neutralizira 5 mol otopinom NaOH/l, uz upotrebu lakmusova papira kao

indikatora. Ponovno se ohladi (20°C) te se tikvica dopuni vodom do obujma 100 ml (razrijeđena otopina meda).

Određivanje

Određivanje je istovjetno s određivanjem reduciranih šećera, a odnosi se na prethodnu titraciju i postupak određivanja količine invertnog šećera prije inverzije.

Izračunavanje

Prvo se obračunava postotak invertnog šećera nakon inverzije, pri čemu se primjenjuje formula za određivanje postotka invertnog šećera prije inverzije.

Saharoza se iskazuje u g/100 g meda i izračunava prema formuli:

masa saharoze, g/100 g = (količina invertnog šećera nakon inverzije - količina invertnog šećera prije inverzije) x 0,95.

4. ODREĐIVANJE VODE U MEDU

Načelo

Metoda se temelji na refraktometrijskom određivanju.

Aparatura i pribor

Uz uobičajenu laboratorijsku opremu potreban je i refraktometar.

Priprema uzorka

Uzorak se priprema na način utvrđen za metodu pripreme uzoraka za analizu, a zatim se indeks refrakcije uzorka odredi refraktometrom, pri stalnoj temperaturi od 20°C. Na temelju indeksa refrakcije izračuna se količina vode (% m/m), s pomoću priložene tablice. Ako se indeks ne odredi na temperaturi od 20°C, uzme se u obzir korekcija temperature i rezultati se svedu na temperaturu od 20°C.

Tablica za proračun udjela vode u medu:

Indeks refrakcije (20°C)	Udio voderefrakcije (%) (20°C)	Indeks voderefrakcije (20°C)	Udio voderefrakcije (%) (20°C)	Indeks (%)	Udio (%)
1,5044	13,0	1,4935	17,2	1,4830	21,4
1,5038	13,2	1,4930	17,4	1,4825	21,6
1,5033	13,4	1,4925	17,6	1,4820	21,8
1,5028	13,6	1,4920	17,8	1,4815	22,0
1,5023	13,8	1,4915	18,0	1,4810	22,2
1,5018	14,0	1,4910	18,2	1,4805	22,4
1,5012	14,2	1,4905	18,4	1,4800	22,6
1,5007	14,4	1,4900	18,6	1,4795	22,8
1,5002	14,6	1,4895	18,8	1,4790	23,0
1,4997	14,8	1,4890	19,0	1,4785	23,2
1,4992	15,0	1,4885	19,2	1,4780	23,4
1,4987	15,2	1,4880	19,4	1,4775	23,6
1,4982	15,4	1,4875	19,6	1,4770	23,8
1,4976	15,6	1,4870	19,8	1,4765	24,0
1,4971	15,8	1,4865	20,0	1,4760	24,2
1,4966	16,0	1,4860	20,2	1,4755	24,4
1,4961	16,2	1,4855	20,4	1,4750	24,6
1,4956	16,4	1,4850	20,6	1,4745	24,8
1,4951	16,6	1,4845	20,8	1,4740	25,0
1,4946	16,8	1,4840	21,0		
1,4940	17,0	1,4835	21,2		

Napomena: Korekcija temperature – indeks refrakcije:
 – temperatura viša od 20° – dodati 0,00023 za svaki °C,
 – temperatura do 20° – oduzeti 0,00023 za svaki °C.

5. ODREĐIVANJE TVARI NETOPLJIVIH U VODI

(GRAVIMETRIJSKA METODA)

Priprema uzorka

Izvaže se 20 g uzorka s točnošću ± 10 mg, otopi se u određenoj količini destilirane vode na temperaturi od 80°C i dobro izmiješa.

Određivanje

Pripremljeni se uzorak najprije filtrira kroz osušeni i izvagani sinterirani lijevak, veličine pora od 15mm do 40mm. Talog se ispere vrućom vodom (80°C), pri čemu se oslobodi šećer, što se utvrđuje testom po Mohru.

Lijevak se suši jedan sat na temperaturi od 135°C, ohladi i važe s točnošću 0,1 mg.

