

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Nuša KOŠAR

DIELEKTRIČNE LASTNOSTI IN POTVORBA MLEKA Z VODO

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**DIELECTRIC PROPERTIES AND ADULTERATION OF MILK
WITH WATER**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo v Laboratoriju za mlekarstvo Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani ter na Katedri za biokemijo in kemijo živil na Oddelku za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za živilstvo je za mentorico diplomske naloge imenovala prof. dr. Darjo Rudan Tasič, za somentorico doc. dr. Stanislavo Golc Teger in za recenzentko doc. dr. Natašo Šegatin.

Mentorica: prof. dr. Darja Rudan Tasič

Somentorica: doc. dr. Stanislava Golc Teger

Recenzentka: doc. dr. Nataša Šegatin

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član: prof. dr. Darja Rudan Tasič
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Član: doc. dr. Stanislava Golc Teger
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: doc. dr. Nataša Šegatin
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Nuša KOŠAR

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
- DK UDK 637.14.04/.06:544.03(043)=163.6
- KG mleko/potvorbe mleka/kemijska sestava mleka/fizikalno-kemijske lastnosti/dielektrične lastnosti/statistične metode
- AV KOŠAR, Nuša
- SA RUDAN TASIČ, Darja (mentorica)/ GOLC TEGER, Stanislava (somentorica)/ ŠEGATIN, Nataša (recenzentka)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
- LI 2011
- IN DIELEKTRIČNE LASTNOSTI IN POTVORBA MLEKA Z VODO
- TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
- OP XIV, 46 str., 23 pregl., 8 sl., 2 pril., 44 vir.
- IJ sl
- Jl sl/en
- AI V diplomski nalogi smo raziskali dielektrične lastnosti mleka z vsebnostjo maščobe 1,6 %. Z merilnim sistemom proizvajalca Agilent Technologies smo merili dielektrično konstanto in faktor izgube mleka pri frekvenci $\nu = 2,45$ GHz v temperaturnem območju od 25 do 55 °C. Posneli smo tudi dielektrični spekter mleka in vode v območju od 700 MHz do 8,50 GHz pri 25 °C. Pri nepotvorjenih ter razredčenih vzorcih mleka z ustreznim masnim deležem dodane vode smo določili vsebnost maščobe, beljakovin, laktoze in suhe snovi z metodo infrardeče spektrometrije, temperaturo zmrzišča s kriokopsko metodo, izmerili vrednost pH, gostoto, lomni količnik ter dielektrično konstanto in faktor izgube. Dobljene podatke smo statistično obdelali. Z metodo najmanjših kvadratov smo poiskali korelacijo med posameznim fizikalnim parametrom in pomembnimi kemijskimi sestavinami mleka ter določili temperaturno odvisnost nekaterih dielektričnih parametrov mleka. Z metodo večkratne linearne regresijske analize smo ugotovili visoko stopnjo korelacije med masnim deležem dodane vode v mleko in kemijsko sestavo mleka ter nekaterimi fizikalnimi karakteristikami mleka. Z merjenjem dielektričnih lastnosti mleka smo pokazali, da so le-te, zlasti dielektrična konstanta, primeren fizikalnokemijski parameter za vrednotenje pristnosti oz. ugotavljanje ne/potvorjenosti mleka z vodo.

KEY WORD DOCUMENTATION

- DN Dn
- DC UDK 637.14.04/.06:544.03(043)=163.6
- CX milk/adulteration of milk/chemical composition of milk/physico-chemical properties/dielectric properties/statistical methods
- AU KOŠAR, Nuša
- AA RUDAN TASIČ, Darja (supervisor)/ GOLC TEGER Stanislava (co-advisor)/ ŠEGATIN, Nataša (reviewer)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
- PY 2011
- TY DIELECTRIC PROPERTIES AND ADULTERATION OF MILK WITH WATER
- DT Graduation thesis (university studies)
- NO XIV, 46 p., 23 tab., 8 fig., 2 ann., 44 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB In the graduation thesis the dielectric properties of milk with 1,6 % content of fat are examined. The dielectric constant and the dielectric loss factor of milk at the frequency $\nu = 2,45$ GHz and in the temperature range from 25 to 55 °C, were measured with the measuring system, produced by Agilent Technologies. We scanned the dielectric spectrum of milk and water in a range from 700 MHz to 8,5 GHz at 25 °C. In nonadulterated and diluted milk samples with the proper weight percentage of added water, we determined milk fat, protein, lactose and dry matter content with the method of infra-red spectroscopy, freezing point with the thermistor cryoscope method, we measured pH value, density, refractive index and dielectric constant and dielectric loss factor. We processed the results statistically. We have found the correlation between the individual physical parameter and the important chemical components of milk, and we have determined the temperature dependence on some dielectric parameters of milk, with the method of least squares. We found high correlation between weight percentage of added water in milk and chemical composition of milk and between certain physical characteristics, with the method of multiple linear regression. With measuring the dielectric characteristics of milk we showed that these characteristics, especially the dielectric constant, are a convenient parameter for evaluation of authenticity respectively for finding the non/adulteration of milk with water.

KAZALO VSEBINE

	str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORD DOCUMENTATION	IV
KAZALO PREGLEDNIC	VIII
KAZALO SLIK	XII
KAZALO PRILOG	XII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XIII
1 UVOD	1
1.1 OPREDELITEV PROBLEMA	1
1.2 NAMEN NALOGE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 MLEKO	3
2.2 KEMIJSKA SESTAVA MLEKA	3
2.2.1 Voda	3
2.2.2 Beljakovine	3
2.2.2.1 Kazein	4
2.2.2.2 Serum proteini ali sirotkini proteini	4
2.2.2.3 Dušikove snovi	4
2.2.3 Mlečna maščoba	5
2.2.4 Laktoza	5
2.2.5 Encimi	6
2.2.6 Vitamini	6
2.2.7 Mineralne snovi	6
2.3 FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI MLEKA	6
2.3.1 Kislost mleka	6
2.3.2 Gostota mleka	7
2.3.3 Lomni količnik mleka	7

2.3.4 Zmrzišče mleka	7
2.3.5 Dielektrične lastnosti mleka	7
2.3.5.1 Permitivnost in faktor izgube	7
2.3.5.2 Dielektrične lastnosti mleka	8
2.4 POTVORBE MLEKA	9
2.4.1 Metode za določanje potvorbe mleka z vodo	9
3 MATERIAL IN METODE	10
3.1 VZORCI	10
3.1.1 Poreklo in kvaliteta vzorcev	10
3.1.2 Priprava vzorcev za laboratorijske analize	10
3.2 METODE	11
3.2.1 Merjenje temperature zmrzišča mleka	11
3.2.2 Določanje vrednosti pH	11
3.2.3 Določanje kemijske sestave mleka z IR-spektroskopijo	11
3.2.4 Določanje količine vode oz. suhe snovi v mleku	12
3.2.5 Določanje gostote	13
3.2.6 Merjenje lomnega količnika	13
3.2.7 Merjenje dielektrične konstante in faktorja izgube mleka	13
3.2.7.1 Kontrola merilne sonde	15
3.2.8 Statistične metode	15
3.2.8.1 Enostavni statistični parametri	15
3.2.8.2 Linearna regresijska analiza	15
3.2.8.3 Nelinearna regresijska analiza	16
3.2.8.4 Večkratna linearna regresijska analiza	16
4 REZULTATI	17
4.1 REZULTATI KEMIJSKE ANALIZE MLEKA	17
4.2 REZULTATI FIZIKALNIH MERITEV MLEKA	20
4.2.1 Odvisnost dielektričnih lastnosti vode in mleka od frekvence	20
4.2.2 Dielektrične lastnosti mleka pri frekvenci 2,45 GHz	24
4.2.3 Specifična refrakcija in specifična polarizacija	28
4.2.4 Odvisnost dielektričnih lastnosti mleka od temperature	29
4.2.4.1 Odvisnost dielektrične konstante in faktorja izgube od temperature	29

4.2.4.2 Koeficient temperaturne odvisnosti dielektrične konstante	32
5 RAZPRAVA IN SKLEPI	34
5. 1 RAZPRAVA	34
5.1.1 Korelacija med fizikalnimi lastnostmi in kemijsko sestavo mleka	34
5.1.2 Korelacija med masnim deležem dodane vode in kemijsko sestavo mleka	36
5.1.3 Medsebojna korelacija fizikalnih lastnosti mleka	37
5.1.4 Korelacija med masnim deležem dodane vode in fizikalnimi parametri mleka	37
5.2 SKLEPI	41
6 VIRI	43
ZAHVALA	
PRILOGE	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Predstavitev najpomembnejših beljakovin mleka in njihove količine v mleku (Mavrin in Oštir, 2002: 32).	5
Preglednica 2: Opis vzorca in čas opravljanja analiz preiskovanih vzorcev mleka Proizvajalca A.	10
Preglednica 3: Eksperimentalno določena ter po literaturi povzeta vrednost dielektrične konstante in faktorja izgube za vodo pri temperaturi 25 °C in frekvenci, $\nu = 2,50$ GHz.	15
Preglednica 4: Vsebnost beljakovin, B (g/100 g), laktoze, L (g/100g), maščob, M (g/100g) in suhe snovi, SS (g/100g) ter vrednost pH v vzorcih mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); prvi vzorec.	17
Preglednica 5: Vsebnost beljakovin, B (g/100 g), laktoze, L (g/100g), maščob, M (g/100g) in suhe snovi, SS (g/100g) ter vrednost pH v vzorcih mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); drugi vzorec.	17
Preglednica 6: Vsebnost beljakovin, B (g/100 g), laktoze, L (g/100g), maščob, M (g/100g) in suhe snovi, SS (g/100g) ter vrednost pH v vzorcih mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); tretji vzorec.	18
Preglednica 7: Vsebnost beljakovin, B (g/100 g), laktoze, L (g/100g), maščob, M (g/100g) in suhe snovi, SS (g/100g) ter vrednost pH v vzorcih mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); četrti vzorec.	18
Preglednica 8: Vsebnost beljakovin, B (g/100 g), laktoze, L (g/100g), maščob, M (g/100g) in suhe snovi, SS (g/100g) ter vrednost pH v vzorcih mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); peti vzorec.	18
Preglednica 9: Vsebnost beljakovin, B (g/100 g), laktoze, L (g/100g) in maščob, M (g/100g) in suhe snovi, SS (g/100g) ter zmrzišče za vzorce mleka Proizvajalca B z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); šesti vzorec.	19
Preglednica 10: Gravimetrični in IR-spektrometrični podatki o količini suhe snovi, SS (%) in vode, W (%) v preiskovanih vzorcih mleka Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 % brez dodane vode.	19
Preglednica 11: Dielektrična konstanta in faktor izgube (frekvenca 2,45 GHz), gostota in lomni količnik pri 25,0 °C ter zmrzišče za preiskovane vzorce mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); prvi vzorec.	25
Preglednica 12: Dielektrična konstanta in faktor izgube (frekvenca 2,45 GHz), gostota in lomni količnik pri 25,0 °C ter zmrzišče za preiskovane vzorce mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); drugi vzorec.	25