Izračunavanje

Količina tvari netopljivih u vodi iskazuje se u postocima (m/m) i izračunava prema formuli

postotak tvari netopljivih u vodi = $100 \times \text{količina ostatka} / \text{izvagani uzorak}$

6. ODREĐIVANJE PEPELA

Načelo

Metoda se temelji na postupku izgaranja uzorka na 600°C do stalne mase.

Aparatura i pribor

Osim uobičajene laboratorijske opreme upotrebljava se:

- 1) platinska posuda ili posuda od silicija,
- 2) vodena kupelj,
- 3) pješčana kupelj,
- 4) peć za žarenje.

Određivanje

U izarenu odmjernu platinsku posudu izvaže se od 5 g do 10 g uzorka i to se zagrijava u vodenoj kupelji dok veći dio vode ne ispari. Zatim se uzorak stavi na pješčanu kupelj do pougljenja. Ostatak se potom žari u peći za žarenje na temperaturi od 600°C do stalne mase. Prije vaganja uzorak se hladi.

Izračunavanje

Masa pepela iskazuje se u g/100 g proizvoda i izračunava prema formuli

masa pepela g/100 g = $\text{ostatak} \times 100 / \text{izvagani uzorak}$

7. ODREĐIVANJE AKTIVNOSTI DIJASTAZE

Načelo

Pripremljeni se uzorak titrira, uz fenoftalein, otopinom 0,1 mol/l natrijeva hidroksida do pojave svijetloružičaste boje.

Aparatura i pribor

Pri određivanju stupnja kiselosti upotrebljava se uobičajena laboratorijska oprema.

Reagensi

- 1) otopina natrijeva hidroksida $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$ (bez karbonata),
- 2) 1%-tna otopina fenoftaleina (m/V) u etanolu, neutralizirana;
- 3) destilirana voda bez CO_2 dobivena kuhanjem, a zatim ohlađena.

Određivanje

Izvaže se 10 g uzorka i otopi u 75 ml destilirane vode. Pripremljeni se uzorak titrira sa 0,1 mol otopinom (NaOH)/l, uz 4-5 kapi fenoftaleina kao indikatora. Na kraju titracije boja mora biti postojana 10 sekundi.

Za uzorke tamne boje izvaže se manja količina.

Alternativno se može upotrijebiti pH-metar i uzorak titrirati do pH - 8,3.

Izračunavanje

Kiselost se iskazuje u milimolima kiseline/kg i izračunava se prema formuli

$$\text{kiselost} = 10 \times V$$

gdje je:

V - broj potrošenih ml 0,1 mol (NaOH)/l za neutralizaciju 10 g meda.

8. ODREĐIVANJE AKTIVNOSTI DIJASTAZE

Načelo

Metoda se temelji na hidrolizi 1%-tne otopine škroba enzimom iz 1 g meda u toku jednog sata na temperaturi od 40°C .

Aparatura i pribor

Osim uobičajene laboratorijske opreme upotrebljavaju se:

- 1) odmjerene tikvice obujma 1 litra, 0,5 litre i 0,1 litre,
- 2) stožasta tikvica obujma 0,250 l,
- 3) plamenik,
- 4) vodena kupelj temperature $40^\circ\text{C} \pm 0,2^\circ\text{C}$,
- 5) spektrofotometar s očitavanjem na 660 nm.

Reagensi

- 1) Matična jodna otopina: Otopi se 8,8 g joda p. a., pomiješa s 22 g kalijeva jodida i otopi u 30-40 ml vode, a zatim se otopina razrijedi do jedne litre.
- 2) Jodna otopina [$C(\text{J}_2/2) 0,0007 \text{ mol/l}$]: U odmjerenoj tikvici obujma 500 ml otopi se 20 g kalijeva jodida p.a. u 30-40 ml vode. Doda se 5 ml matične jodne otopine i tikvica dopuni vodom do oznake.

Otopina se mora pripremiti svaki drugi dan.

- 3) Acetatni pufer - pH 5,3: Otopi se 87 g natrijeva acetata ($\text{CH}_3\text{COONa} \times 3 \text{ H}_2\text{O}$) u 400 ml vode, doda oko 10,5 ml

ledene octene kiseline i vode do obujma 500 ml. Ako je potrebno, natrijevim se acetatom ili octenom kiselinom dotjera pH-vrijednost do 5,3, uz upotrebu, prema potrebi, pH-metra.

4) Otopina natrijeva klorida, $c(\text{NaCl}) = 0,5 \text{ mol/l}$: Otopi se 14,5 g natrijeva klorida u prokuhanoj destiliranoj vodi i doda vode do obujma 500 ml. Rok trajanja te otopine ograničen je.

5) Priprema topljivog škroba: U stožastu tikvicu s povratnim hladilom koja je uronjena u vodenu kupelj izvaže se 20 g škroba, doda se mješavina 100 ml 95%-tnog etanola i 7 ml 1 mol/l solne kiseline. Ostavi se da to vrije jedan sat. Otopina se ohladi, filtrira kroz filter (veličina pora od 90mm do 150mm), pa se provodi ispiranje vodom sve dok voda za ispiranje ne prestane pokazivati reakciju na kloride.

Škrob se potpuno osuši na zraku temperature od 35°C. Škrobna se otopina mora pohraniti u dobro zatvorenu tikvicu.

6) Određivanje vode u topljivom škrobu:

Izvaže se oko 2 g topljivog škroba i u tankom sloju rasporedi po dnu posudice promjera 5 cm. Suši se 1,5 sat na temperaturi od 130°C. Zatim se ohladi u eksikatoru i izvaže.

Gubitak mase na 100 g jest količina vode. Količina vode pripremljenog škroba mora iznositi od 7% (mm) do 8% (mm), ovisno o vlažnosti zraka na kojemu je uzorak sušen.

7) Otopina škroba

Upotrebljava se škrob s plavom vrijednosti između 0,5 i 0,55, određenoj prema postupku koji se opisuje u nastavku teksta i očitanoj u kiveti od 1 cm.

Izvaže se količina škroba koja odgovara masi od 2 g bezvodnog škroba i izmiješa s 90 ml vode u stožastoj tikvici obujma 250 ml. Odmah se prenese na plamenik, preko kojega je postavljena azbestna mrežica, i pusti da tri minute polako vrije. Zatim se otopina ukloni s plamenika, pokrije i ostavi da se postupno ohladi do sobne temperature. Potom se prenese u odmjerenu bocu obujma 100 ml i stavi u vodenu kupelj zagrijanu na temperaturu od 40°C.

Kad otopina dostigne tu temperaturu, boca se dopuni vodom do oznake.

Utvrđivanje plave vrijednosti škroba

Količina škroba što odgovara masi od 1 g bezvodnog škroba otopi se prema opisanom postupku i ohladi, pa joj se doda 2,5 ml acetatnog pufera i vode u odmjerenoj tikvici do obujma 100 ml. U odmjerenu tikvicu obujma 100 ml ulije se 75 ml vode, 1 ml 1 mol/l (HCl) i 1,5 ml otopine 0,02 mol/l (J_2). Otopina se pusti jedan sat na tamnu mjestu pa se očita apsorbancija na spektrofotometru pri 660 nm, u kiveti 1 cm, uz pomoć slijepog pokusa koji se izvodi sa svim sastojcima osim otopine škroba.

Očitana apsorbancija = plava vrijednost.

Određivanje

Priprema uzorka za određivanje

Uzorak za analizu ne smije se zagrijavati. Izvaže se 10 g uzorka i prenese u čašu obujma 50 ml, doda mu se 5 ml acetatnog pufera i 20 ml vode, da bi se otopio pa se promiješa štapićem. Uzorak se već na hladno potpuno otopi. Zatim se ulije 3 ml otopine natrijeva klorida u odmjernu tikvicu obujma 50 ml i doda otopina meda pa se tikvica dopuni vodom do oznake.

Uzorak mora biti puferiziran prije miješanja s natrijevim kloridom.