Preglednica 13: Dielektrična konstanta in faktor izgube (frekvenca 2,45 GHz), gostota in lomni količnik pri 25,0 °C ter zmrzišče za preiskovane vzorce mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); tretji vzorec. 25

Preglednica 14: Dielektrična konstanta in faktor izgube (frekvenca 2,45 GHz), gostota in lomni količnik pri 25,0 °C ter zmrzišče za preiskovane vzorce mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); četrti vzorec. 26

Preglednica 15: Dielektrična konstanta in faktor izgube (frekvenca 2,45 GHz), gostota in lomni količnik pri 25,0 °C ter zmrzišče za preiskovane vzorce mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); peti vzorec. 26

Preglednica 16: Vsebnost beljakovin, laktoze in maščob, vrednost pH, gostota, lomni količnik, dielektrična konstanta in faktor izgube (frekvenca 2,45 GHz) pri 25,0 °C ter temperatura zmrzišča za preiskovane vzorce mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); povprečne vrednosti merjenih količin za obdobje petih tednov. 27

Preglednica 17: Specifična refrakcija in specifična polarizacija za preiskovane vzorce mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%) pri 25,0 °C (povprečne vrednosti). 28

Preglednica 18: Odvisnost dielektrične konstante, ε' in faktorja izgube, ε'' , od temperature za homogenizirano in delno posneto mleko Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 %; peti vzorec. 29

Preglednica 19: Korelacija med dielektrično konstanto, faktorjem izgube (frekvenca 2,45 GHz), gostoto, lomnim količnikom, specifično refrakcijo, specifično polarizacijo pri 25,0 °C in zmrziščem ter koncentracijo nekaterih sestavin mleka Proizvajalca A, t.j. beljakovin, B , laktoze, L in maščob, M (povprečne vrednosti). 34

Preglednica 20: Korelacija med masnim deležem dodane vode, w (%) ter nekaterimi sestavinami mleka Proizvajalca A, t.j. vsebnostjo beljakovin, B , laktoze, L in maščob, M (povprečne vrednosti). 36

Preglednica 21: Korelacija med zmrziščem mleka in dielektrično konstanto, faktorjem izgube (frekvenca 2,45 GHz), gostoto, lomnim količnikom, specifično refrakcijo in specifično polarizacijo mleka Proizvajalca A (povprečne vrednosti). 37

Preglednica 22: Korelacija med masnim deležem dodane vode ter dielektrično konstanto, faktorjem izgube (frekvenca 2,45 GHz), gostoto, lomnim količnikom, specifično refrakcijo, polarizacijo pri 25 °C ter zmrziščem mleka Proizvajalca A (povprečne vrednosti). 38

Preglednica 23: Absolutna vrednost povprečne razlike med izračunanimi vrednostmi masnega deleža dodane vode (relacije 21-26) ter eksperimentalnimi vrednostmi za vzorce mleka Proizvajalca A. 40

KAZALO SLIK

Slika 1: Fotografija sistema za merjenje dielektričnih lastnosti snovi.	14
Slika 2: Mikrovalovni dielektrični spekter deionizirane destilirane vode in homogeniziranega delno posnetega mleka Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 %; peti vzorec.	20
Slika 3: Odvisnost razmerja med dielektrično konstanto za homogenizirano delno posneto mleko Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 % (peti vzorec) in za deionizirano destilirano vodo, $\varepsilon'_{(\text{mleko})} / \varepsilon'_{(\text{voda})}$, od frekvence, ν .	21
Slika 4: Odvisnost razmerja med faktorjem izgube, ε'' , za homogenizirano delno posneto mleko Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 % (peti vzorec) in za deionizirano destilirano vodo, $\varepsilon''_{(\text{mleko})} / \varepsilon''_{(\text{voda})}$, od frekvence, ν .	22
Slika 5: Odvisnost dielektrične konstante, ε' , od frekvence za homogenizirano in delno posneto mleko Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 % in različnim masnim deležem dodane vode; peti vzorec.	23
Slika 6: Odvisnost faktorja izgube, ε'' , od frekvence za homogenizirano in delno posneto mleko Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 % in različnim masnim deležem dodane vode; peti vzorec.	24
Slika 7: Odvisnost dielektrične konstante, ε' , od temperature za homogenizirano in delno posneto mleko Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 %; peti vzorec.	31
Slika 8: Odvisnost faktorja izgube, ε'' , od temperature za homogenizirano in delno posneto mleko Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 %; peti vzorec.	32

KAZALO PRILOG

Priloga A: Podatki za mikrovalovni dielektrični spekter deionizirane destilirane vode.

Priloga B: Podatki za mikrovalovni dielektrični spekter homogeniziranega delno posnetega mleka Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 %; peti vzorec.

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

a_1	empirična konstanta
a_2	empirična konstanta
B (g/100g)	beljakovine
b_1	empirična konstanta
b_2	empirična konstanta
c (m/s)	hitrost svetlobe v vakuumu (ali zraku)
FTIR	Fourier transformacijska infrardeča spektrometrija
IR	infrardeče
j	imaginarna enota
KV	koeficient variacije
L (g/100g)	laktoza
M (g/100g)	maščoba
n_D	lomni količnik
p_s (cm ³ /g)	specifična polarizacija
r^2	kvadrat korelacijskega koeficienta
r_s (cm ³ /g)	specifična refrakcija
SD	standardni pogrešek
SS (g/100g)	suha snov
T_f (°C)	temperatura zmrzišča
w (%)	masni delež dodane vode
W (%)	relativna količina vode v mleku

\bar{x}	srednja vrednost
γ	koeficient temperaturne odvisnosti dielektrične konstante
γ_0	temperaturni koeficient pri temperaturi $T_0 = 298,15 \text{ K}$
ε'	dielektrična konstanta
ε''	faktor izgube
ε'_0	dielektrična konstanta pri temperaturi $T_0 = 298,15 \text{ K}$
ε''_0	faktor izgube pri temperaturi $T_0 = 298,15 \text{ K}$
ν (Hz)	frekvenca
ρ (g/cm ³)	gostota

1 UVOD

1.1 OPREDELITEV PROBLEMA

Razvoj na področju funkcionalnih živil odpira neslutene možnosti živilski industriji, saj postavlja inovativnost kot glavno na področju razvoja živil. Ob tem pa postaja zagotavljanje varnosti in kakovosti hrane vodilo kakovosti življenja tako pri nas, kot na celotnem področju evropske unije in svetu. Za slovenske proizvajalce funkcionalnih živil pomeni, z vidika varovanja zdravja potrošnikov, uskladitev slovenskih standardov in predpisov z evropskimi, med drugim tudi večjo odgovornost za lastne izdelke. Pri kontroli in zagotavljanju kakovosti živil je pomemben tudi izbor analitskih metod. Klasične kemijske, biokemijske in biološke metode so zahtevne in pogosto zamudne, medtem ko fizikalnokemijske metode omogočajo hitro ter enostavno določanje vrste parametrov, pomembnih za varno prehrano potrošnikov. Sem sodijo tudi električne lastnosti živil (tj. električna prevodnost), zlasti pa dielektrične lastnosti živil ter njihovih funkcionalnih komponent v širokem frekvenčnem področju (dielektrična spektroskopija). Večinoma so to nedestruktivne metode.

Dielektrične lastnosti živila so odvisne od frekvence, temperature, pa tudi kemijske sestave vzorca, npr. od vsebnosti vode, soli, ogljikovih hidratov, proteinov, maščob, zato vpliva na vrednost merjenih parametrov (dielektrična konstanta, faktor izgube) količina vezane in proste vode, površinski naboj, elektroliti in neelektroliti v živilu. Tudi fizikalne in kemijske spremembe tekom procesiranja živilskega izdelka, npr. izguba vode (sušenje), želiranje škroba ali denaturacija proteinov povzročijo spremembe dielektričnih lastnosti živila. Zato so raziskave dielektričnih lastnosti posameznih komponent v hrani ali živilskih izdelkih pomembne predvsem za načrtovanje, procesiranje in embaliranje ter skladiščenje izdelkov, ki so kakorkoli podvrženi obdelavi z mikrovalovi. Omenjene lastnosti namreč vplivajo na elektromagnetno segrevanje (npr. z mikrovalovi ali radijskimi valovi), ki je v živilskem procesnem inženirstvu v čedalje večji rabi (segrevanje, kuhanje, pečenje, sušenje, pasterizacija, sterilizacija). Tako je omenjena tehnika na področju živilske industrije poleg bazičnih raziskav (npr. študij denaturacije proteinov) že našla nekatere aplikacije, npr. za ugotavljanje stopnje svežosti mesa, za ugotavljanje dodane vode v meso, za določanje vsebnosti proteinov ali maščob v mesu, kvalitete olja za cvrtje, vsebnosti vode v sadju in zelenjavi, študij vplivov skladiščenja na kvaliteto mlečnih izdelkov, ugotavljanje efekta mešanja testa na kvaliteto pekovskih izdelkov, za kvantitativno vrednotenje absorpcije mikrovalov v procesu sušenja vzorca (vpliv grelne moči, temperature, frekvence), za raziskave kvalitete embalaže živilskega izdelka, itd. (Datta in sod., 2005).

V agroživilski industriji so merjenja vsebnosti in kvalitete vode v različnih surovinah in izdelkih v zadnjem času osnovana na novejših metodah kot so FTIR, NMR, pa tudi z mikrovalovi. Voda kot polarna substanca z lahkoto absorbira mikrovalovno energijo, zato močno vpliva na dielektrične lastnosti živila. Voda je v živilu prisotna kot prosta voda (kapilarna voda), ki se relaksira v območju mikrovalov in kemijsko oz. fizikalno vezana voda, katere relaksacijska frekvenca je v MHz-območju. Uporaba dielektrične spektroskopije omogoča ločevanje med prosto in vezano vodo v živilu, kar je zelo

pomembno, saj je prosta razpoložljiva voda odločilna za mikrobiološki kvar živila. Močnejše kot je voda v živilu vezana npr. na proteine ali ogljikove hidrate, manjši je prispevek vezane vode k dielektrični konstanti ali k faktorju izgube, pri čemer igra seveda pomembno vlogo tudi temperatura. Prav zato je korelacija dielektričnih lastnosti z vsebnostjo vode oz. vlago in temperaturo možna samo za posamezne skupine živilskih produktov.

Evropski zakoni zahtevajo specifikacijo izvira mleka pri predelavi mleka v mlečne proizvode. S preprečevanjem potvorb mleka ščitimo pristnost proizvodov. Med pogostejše vrste potvorb mleka sodi tudi dodajanje vode v mleko. Za določanje te vrste potvorbe mleka so v rabi določene fizikalnokemijske metode, od katerih pa nobena ne temelji na dielektričnih lastnostih mleka; le-te vplivajo na način in stopnjo interakcije omenjenega živila z elektromagnetnim poljem. Zato so omenjene lastnosti izziv za predlagano diplomsko delo, še zlasti, ker tovrstne raziskave v slovenskem prostoru doslej še niso bile opravljene.

1.2 NAMEN NALOGE

Osnovni namen diplomske naloge je bil raziskati dielektrične lastnosti izbrane vrste mleka in poiskati nekatere statistično značilne korelacije med kemijsko sestavo mleka ter določenimi fizikalnokemijskimi parametri mleka, ki bi bile uporabne za hitro določitev potvorbe mleka z vodo. S sistematičnimi raziskavami nepotvorjenega mleka ter mleka z dodano vodo (potvorjeno mleko) sem želela potrditi dielektrične lastnosti mleka kot primeren fizikalnokemijski parameter za vrednotenje kvalitete mleka oz. za ugotavljanje njegove pristnosti (nepotvorjenost z vodo).

2 PREGLED OBJAV

2.1 MLEKO

Mleko je najbolj popolna naravna hrana. Definiramo ga kot biološko tekočino, ki je proizvod mlečne žleze in je prva hrana novorojenega sesalca. Novorojencu omogoča s svojo pestro sestavo hranil, vitaminov, mineralov, encimov, zaščitnih snovi in rastnih faktorjev, uspešen razvoj v prvem, najbolj občutljivem življenjskem obdobju (Rogelj, 2003). Mleko je torej veliko več kot samo vsota hranil prav zaradi vsebnosti številnih biološko aktivnih sestavin, s potencialnim učinkom na zdravje. Obogatitev mleka s kalcijem, koencimom Q ali omega-3 maščobnimi kislinami pa pretvori multifunkcionalno živilo v izdelek s poudarjenimi funkcionalnimi učinki.

Pod pojmom mleka se vedno razume kravje mleko. Če govorimo o mleku drugih živali, ga označujemo z »ovčje mleko«, »kozje mleko« in podobno (Vujičić, 1985).

2.2 KEMIJSKA SESTAVA MLEKA

Do leta 1850 je veljalo, da se mleko sestoji iz maščob, sladkorjev, beljakovin in mineralnih snovi. Do danes se je našlo mnogo komponent teh osnovnih sestavin in tudi niz novih. Mleko je emulzija vode in maščobe, koloidna raztopina vode in beljakovin ter prava raztopina vode, laktoze in mineralov. Vode je v mleku 87,5 %, ostalih 12,5 % pa predstavlja suha snov mleka (Petričić, 1984).

2.2.1 Voda

Največji delež sestavin v mleku predstavlja voda (86 % do 89 %). V mleku je prisotna kot prosta voda, v kateri so raztopljene soli, v vodi topni vitamini in mlečni sladkor laktoza ter kot vezana voda v sestavinah mleka, ki niso topne v vodi. Delež proste vode je v primerjavi z vezano vodo večji. Razmerje je odvisno od zunanjih pogojev, posebno od temperature in pH mleka (Đorđević, 1987).

2.2.2 Beljakovine

Beljakovine so najpomembnejša sestavina mleka. To so visokomolekularne spojine, ki so večinoma zelo občutljive na kemijske in fizikalne vplive, zaradi česar hitro spremenijo svojo zgradbo in lastnosti. Osnovne gradbene enote vseh beljakovin so aminokislina, ki so nizkomolekularne organske spojine s karboksilno skupino (-COOH, organska kislina) in amino skupino (-NH₂, organska baza). Tehnološko najpomembnejše beljakovine mleka so:

- kazeini,
- serumproteini ali sirotkini proteini, kamor prištevamo laktalbumine in laktoglobuline,
- beljakovine membrane maščobnih kroglic.

Preglednica 1 natančneje predstavlja najpomembnejše beljakovine mleka (Mavrin in Oštir, 2002).

2.2.2.1 Kazein

Pod elektronskim mikroskopom vidimo, da so te beljakovine v obliki kroglastih delčkov. Njihov premer je 10 do 15 nm. Kazein ni enotna beljakovinska snov, pač pa je sestavljen iz več različnih komponent, ki jih označujemo z grškimi črkami. Najpomembnejši so alfa, beta, gama in kapa kazein. V sredini teh kroglic je alfa, beta in gama kazein, ki je obdan s kapa kazeinom kot nekakšnim varovalnim ovojem. Tem združenim komponentam pravimo kazeinske micelle (Bajt in Golc-Teger, 2002).

2.2.2.2 Serum proteini ali sirotkini proteini

Pretežni del te skupine beljakovin sestavljata α -laktalbumin in β -laktoglobulin, v manjši meri še proteoze in peptoni, ki nastanejo ob hidrolizi β -kazeina in beljakovine krvnega seruma. To so albumini in imunoglobulini. Največ teh beljakovin najdemo v kolostralnem mleku (Mavrin in Oštir, 2002).

2.2.2.3 Dušikove snovi

Mleko vsebuje številne dušikove snovi. Od skupnih dušikovih snovi se v mleku nahaja 95 % proteinov in 5 % neproteinskih dušikovih snovi. Med neproteinske dušikove snovi prištevamo: male peptide, proste aminokislino, aminosladkorje, kreatinin, sečnino, ureinsko kislino in amonijak (Đorđević, 1987).

Preglednica 1: Predstavitev najpomembnejših beljakovin mleka in njihove količine v mleku (Mavrin in Oštir, 2002: 32).

Beljakovine	Količina v mleku (g/kg)	Delež od skupne količine (%)
kazeini skupno	26,0	79,5
α s1-kazein	10,0	30,6
α s2-kazein	2,6	8,0
β -kazein	10,1	30,8
κ -kazein	3,3	10,1
serumproteini skupno	6,3	19,3
α -laktalbumin	1,2	3,7
β -laktoglobulin	3,2	9,8
albumini krvnega seruma	0,4	1,2
imunoglobulini	0,7	2,1
proteoze - peptoni	0,8	2,4
beljakovine membran maščobnih kapljic	0,4	1,2
beljakovine skupno	33,0	100,0

2.2.3 Mlečna maščoba

Maščobe so estri maščobnih kislin in sorodnih snovi. Mlečna maščoba je pomemben vir energije. Mleku daje specifično aromo. V povprečju mleko vsebuje 3,6 % do 4,2 % mlečne maščobe. 98 % vse mlečne maščobe predstavljajo triacilgliceroli. Sestava mlečne maščobe je zelo variabilna. Maščobe plavajo v mleku v obliki maščobnih kroglic, ki imajo premer od 0,2 do 22 μ m. Število maščobnih kroglic je 15×10^9 na ml. Te kapljice so obdane z beljakovinsko membrano. Maščobne kroglice vplivajo na barvo in viskoznost mleka (Kapš, 2004).

2.2.4 Laktoza

Laktoza ali mlečni sladkor je disaharid ($C_{12}H_{22}O_{11}$), sestavljen iz molekul α -D-glukoze in β -D-galaktoze. Količina laktoze v mleku variira od 4,5 % do 4,8 % (Tratnik, 1998).