Priprema standardne otopine

Škrobna otopina zagrijava se na temperaturi od 40°C, a zatim se 5 ml te otopine otpipetira u 10 ml vode temperature 40°C i dobro promiješa. Od pripremljene otopine otpipetira se 1 ml i doda u 10 ml 0,0007 mol ($J_2 / 2$)/l jodne otopine pa se to razrijedi s 35 ml vode i dobro promiješa. Nastala se boja očitava na 660 nm uz pomoć slijepog

pokusa. Vrijednost apsorbancije mora biti $0,760 \pm 0,020$. Ako je to potrebno, može se dodati određeni obujam vode, da bi se dobila ispravna apsorbancija.

Određivanje apsorbancije

Pipetom se odmjeri 10 ml otopine meda i prenese u graduirani cilindar obujma 50 ml, pa se stavi u vodenu kupelj temperature $40^{\circ}\text{C} \pm 0,20\text{C}$, zajedno s posudom u kojoj je otopina škroba. Nakon 15 minuta pipetom se odmjeri 5 ml otopine škroba i doda otopini meda. To se promiješa i uključi sat. U razmacima od pet minuta izdvoji se alikvota od 1 ml i doda u 10 ml $0,0007 \text{ mol } (J_2 / 2) / 1$ jodne otopine. Promiješa se i razrijedi do obujma 35 ml (priprema uzorka za određivanje). Apsorbancija se odmah određuje na 660 nm, nastavi se uzimati alikvota sve dok se apsorbancija ne smanji do vrijednosti od 0,235.

Izračunavanje i izražavanje rezultata

U grafikon se unosi vrijednost apsorbancije kao funkcije vremena (min). Kroz najmanje tri posljednje točke povuče se ravna crta da bi se odredilo vrijeme kad reakcijska smjesa dostiže vrijednost apsorbancije od 0,235. Podijeli se 300 s vremenom iskazanim u minutama, da bi se dobio broj dijastaze (DN). Taj broj iskazuje aktivnost dijastaze kao ml 1%-tne otopine škroba što je hidrolizirana enzimom u 1 g meda jedan sat pri 40°C . Broj dijastaze odgovara broju na Goetheovoj ljestvici.

Aktivnost dijastaze DN = ml 1%-tne otopine škroba po g meda/h pri temperaturi 40°C .

Napomena: broj dijastaze = $60/t \times 0,10/0,01 \times 1,0/2 - 300/t$

gdje je t redukcija u min.

9. ODREĐIVANJE HIDROKSIMETILFURFUROLA (FOTOMETRIJSKA METODA PO WINKLERU)

Načelo

Ova se metoda temelji na reakciji hidroksimetilfurfurola s barbiturnom kiselinom i p-toluidinom, pri čemu nastaje ružičasta boja, koja se mora mjeriti na valnoj duljini od 550 nm.

Aparatura i pribor

Osim uobičajene laboratorijske opreme upotrebljava se:

- 1) odmjerna tikvica obujma 50 ml i 100 ml,
- 2) vodena kupelj,
- 3) spektrofotometar (očitanje na 550 nm).

Reagensi

- 1) Otopina barbiturne kiseline: Izvaže se 500 mg barbiturne kiseline i sa 70 ml vode prenese u odmjernu tikvicu obujma 100 ml. Stavi se u vodenu kupelj da se otopi, zatim se ohladi i tikvica dopuni vodom do oznake.
- 2) Otopina p-toluidina: Izvaže se 10 g p-toluidina i postupnim zagrijavanjem u vodenoj kupelji otopi u približno 50 ml izopropanola. S izopropanolom se prenese u odmjernu tikvicu obujma 100 ml pa se doda 10 ml ledene octene kiseline. Otopina se ohladi i tikvica dopuni izopropanolom do oznake. Otopina se čuva na tamnu mjestu i ne upotrebljava najmanje 24 sata.
- 3) Destilirana voda bez kisika: Kroz vruću vodu propušta se dušik. Voda se zatim ohladi.

Priprema uzorka

Uzorak se priprema na način utvrđen za metodu pripreme uzorka za analizu, bez zagrijavanja.

Određivanje

Izvaže se 10 g uzorka i bez zagrijavanja otopi u 20 ml destilirane vode bez kisika. Zatim se prenese u odmjernu tikvicu obujma 50 ml, koja se dopuni vodom do oznake (otopina meda). Odmah nakon pripreme nastavi se određivanje.