Čisti mlečni sladkor je kristalna snov bele barve brez posebnega vonja. Čeprav je petkrat manj sladek kot saharoza, daje mleku značilen sladkast okus. V mleku se nahaja v obliki prave raztopine, kar vpliva na: osmotski pritisk, temperaturo vrelišča, temperaturo zmrzišča ter refrakcijo mleka. Vodna raztopina laktoze lomi svetlobne žarke močnejše kakor čista voda in ima nižje zmrzišče od nje. Na teh dejstvih sloni ugotavljanje potvorb mleka z refraktometrom in krioskopom (Mavrin in Oštir, 2002).

2.2.5 Encimi

Encimi so skupina beljakovin ali sestavljenih beljakovin, ki nastajajo v celici. Delujejo kot biokatalizatorji in tako pospešujejo reakcije v živih organizmih, sodelujejo pri gradnji, pretvorbah in razgradnji strukturnih in presnovnih elementov živih bitij. Ocenjujejo, da je v mleku okoli 50 encimov. V mleko pridejo iz krvi, iz mlečne žleze, iz somatskih celic ali pa so produkti mikroorganizmov. V mleku najdemo naslednje encime: peroksidaze, katalaze, ksantinoksidaze, fosfataze, reduktaze, proteinaze, lipaze (Kapš, 2004).

2.2.6 Vitamini

Vitamini so majhne molekule različnih struktur. Mleko vsebuje vitamine, ki so topni v maščobah (A, D, E, K) in vitamine, ki so topni v vodi (B₁, B₂, PP (niacin), B₆, K, B₁₂, biotin, C, folna kislina, pantotenska kislina). Količina vitaminov v mleku močno niha, odvisna je od prehrane in zdravstvenega stanja živali (Miletić, 1994).

2.2.7 Mineralne snovi

V mleku je več kot 40 mineralov, kot so kalcij, fosfor, natrij, klor, pa tudi mikroelementov - železo, mangan, baker, cink, fluor, jod. Njihova količina je močno odvisna od prehrane živali. Največ mineralov je raztopljenih v obliki kalcijevih, kalijevih, natrijevih in magnezijevih soli (citratov, fosfatov, kloridov). Nahajajo pa se tudi v encimih, vitaminih in ovojnicah maščobnih kroglic. V prehrani sta najpomembnejša kalcij in fosfor, ki sta v mleku v zelo ugodnem medsebojnem razmerju. V mleku je malo železa in joda (Golc-Teger, 1995).

2.3 FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI MLEKA

2.3.1 Kislost mleka

Mleko je živilo, ki ima kisel značaj. Razloga za to so sestavine mleka ter mikrobiološko delovanje. Kislost mleka določamo s titracijskimi metodami (vsebnost titriranih kislih sestavin - kislinska stopnja) in merjenjem vrednosti pH. V Sloveniji je referenčna metoda za določanje kislosti mleka titracijska metoda po Soxhlet-Henflu. Aktivno kislost mleka izražamo s koncentracijo oksonijevih ionov oz. vrednostjo $\text{pH} = -\log[\text{H}_3\text{O}^+]$. Aktivno kislost svežega mleka merimo s pH-metrom in variira med 6,5 in 6,7 (Mavrin in Oštir, 2002).

2.3.2 Gostota mleka

Gostota (ρ) je razmerje med maso (m) in volumnom (V) neke snovi pri določeni temperaturi: $\rho = m/V$. Gostota mleka je odvisna od količine suhe snovi brez maščobe v mleku in količine maščobe v mleku, ki ima nižjo gostoto od 1 in se giblje od 0,930 do 0,950 g/cm³. Zaradi spreminjajočega se razmerja teh dveh količin gostota svežega polnomastnega mleka pri temperaturi 20 °C variira med 1,028 in 1,033 g/cm³. Gostota mleka je odvisna od temperature (Mavrin in Oštir, 2002).

2.3.3 Lomni količnik mleka

Lomni količnik je enak razmerju hitrosti svetlobe v vakuumu in hitrosti razširjanja svetlobe v določeni snovi (Rudan Tasič in Klofutar, 2007).

Lomni količnik kravjega mleka se giblje med 1,3440 do 1,3485 pri 20 °C. Mnogo pozornosti je bilo posvečeno možnosti uporabe lomnega količnika kot načina določanja suhe snovi ali dodane vode v mleko (Sherbon, 1988).

2.3.4 Zmrzišče mleka

Zmrzišče mleka je temperatura, pri kateri voda v mleku preide iz tekočega v trdno agregatno stanje. Odvisno od količine laktoze in mineralnih snovi zmrzišče variira od -0,52 do -0,56 °C. Sprememba teh vrednosti proti 0 °C kaže, da je mleku dodana voda. Odstopanja so možna tudi v mleku krav obolelih za mastitisom, v mleku, kateremu so dodani konzervansi in druge tuje snovi ter mleku s povišano stopnjo kislosti. Dodana voda znižuje koncentracijo laktoze in soli, od katerih je odvisno zmrzišče (Sabadoš, 1996).

2.3.5 Dielektrične lastnosti mleka

2.3.5.1 Permitivnost in faktor izgube

Dielektrične lastnosti odsevajo način in stopnjo interakcije živila oz. njegovih posameznih komponent z zunanjim električnim poljem. Segrevanje živila z elektromagnetnimi valovi (npr. mikrovalovi in radijskimi valovi) je odvisno od številnih spremenljivk, zlasti od permitivnosti živila, ki opisuje interakcijo med snovjo in mikrovalovi. Absolutna permitivnost trdnih, tekočih in plinastih snovi, ϵ_{abs} , je višja kot je vrednost za prazen prostor (vakuum), $\epsilon_0 = 8,854 \times 10^{-12}$ F m⁻¹ in jo običajno izražamo relativno glede na vrednost v vakuumu (Nyfors in Vainikainen, 1989), torej kot relativno permitivnost, ϵ_r :

$$\varepsilon_{\text{abs}} = \varepsilon_r \varepsilon_0 \quad \dots(1)$$

pri čemer pa oznako r običajno opuščamo, torej $\varepsilon_r = \varepsilon$. Visokofrekvenčna in mikrovalovna polja so sinusoidno časovno odvisna (časovno-harmonska), zato v praksi uporabljamo kompleksen način izražanja (Nyfors in Vainikainen, 1989). Torej je tudi permitivnost kompleksna količina z realno in imaginarno komponento (Ryynänen, 1995):

$$\varepsilon = \varepsilon' - j\varepsilon'' \quad \dots(2)$$

kjer je ε - relativna kompleksna permitivnost, ε' - relativna realna permitivnost (dielektrična konstanta), ε'' - relativni dielektrični faktor izgube in j - imaginarna enota. Realna komponenta permitivnosti, znana tudi kot dielektrična konstanta (ε'), je v zvezi s kapacitivnostjo snovi in njeno sposobnostjo oz. zmožnostjo skladiščenja električne energije; za vakuum je vrednost $\varepsilon' = 1$. Realna permitivnost, ε' , vpliva na električno polje vala, ki se širi skozi snov in posledično na spremembo razmerja med jakostjo električnega in magnetnega polja. Imaginarna komponenta, dielektrični faktor izgube, ε'' , pa je povezan z različnimi mehanizmi izgubljanja energije, je torej merilo za del porabljene energije v snovi (segrevanje); vrednost ε'' je vselej pozitivna in običajno mnogo manjša od vrednosti za ε' . Razmerje $\varepsilon''/\varepsilon'$ imenujemo naklon izgube, $\tan \delta$ (angl. *loss tangent*), kjer je $\tan \delta = \varepsilon''/\varepsilon'$ (Nyfors in Vainikainen, 1989). Za dielektrično segrevanje živil je zlasti odgovorna voda v živilih, saj vodni dipoli poskušajo slediti zunanjemu izmeničnemu polju in posledica tovrstnih rotacij vodnih molekul je toplota. Tudi ioni soli, ki so prisotne v živilih, povzročajo toploto zaradi t.i. ionske migracije pod vplivom zunanjega električnega polja. V splošnem so dielektrične lastnosti živil odvisne od kemijske sestave, temperature in frekvence uporabljenega elektromagnetnega valovanja. Poznavanje dielektričnih lastnosti živil je vsekakor pomembno za načrtovanje mikrovalovnih procesnih sistemov, v veliki meri zaradi efektov elektromagnetnega segrevanja ter sinergističnih efektov posameznih komponent na elektromagnetne lastnosti dotičnega živila.

2.3.5.2 Dielektrične lastnosti mleka

Ker je voda osnovna sestavina večine mlečnih izdelkov, vključno z mlekom, smetano, sladoledom, jogurtom in večino sirov, je za dielektrične lastnosti tovrstnih živil v glavnem odgovorna prav voda. Voda igra pomembno vlogo tudi v produktih z relativno nizko vsebnostjo vlage, npr. maslo (16 %) ali dehidrirani mlečni izdelki (2,5 do 4 %), saj vpliva na fizikalne, kemijske in mikrobiološke spremembe v omenjenih izdelkih. Večina starejših publikacij s področja dielektričnih lastnosti mlečnih izdelkov se nanaša na posneto mleko (npr. Mudgett in sod. 1971; Mudgett in sod. 1974), posamezne sestavine mleka oz. modelne mešanice mleka (Kudra s sod. 1992), ali sire (Everard s sod. 2006; Green, 1997), pri čemer so uporabljene frekvence pod 10 GHz. Novejši visokofrekvenčni izvori elektromagnetnega valovanja omogočajo študij dielektričnih lastnosti mlečnih izdelkov tudi do frekvence 20 GHz (Nunes in sod., 2006). Zanimivo pa je, da doslej v literaturi še ni bilo zaslediti uporabe dielektričnih lastnosti mleka za določitev potvorbe mleka.

2.4 POTVORBE MLEKA

Pojem kakovosti mleka in mlečnih izdelkov vključuje mnogo značilnosti, med katere spadajo:

- odsotnost nečistoč, antibiotikov, priokusov, patogenih mikroorganizmov in ustrezno nizko število somatskih celic, tj. ustrezna čistoča mleka;
- nepotvorjenost – mleko brez dodane vode, brez odvzetih maščob ali kako drugače potvorjeno mleko (npr. dodajanje delno hidrogeniranih rastlinskih olj, dodajanje rastlinskih proteinov, dodajanje kravjega mleka ovčjemu mleku ali kozjemu mleku) (De la Fuente in Juárez, 2005; Arvanitoyannis in Tzouros, 2005);
- značilna aroma in okus.

Oblike potvorb, kot so dodajanje vode, posnemanje ali dodajanje maščobe in dodajanje tekočega posnetega mleka lahko odkrijemo z merjenjem gostote in določanjem količine maščobe. Glukoza, trsni sladkor, sečnina, amonijev sulfat in nekatere druge snovi so poznani kot aditivi, uporabljeni za maskiranje učinka dodane vode v mleko. Metoda, značilna za ugotavljanje potvorbe mleka z vodo, to je merjenje zmrziščne točke, tu odpove. Zato se za detekcijo takšnih potvorb uporabljajo refraktometrija, diferencialna »scanning« kalorimetrija ali infrardeča spektroskopija (Goswani in Gupta, 2008).

Na osnovi testov za odkrivanje potvorbe mleka ter ustreznih fizikalnokemijskih analiz mleka lahko zagotovimo kvalitetno surovino pri odkupu mleka ter preverimo ustreznost deklaracije na proizvodu.

2.4.1 Metode za določanje potvorbe mleka z vodo

Če mleku dodamo vodo, se sestava in kakovost mleka spremenita. Številne države, med njimi tudi Slovenija, so predpisale merjenje zmrziščne točke mleka za ugotavljanje dodajanja vode v mleko in je parameter kakovosti pri odkupu mleka (Pravilnik o elementih za oblikovanje odkupne cene kravjega mleka, 2001).

Potvorbo mleka z vodo pa lahko ugotavljamo tudi z merjenjem gostote, določanjem suhe snovi in merjenjem refrakcije mlečnega seruma. Dodajanje vode v mleko znižuje gostoto mleka. Gostoto mleka merimo z laktodenzimetrom, ki deluje na principu Arhimedovega zakona ali s tehtanjem določenega volumna mleka (s piknometrom). Suho snov lahko ugotovimo s sušenjem vzorca do konstantne mase ali z merjenjem absorpcije IR svetlobe (FTIR spektrometrija) ali indirektno z računsko metodo po merjenju absorpcije IR svetlobe za maščobo, beljakovine in laktozo (filter IR spektrometrija). Refrakcijo mlečnega seruma merimo z refraktometrom; običajno so izmerjene vrednosti refrakcije med 39 in 41; znižanje števila pod spodnjo mejo lahko pomeni potvorbo mleka z vodo (Čanžek Majhenič in sod., 2007).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 VZORCI

3.1.1 Poreklo in kvaliteta vzorcev

Podatki o preiskovanih vzorcih mleka so podani v preglednici 2. Za vzorce mleka smo vsakič vzeli pol posneto mleko z 1,6 % mlečne maščobe, pasterizirano pri visoki temperaturi in homogenizirano, proizvajalca A; vzorci so bili nabavljeni in analizirani v petih zaporednih tednih. V šestem tednu smo za primerjavo analizirali mleko podobne sestave in kvalitete, proizvajalca B.

Preglednica 2: Opis vzorca in čas opravljanja analiz preiskovanih vzorcev mleka Proizvajalca A.

Vzorec/ začetek analiz	Opis vzorca / 100g izdelka v povprečju vsebuje		Rok uporabnosti in serija
1. vzorec/ 24. 03. 2009	energijska vrednost	193kJ/46kcal	29. 03. 2009 L2.09:31
2. vzorec/ 31. 03. 2009	beljakovine	3,2g	05. 04. 2009 L1.14:02
3. vzorec/ 07. 04. 2009	ogljikovi hidrati	4,6g	10. 04. 2009 L2.09:00
4. vzorec/ 14. 04. 2009	maščobe	1,6g	20. 04. 2009 L2.09:18
5. vzorec/ 21.04. 2009	kalcij	120mg (15 % RDA)	26. 04. 2009 L2.07:31

3.1.2 Priprava vzorcev za laboratorijske analize

Izhodni vzorec mleka smo segreli na 38 do 42 °C ter ga hitro ohladili na sobno temperaturo, tj. okoli 21 °C. Nato smo s tehtanjem ustreznih količin mleka in vode pripravili vzorce z naslednjimi masnimi deleži dodane vode: 20 %, 40 %, 60 % in 80 %. Tehtali smo s pomočjo tehtnice Mettler AT400 (TEH 1), ki meri z natančnostjo ±0,0001g. Vzorce smo dobro premešali in vsak vzorec porazdelili v 5 posodic (podvzorci za

posamezne analize). Pred določanjem kemijske sestave mleka z IR-spektrometrom, pred merjenjem dielektrične konstante, gostote in lomnega količnika smo vzorce mleka vedno predhodno segreli na 40 °C, nato pa hitro ohladili na sobno temperaturo.

3.2 METODE

3.2.1 Merjenje temperature zmrzišča mleka

Temperaturo zmrzišča mleka smo določali s krioskopsko metodo z instrumentom Advanced cryoscope Model 4250 (proizvajalec Advanced Instruments, ZDA). Pred merjenjem instrument kalibriramo z dvema standardoma in sicer s kalibracijskim standardom (standard 408) s temperaturo zmrzišča, $T_f = -0,408$ °C ter kalibracijskim standardom (standard 600) s temperaturo zmrzišča, $T_f = -0,600$ °C. Z referenčno raztopino Lactrol™ 530 naredimo kontrolo kalibracije. Za določitev temperature zmrzišča mleka odpipetiramo $2,5 \pm 0,1$ ml mleka z avtomatsko pipeto v epruveto. Vzorec mleka se v aparatu podhladi do primerne temperature. S pomočjo mehanične vibracije je inducirana kristalizacija, ki povzroči hiter dvig temperature do platoja, ki ustreza dejanskemu zmrzišču vzorca. Plato je dosežen, ko v zadnjih 20 sekundah dvig temperature ne presega 0,5 m°C. Rezultat predstavlja povprečje dveh meritev, zaokrožamo ga na sodo število, kot je zapisano v standardu SIST EN ISO 5764: 2002 Mleko – Določanje ledišča – Thermistor cryoscope method (referenčna metoda).

3.2.2 Določanje vrednosti pH

Vrednost pH vzorcev mleka smo merili s pH metrom Mettler Toledo MP 120. Na vrednost pH vpliva temperatura, kajti sprememba temperature povzroči spremembe v ravnotežju posameznih sestavin. Pred meritvami moramo pH meter kalibrirati s pufersko raztopino pH = 4,01 in pufersko raztopino pH = 7,00. Po kalibraciji elektrodo potopimo v vzorec in počakamo, da se umiri nihanje, oziroma, da se vzpostavi stabilen potencial ter odčitamo vrednost pH. Kot rezultat podamo aritmetično sredino dveh merenj.

3.2.3 Določanje kemijske sestave mleka z IR-spektroskopijo

Vsebnost maščobe, beljakovin, laktoze in suhe snovi v mleku smo določali z instrumentom MilkoScan FT 120 (proizvajalec Foss Electric, Danska). Princip delovanja je absorpcija infrardečega elektromagnetnega valovanja, pri čemer molekule preidejo na višje vibracijske nivoje; infrardečo spektroskopijo zato imenujemo tudi vibracijsko spektroskopijo. Signali za strukturne skupine, značilni za posamezno sestavino mleka, se pojavljajo pri naslednjih valovnih številih:

- 2874 cm^{-1} za maščobe (skupine CH_2);
- 1747 cm^{-1} za maščobe (skupine $\text{C}=\text{O}$);
- 1547 cm^{-1} za proteine (peptidne skupine $\text{N}-\text{H}$);
- 1041 cm^{-1} za laktozo (skupine $\text{C}-\text{OH}$) (Rudan Tasič in Klofutar, 2007).

Posamezne kemijske komponente mleka torej absorbirajo infrardeče žarke pri določeni valovni dolžini, absorpcija pa je sorazmerna njihovi koncentraciji. Pri filter IR tehniki je koncentracija določena na osnovi razlik absorpcije infrardeče svetlobe posameznih sestavin in referenčnih vrednosti. Od izvora infrardeče svetlobe potuje žarek skozi kiveto z vzorcem, kjer se absorbira infrardeča svetloba, do detektorja, ki zazna preostanek energije. Energija žarka je proporcionalna koncentraciji sestavin, ki jih merimo. Po ojačanju signala detektorja sledi pretvorba v digitalno obliko. S pomočjo matematičnega modela instrument izračuna koncentracijo sestavin. Količine suhe snovi instrument ne meri, ampak jo avtomatsko izračuna na osnovi predhodno izmerjenih vrednosti za količino maščobe, beljakovin in laktoze ter z upoštevanjem nastavitvene konstante za količino mineralov. MilkoScan FT 120 deluje po principu Fourier transformacijske infrardeče spektrometrije (FTIR). FTIR analizator omogoča merjenje na celotnem infrardečem spektru vzorca, kar omogoča merjenje tudi količine suhe snovi. Količina odvzetega vzorca za analizo je 9 ml. Dnevna postopka pri merjenju z MilkoScan FT 120 sta preizkus in uravnavanje ničelne točke. Določanje sestavin z instrumentalno metodo je indirektna metoda, zato je nujna kalibracija instrumenta na osnovi rezultatov klasičnih – referenčnih metod. Te so:

- gravimetrična metoda za določanje maščobe (Roese – Gotlieb metoda)
- Kjeldahlova metoda za določanje beljakovin
- encimska metoda za določanje laktoze ter
- gravimetrična metoda za določanje suhe snovi – sušenje pri $102 \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ do konstantne teže.