Od pripremljenog uzorka odmjeri se pipetom 2 ml, prenese se u svaku od dviju epruveta, pa se doda 5 ml p-toluidina. U jednu se epruvetu otpipetira 1 ml vode, a u drugu 1 ml otopine barbiturne kiseline, pa se sadržaj dobro promiješa. Epruveta u kojoj je voda upotrijebit će se za slijepi pokus. Reagens se treba dodavati bez prekida, a sve se mora završiti za 1-2 minute. Kad intenzitet boje dostigne maksimum (3-4 minute) očitava se apsorbancija na 550 nm u kiveti od 10 mm.

Količina hidroksimetilfurfurola izražava se u mg/100 g meda, i grubo se izračunava prema formuli

$$\text{mg HMF/100 g meda} = \text{apsorbancija/debljina sloja} \times 19,2$$

Napomena:

Količina HMF može se izračunati s pomoću baždarnog dijagrama, primjenom standardnih otopina od 5mg do 300mg.

10. PELUDNA ANALIZA

Deset grama dobro izmiješanog meda otopi se u 20 ml vode. Stavi se u vodenu kupelj na temperaturu od 45°C. Nakon zagrijavanja otopina se centrifugira 15 min. na 3.500 okretaja. Tekući dio se odlije, a sediment se prenese mikropipetom na predmetno staklo i ravnomjerno razmaže na površinu 15 x 20 mm. Preparat se osuši u termostatu na temperaturi ne višoj od 40° C i uklopi u glicerol želatinu. Uvijek se rade dva paralelna uzorka istog meda. Prilikom uklapanja, jedan uzorak boji se dodavanjem kapi fuksina u glicerol želatinu. Uzorak se pokrije pokrovnicom i vraća u termostat na sušenje. Mikroskopira se pri povećanju 200 do 600 puta. Prebroje se sva peludna zrnca u vidnom polju. Mijenjaju se vidna polja dok se ne izbroji 300 zrnaca. Prebrojana peludna zrnca se razvrstavaju prema biljnoj vrsti. Biljna vrsta određuje se prema obliku, veličini zrnca, građi i boji vanjske stijenke, te prema obliku i broju pora klijanja. Peludna zrnca uspoređuju se s referentnim preparatima.

11. ODREĐIVANJE VODE U MATIČNOJ MLIJEČI I CVJETNOM PRAHU

Načelo

Metoda se temelji na predestilaciji vode iz ispitnog uzorka, u specijalnom aparatu, s pomoću organskog otapala koje se ne miješa s vodom. Zatim se predestilirana količina izmjeri u graduiranoj menzuri.

Ovom se metodom određuje voda u matičnoj mliječi i cvjetnom prahu.

Aparatura i pribor

Osim uobičajene laboratorijske opreme upotrebljava se:

- 1) aparat za određivanje vode po Dean-Starku obujma 250 ml,
- 2) analitička vaga,
- 3) menzure obujma 10 ml i 100 ml.

Reagens: ksilol.

Određivanje

Izvaže se 5 g matične mliječi odnosno 30 g cvjetnog praha, stavi u tikvicu za destilaciju i prelije s 150 ml ksilola. Zatim se aparat sastavi, voda pusti kroz hladnjak i počne destilacija. Smjesa se polako destilira, pri čemu se vodena para i para organskog otapala kondenziraju i skupljaju u graduiranoj cijevi, a višak otapala vraća. Destilacija traje

sve dok kondenzat ne postane potpuno bistar. Tada se zagrijavanje prekida i kondenzat ostavi određeno vrijeme da se voda potpuno izluči. Donji (vodeni) sloj ispusti se u menzuru te se očita količina vode.

Izračunavanje

Količina vode iskazuje se u postocima i izračunava prema formuli:

$$\text{postotak vode} = 100 a / b$$

gdje je:

a - broj ml očitane vode,

b - izvagani uzorak, u g.

12. ODREĐIVANJE BJELANČEVINA U MATIČNOJ MLIJEČI

Načelo

Ova se metoda temelji na biuretskoj reakciji odnosno reakciji bakra s peptidnom vezom, pri čemu nastaje ljubičasta boja, koja se određuje spektrofotometrijski na 546 nm. Izmjerena apsorbanacija razmjerna je koncentraciji bjelančevina u otopini.