Metodo IR spektroskopije opisuje mednarodni standard IDF 141C:2000 Whole milk - Determination of milk fat, protein and lactose. Guidance for the operation of mid-infrared instruments (IDF 141C:2000).

3.2.4 Določanje količine vode oz. suhe snovi v mleku

Količino vode oz. suhe snovi v originalnih vzorcih mleka (nepotvorjeno mleko) sem določala gravimetrično v treh vzporednih določitvah. Najprej sem stehala tri prazne steklene tehtiče s pokrovom (masa m_1). Nato sem v vsakega zatehtala po približno 2 g soli Na_2SO_4 , predhodno 12 ur sušene pri $120\text{ }^\circ\text{C}$, si zabeležila maso tehtiča s soljo (masa m_2), s pipeto nato dodala še $2,0\text{ cm}^3$ vzorca mleka ter ponovno stehala (masa m_3). Tako pripravljen vzorec smo evakuirali nad svežim P_2O_5 v vakuumskem eksikatorju vsaj dve uri z vodno črpalko do tlaka približno $1,6\text{ kPa}$, nato pa v vakuumskem sušilniku (Cole Palmer) še 24 ur pri tlaku približno $0,1\text{ kPa}$. Po približno 24 urah sušenja sem določila maso tehtiča z Na_2SO_4 in suho snovjo (masa m_4). Relativno količino vode v mleku, W (%), sem izračunala z relacijo:

$$W(\%) = \frac{m_3 - m_4}{m_3 - m_2} \times 100 \quad \dots(3)$$

in relativno količino suhe snovi, SS (%) z relacijo:

$$SS(\%) = \frac{m_4 - m_2}{m_3 - m_2} \times 100 \quad \dots(4)$$

3.2.5 Določanje gostote

Gostoto mleka sem določila z oscilacijskim digitalnim denzimetrom PARR DMA5000. Denzimeter sem umerjala z destilirano prekuhano vodo in zrakom pri temperaturah 20 °C in 25 °C, po v denzimeter vprogramiranem postopku umerjanja. Med posameznimi meritvami sem merilno celico denzimetra čistila z destilirano vodo, s čistilom za maščobe, čistilom za beljakovine ter acetonom; merilno celico aparata sem osušila s prepihanjem z zrakom. Pogrešek pri določanju gostote je bil manjši od $1 \times 10^{-5} \text{ g cm}^{-3}$.

3.2.6 Merjenje lomnega količnika

Lomni količnik mleka sem merila z refraktometrom DUR-W2 (proizvajalec Schmidt + Haensch ^{GmbH & Co.}, Nemčija).

Lomni količnik je razmerje med hitrostjo svetlobe v vakuumu (ali zraku), c in njeno hitrostjo v določeni snovi, c_1 , $n = c / c_1$. Enak je kvocientu med sinusom vpadnega in sinusom lomnega kota pri prehodu svetlobe iz vakuumu (zraka) v snov, $n = \sin \alpha / \sin \beta$ (Rudan Tasič in Klofutar, 2007). Ker je lomni količnik odvisen od temperature, moramo merilno celico termostatirati. Običajno določamo lomni količnik pri standardni valovni dolžini 589,26 nm (natrijeva D-črta) in za lomni količnik uporabimo oznako n_D . Meritve n_D sem z omenjenim refraktometrom izvajala z natančnostjo $\pm 2 \times 10^{-5}$.

3.2.7 Merjenje dielektrične konstante in faktorja izgube mleka

Dielektrično konstanto in faktor izgube sem merila z merilnim sistemom proizvajalca Agilent Technologies (Slika 1). Merilni sistem vključuje merilno sondo (Model No. 85070E) s pripadajočo merilno opremo (angl. dielectric probe kit), povezano z visokofrekvenčnim (9kHz-8,5GHz) mrežnim analizatorjem (model E5071C, ENA Series, Agilent Technologies, California, USA), podprtega z uporabo programskega paketa

85070E (integriran Hewlett Packard osebni računalnik). Vse nastavitve in krmiljenje za izvajanje meritev se izvajajo preko povezanega drugega Hewlett Packard osebnega računalnika, oz. na njem naloženega delovnega programa 85070, vključno s programom za termostatiranje. Sistem smo kalibrirali z uporabo treh standardov, to je zraka, izvedbo kratkega stika (angl. a short circuit) ter z destilirano vodo pri 25 °C. Temperatura vsakega vzorca je bila zabeležena neposredno pred dielektričnim merjenjem. Za izvedbo in kontrolo termostatiranja je v merilni sistem vključena termostatska kopel (Fluke 7320), platinasti uporovni termometer Fluke 5627A (merilno območje od -200 °C do 420 °C) ter digitalni termometer (Fluke 1502A) z natančnostjo $\pm 0,006$ °C. S pomočjo mrežnega analizatorja sem poleg meritev dielektričnih lastnosti mleka in vode pri konstantni frekvenci $\nu = 2,45$ GHz posnela tudi dielektrični spekter vode in mleka v območju od 700 MHz do 8,5 GHz pri 25 °C. Vse meritve dielektričnih lastnosti sem izvedla vsaj v treh paralelnih določitvah za vsak vzorec. Omenjena natančnost pri termostatiranju vzorca omogoča določitev dielektrične konstante na $< \pm 0,10$ % in faktorja izgube na $< \pm 0,20$ % natančno, kar je mnogo boljše kot navajajo nekateri podatki iz literature, npr. Kent in sod. (2001) (od 1 % do 4 % za dielektrično konstanto), Fuchs in Kaatze (2002) (od 5 % do 7 % za faktor izgube).



Slika 1: Fotografija sistema za merjenje dielektričnih lastnosti snovi.

3.2.7.1 Kontrola merilne sonde

Za kontrolo delovanja merilne sonde sem uporabila bidestilirano vodo, ki sem ji izmerila dielektrično konstanto, ε' in faktor izgube, ε'' pri temperaturi 25 °C in frekvenci, $\nu = 2,50$ GHz ter omenjene vrednosti primerjala s podatki iz literature (Barthel in sod., 1995). Meritve sem izvedla v desetih paralelnih določitvah, katerih povprečne vrednosti ter standardni odklon so pokazane v preglednici 3. Kot je razvidno iz omenjene preglednice, se eksperimentalne vrednosti dielektrične konstante v okviru eksperimentalne napake ujemajo s podatkom iz literature, vrednost za faktor izgube pa je nekoliko nižja od literarnega podatka. Merilno sondo sem na opisani način z vodo redno dnevno kontrolirala (vsaj dve paralelni določitvi) tudi med merjenjem dielektričnih lastnosti preiskovanih vzorcev mleka.

Preglednica 3: Eksperimentalno določena ter po literaturi povzeta vrednost dielektrične konstante in faktorja izgube za vodo pri temperaturi 25 °C in frekvenci, $\nu = 2,50$ GHz.

Dielektrična lastnost	Eksperiment	Literatura*
ε'	76,799±0,048	76,664±0,481
ε''	9,039±0,018	9,399±0,038

*[Barthel in sod., 1995]

3.2.8 Statistične metode

Za vse izračune sem uporabila osebni računalnik in paket za statistično obdelavo podatkov ORIGIN (Origin™ User's Manual, 1995).

3.2.8.1 Enostavni statistični parametri

- aritmetična sredina meritev – srednja vrednost (\bar{x})
- napaka aritmetične sredine – standardni pogrešek (*SD*)
- koeficient variacije (%) - *KV*

3.2.8.2 Linearna regresijska analiza

Za ugotavljanje vpliva masnega deleža dodane vode v mleku na določene fizikalnokemijske parametre (npr. gostoto, lomni količnik, specifično polarizacijo) sem uporabila linearno regresijsko analizo. Z metodo najmanjših kvadratov sem izračunala parametre premice, tj. odsek in naklon premice, njun standardni pogrešek (*SD*), kvadrat korelacijskega koeficienta premice (r^2) in standardni pogrešek določitve (*SD*) (Skoog in sod., 1998).

3.2.8.3 Nelinearna regresijska analiza

Ker dielektrična konstanta in faktor izgube nista linearno odvisna od temperature, sem za ugotavljanje odvisnosti omenjenih dielektričnih parametrov od temperature uporabila nelinearno regresijsko analizo. Podobno velja tudi za ugotavljanje vpliva masnega deleža dodane vode na omenjena dielektrična parametra, na specifično refrakcijo in temperaturo zmrzišča mleka. Empirične konstante danih relacij, kvadrat korelacijskega koeficienta relacije (r^2) in standardni pogrešek relacije (SD) sem izračunala z metodo najmanjših kvadratov.

3.2.8.4 Večkratna linearna regresijska analiza

Ker sem z linearno regresijsko analizo ugotovila značilne korelacije med masnim deležem dodane vode in koncentracijo posamezne komponente mleka, kot tudi med večino proučevanih fizikalnih parametrov in koncentracijo posamezne komponente mleka, sem izračunala tudi skupen vpliv koncentracij ali več fizikalnih parametrov na proučevano lastnost mleka, tj. na njegovo ne/potvorjenost oz. na določitev masnega deleža (%) dodane vode v mleko. Pri tem sem uporabila metodo večkratne regresijske analize, s katero sem z metodo najmanjših kvadratov izračunala ustrezne parametre, kvadrat korelacijskega koeficienta relacije (r^2) in standardni pogrešek relacije (SD).

4 REZULTATI

4.1 REZULTATI KEMIJSKE ANALIZE MLEKA

V preglednicah 4 do 8 so zbrani rezultati meritev vsebnosti beljakovin, laktoze, maščob in suhe snovi ter vrednosti pH za vzorce mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode za obdobje petih tednov. V preglednici 9 so za primerjavo predstavljeni rezultati meritev kemijske sestave ter zmrzišča za vzorec mleka Proizvajalca B, prav tako z različnim masnim deležem dodane vode. Kot je razvidno iz preglednic 4 do 9 med vzorci mleka Proizvajalca A, z istim masnim deležem dodane vode, tekom preiskovanega obdobja petih tednov ni opaziti značilnih razlik v kemijski sestavi homogeniziranega in delno posnetega mleka. V okviru eksperimentalne napake se tudi kemijska sestava homogeniziranega in delno posnetega mleka proizvajalca B ujema s podatki kemijske analize za mleko Proizvajalca A. Z dodajanjem vode oz. razredčitvijo, se vsebnost beljakovin, laktoze in maščobe ustrezno zmanjšuje, posledično tudi vrednost suhe snovi; vrednost pH z razredčenjem rahlo narašča.

Preglednica 4: Vsebnost beljakovin, B (g/100 g), laktoze, L (g/100g), maščob, M (g/100g) in suhe snovi, SS (g/100g) ter vrednost pH v vzorcih mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); prvi vzorec.

w (%)	B (g/100 g)	L (g/100g)	M (g/100g)	SS (g/100g)	pH
0	3,447	4,636	1,650	10,882	6,68
20	2,870	3,797	1,329	8,961	6,73
40	2,309	2,962	1,023	7,080	6,80
60	1,755	2,155	0,705	5,226	6,89
80	1,206	1,357	0,391	3,390	7,02

Preglednica 5: Vsebnost beljakovin, B (g/100 g), laktoze, L (g/100g), maščob, M (g/100g) in suhe snovi, SS (g/100g) ter vrednost pH v vzorcih mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); drugi vzorec.

w (%)	B (g/100 g)	L (g/100g)	M (g/100g)	SS (g/100g)	pH
0	3,496	4,645	1,664	10,969	6,68
20	2,901	3,797	1,335	9,008	6,74
40	2,336	2,981	1,019	7,130	6,80
60	1,776	2,164	0,713	5,269	6,88
80	1,209	1,363	0,394	3,403	7,02

Preglednica 6: Vsebnost beljakovin, B (g/100 g), laktoze, L (g/100g), maščob, M (g/100g) in suhe snovi, SS (g/100g) ter vrednost pH v vzorcih mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); tretji vzorec.

w (%)	B (g/100 g)	L (g/100g)	M (g/100g)	SS (g/100g)	pH
0	3,449	4,641	1,665	10,905	6,64
20	2,880	3,802	1,346	8,997	6,72
40	2,313	2,979	1,026	7,106	6,76
60	1,757	2,167	0,707	5,242	6,84
80	1,212	1,357	0,392	3,398	6,98

Preglednica 7: Vsebnost beljakovin, B (g/100 g), laktoze, L (g/100g), maščob, M (g/100g) in suhe snovi, SS (g/100g) ter vrednost pH v vzorcih mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); četrti vzorec.

w (%)	B (g/100 g)	L (g/100g)	M (g/100g)	SS (g/100g)	pH
0	3,465	4,659	1,677	10,956	6,63
20	2,886	3,812	1,355	9,024	6,68
40	2,321	2,979	1,036	7,126	6,75
60	1,764	2,171	0,723	5,270	6,82
80	1,215	1,367	0,399	3,419	6,95

Preglednica 8: Vsebnost beljakovin, B (g/100 g), laktoze, L (g/100g), maščob, M (g/100g) in suhe snovi, SS (g/100g) ter vrednost pH v vzorcih mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); peti vzorec.

w (%)	B (g/100 g)	L (g/100g)	M (g/100g)	SS (g/100g)	pH
0	3,395	4,591	1,667	10,788	6,72
20	2,839	3,760	1,346	8,902	6,80
40	2,284	2,942	1,026	7,032	6,87
60	1,732	2,130	0,705	5,171	6,90
80	1,200	1,345	0,388	3,367	7,02

Preglednica 9: Vsebnost beljakovin, B (g/100 g), laktoze, L (g/100g) in maščob, M (g/100g) in suhe snovi, SS (g/100g) ter zmrzišče za vzorce mleka Proizvajalca B z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); šesti vzorec.

w (%)	B (g/100 g)	L (g/100g)	M (g/100g)	SS (g/100g)	T _f (°C)
0	3,355	4,567	1,586	10,628	-0,511
20	2,803	3,751	1,288	8,786	-0,400
40	2,256	2,938	0,985	6,950	-0,293
60	1,719	2,146	0,684	5,148	-0,192
80	1,183	1,352	0,379	3,344	-0,093

V sklopu kemijske analize mleka sem količino vode in suhe snovi določila tudi gravimetrično in sicer v originalnih vzorcih mleka Proizvajalca A. Primerjava gravimetričnih in IR-rezultatov za drugi, tretji in četrti vzorec je podana v preglednici 10.

Preglednica 10: Gravimetrični in IR-spektrometrični podatki o količini suhe snovi, SS (%) in vode, W (%) v preiskovanih vzorcih mleka Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 % brez dodane vode.

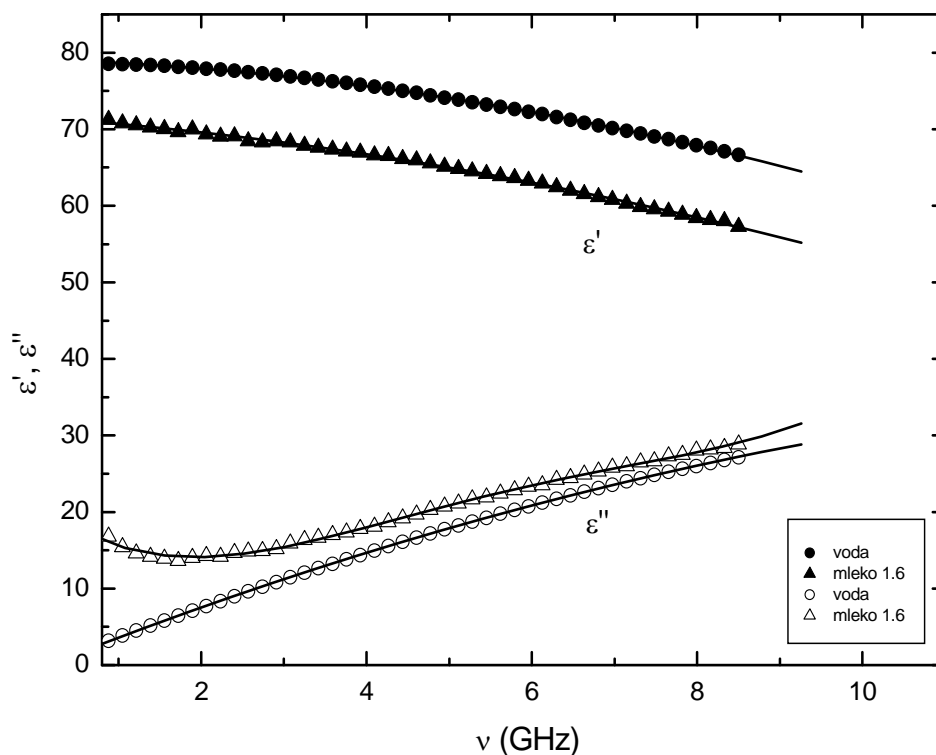
Komponenta	Vzorec	Gravimetrija	IR-spektrometrija
SS (%)	drugi	11,743±0,007	10,969±0,001
	tretji	11,494±0,011	10,905±0,012
	četrti	11,501±0,007	10,956±0,018
W(%)	drugi	88,257±0,007	-
	tretji	88,506±0,011	-
	četrti	88,499±0,007	-

Kot je razvidno iz preglednice 10, je gravimetrično določena količina suhe snovi večja od IR-spektrometričnih podatkov. Ker so le-ti pridobljeni z indirektno metodo in je kalibracija za suho snov izvedena po standardu ISO 6713: Milk, cream and evaporated milk – Determination of total solids content (Reference method), ki se razlikuje od metode sušenja, uporabljene v našem poskusu, podatkov o suhi snovi v mleku (nerazredčeni in razredčeni vzorci) tekom nadaljnjih analiz nismo več interpretirali. Podatki o vsebnosti vode, ki jo vsebuje nepotvorjeno mleko (preglednica 10) pa so v mejah pričakovanih vrednosti. Enako velja za aktivno kislost izvornega, nepotvorjenega mleka, ki je v predpisanih mejah (preglednice 4 do 8), tj. v intervalu mejnih vrednosti pH, ki se gibljejo med 6,3 in 6,9 (Mavrin in Oštir, 2002). Podobno kot podatkov za suho snov tudi podatkov o pH-vrednostih nismo vklopili v nadaljnjo obdelavo analiznih rezultatov in sicer zaradi premajhne občutljivosti merilnika na spremembo vrednosti pH pri razredčevanju mleka.