Aparatura i pribor

Osim uobičajene laboratorijske opreme upotrebljava se:

- 1) spektrofotometar,
- 2) analitička vaga,
- 3) centrifuga,
- 4) odmjerne tikvice obujma 100 ml i 1000 ml,
- 5) kiveta,
- 6) pipeta obujma 1 ml i 10 ml.

Reagensi

- 1) Biuretski reagens: 4,5 g kalinatrijeva tartarata otopi se u 40 ml NaOH 0,2 mol/l, doda se 1,5 g $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$, koji je prije toga otopljen u 10 ml destilirane vode, i 0,5 g kalijeva jodida. Otopina se polako promiješa i kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu obujma 100 ml, koja se dopuni do 100 ml 0,5 mol/l, otopinom NaOH/l. Otopina mora biti bistra i bez taloga.
- 2) Otopina natrijeva hidroksida $c(\text{NaOH}) = 0,2 \text{ mol/l}$: U odmjernoj tikvici obujma 1000 ml otopi se 8,4 g NaOH u oko 950 ml destilirane vode. Otopina se ohladi i tikvica dopuni vodom do oznake.
- 3) Otopina za stabilizaciju: Otopi se 5 g kalijeva jodida u 0,2 mol NaOH/l i doda se otopine 0,2 mol NaOH/l do 1000 ml.
- 4) Bjelančevinski standard 6 g/l: krvni serum u kojemu je poznata količina bjelančevina i kristalizirani ljudski albumin.

Određivanje

Na aluminijskoj foliji promjera 15 mm x 15 mm izvaže se na analitičkoj vagi 100 mg matične mliječi. Sve se prenese u kivetu za centrifugiranje i s pomoću staklenog štapića potopi do dna kivete.

Pipetom se doda 8 ml otopine za stabilizaciju i to se dobro promiješa da bi se mliječ rastopila. Centrifugira se 10 min na 3000 okretaja. Nakon centrifugiranja odmjeri se 4 ml otopine mliječi, prenese u drugu kivetu pa se doda 1 ml biuretskog reagensa.

Istovremeno se pripremi uzorak za slijepi pokus od 4 ml reagensa za stabilizaciju i 1 ml biuretskog reagensa.

Nakon 30 minuta izmjeri se apsorbancija na 546 nm valne duljine. Uz iste se uvjete odredi i apsorbancija standardne otopine.

Izračunavanje

Količina bjelančevina iskazuje se u postocima i izračunava prema formuli:

$$\text{postotak bjelančevina} = (A_v - A_{sl}/f \times 2 \times 110) / a$$

gdje je:

A_v - apsorbancija uzorka,

A_{sl} - apsorbancija pri slijepom pokusu,

f - faktor = $A_s - A_{sl} / C_s$,

a - količina uzorka, u mg,

A_s - apsorbancija standarda,

C_s - količina bjelančevina u standardu.

13. ODREĐIVANJE EKSTRAKTA PROPOLISA U ALKOHOLNOJ OTOPINI

Aparatura i pribor

Za određivanje ekstrakta propolisa u alkoholnoj otopini upotrebljava se uobičajena laboratorijska oprema.

Reagens: etanol.

Određivanje

Izvaže se 5 g propolisa, prenese u stožastu tikvicu (Erlenmeyerovu) i prelije s 50 g etanola, pa se na sobnoj temperaturi preko noći ekstrahira. Nakon toga tekućina se filtrira i uzima alikvota od tri grama filtrata, koja se dva sata suši u sušioniku na temperaturi od 105°C. Nakon dva sata uzorak se izvadi iz sušionika, stavi u eksikator i ohladi pa se izvaže.

Izračunavanje

Količina suhe tvari (ekstrakta) iskazuje se u postocima i izračunava prema formuli

$$\text{postotak ekstrakta} = 100 \times b \times c / d \times (a - c)$$

gdje je:

a - masa filtrata, u g,

b - masa otapala, u g,

c - masa suhog ostatka, u g,

d - masa uzorka, u g.