4.2 REZULTATI FIZIKALNIH MERITEV MLEKA

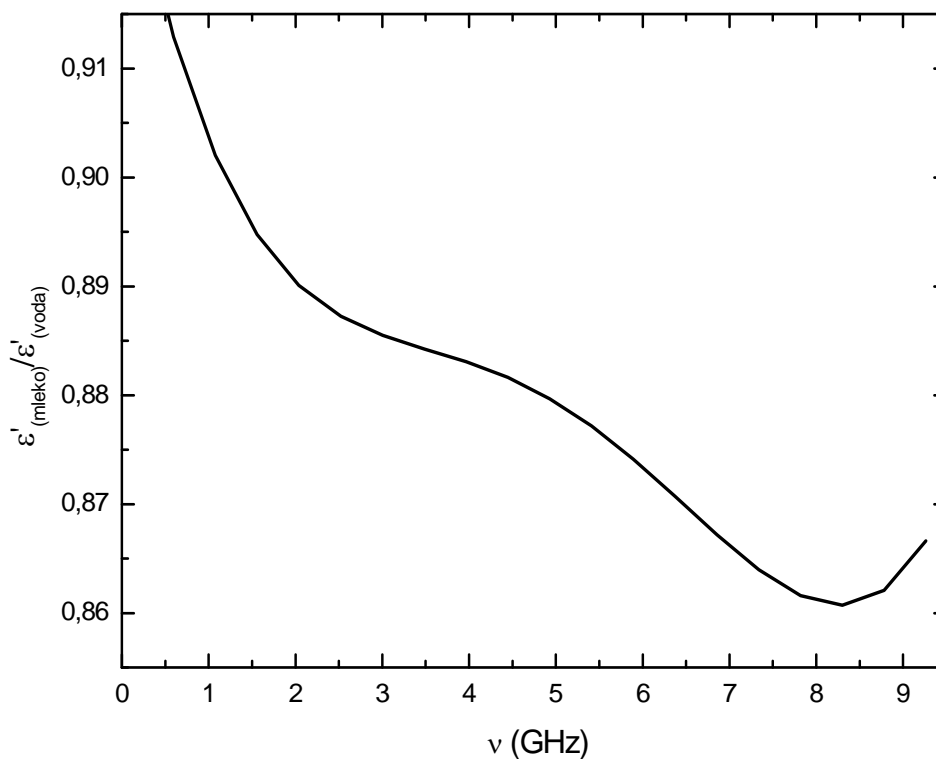
4.2.1 Odvisnost dielektričnih lastnosti vode in mleka od frekvence

Na sliki 2 je predstavljen dielektrični spekter za kalibracijski standard (deionizirana destilirana voda) in homogenizirano delno posneto mleko Proizvajalca A brez dodane vode (peti vzorec), tj. z vsebnostjo maščobe 1,6 % v frekvenčnem območju od 0,70 do 8,50 GHz z velikostjo koraka 0,17 GHz in pri temperaturi 25 °C (podatke za spekter glej v Prilogi A in B). Za vodo ϵ' rahlo pada s naraščajočo frekvenco. Realni del spektra za mleko, tj. ϵ' , je zelo podoben realnemu spektru za vodo, le da so vrednosti nižje kot za vodo. Imaginarni del permitivnosti vzorca mleka, ϵ'' , je pri nižjih frekvencah opazno višji kot za vodo. To lahko pripišemo predvsem prisotnosti soli v mleku, delno tudi proteinom, saj prevodnost ionov v raztopinah pomembno prispeva k faktorju izgube, zlasti pri nižjih frekvencah (Ryynänen, 1995).

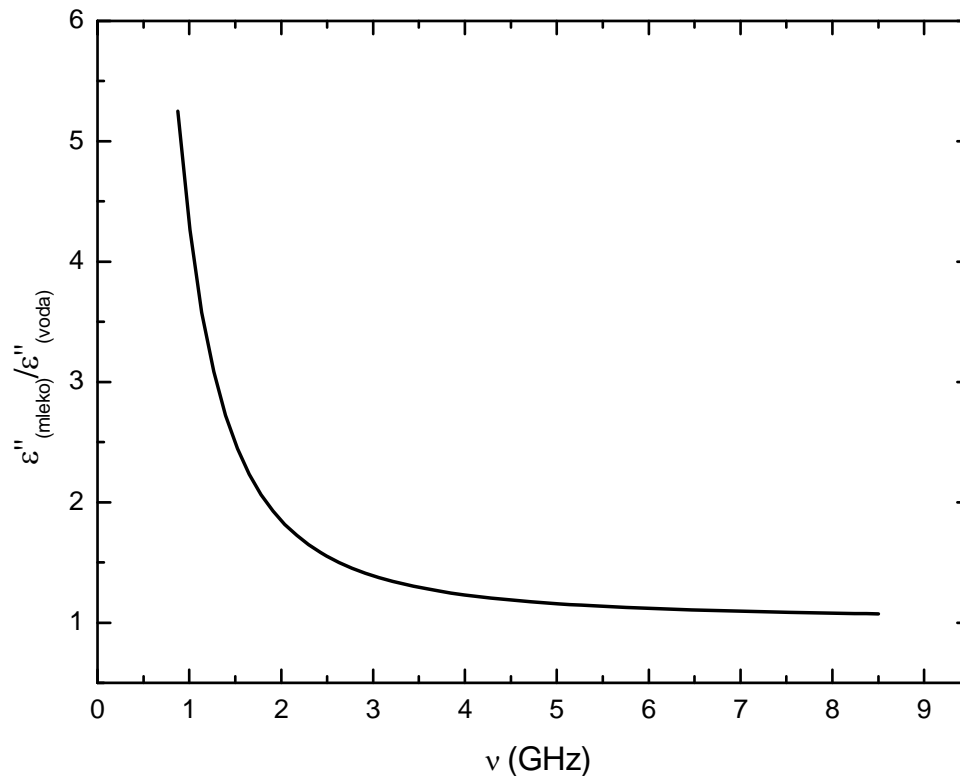


Slika 2: Mikrovalovni dielektrični spekter deionizirane destilirane vode in homogeniziranega delno posnetega mleka Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 %; peti vzorec; ϵ' - dielektrična konstanta, ϵ'' - faktor izgube.

Odklon spektra za mleko od spektra za vodo še bolj nazorno predstavimo z odvisnostjo razmerja $\varepsilon'_{(\text{mleko})}/\varepsilon'_{(\text{voda})}$ od frekvence, ν , oz. razmerja $\varepsilon''_{(\text{mleko})}/\varepsilon''_{(\text{voda})}$ od frekvence, tj. z diagramom $\varepsilon'_{(\text{mleko})}/\varepsilon'_{(\text{voda})}$ vs. ν in diagramom $\varepsilon''_{(\text{mleko})}/\varepsilon''_{(\text{voda})}$ vs. ν ; omenjeni odvisnosti prikazujeta slika 3 in slika 4.

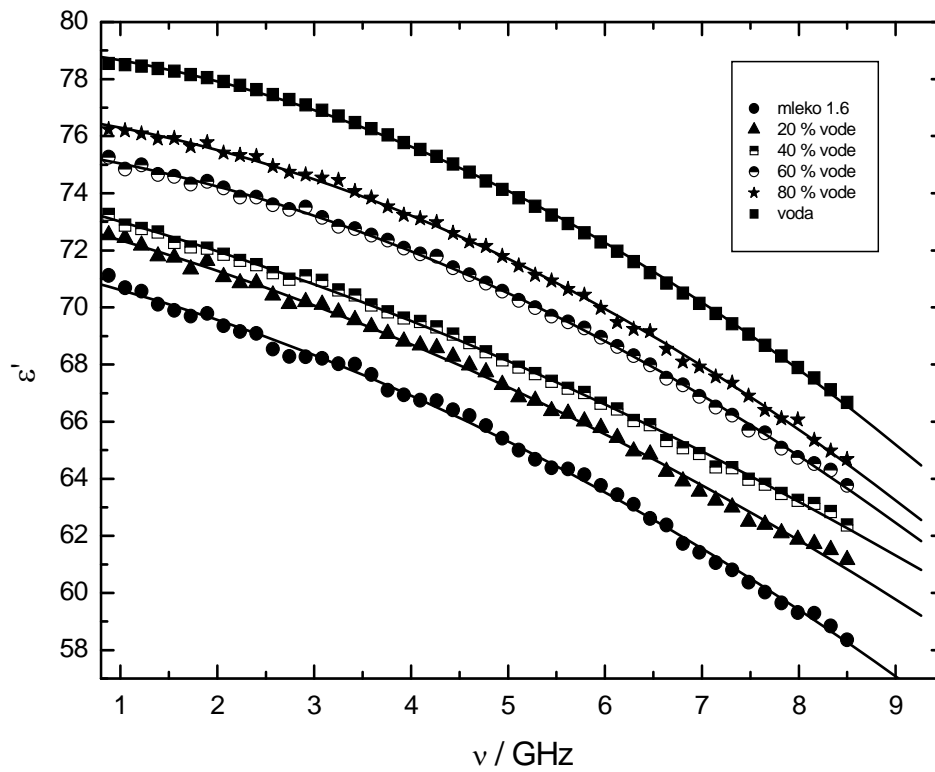


Slika 3: Odvisnost razmerja med dielektrično konstanto za homogenizirano delno posneto mleko Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 % (peti vzorec) in za deionizirano destilirano vodo, $\varepsilon'_{(\text{mleko})}/\varepsilon'_{(\text{voda})}$, od frekvence, ν .

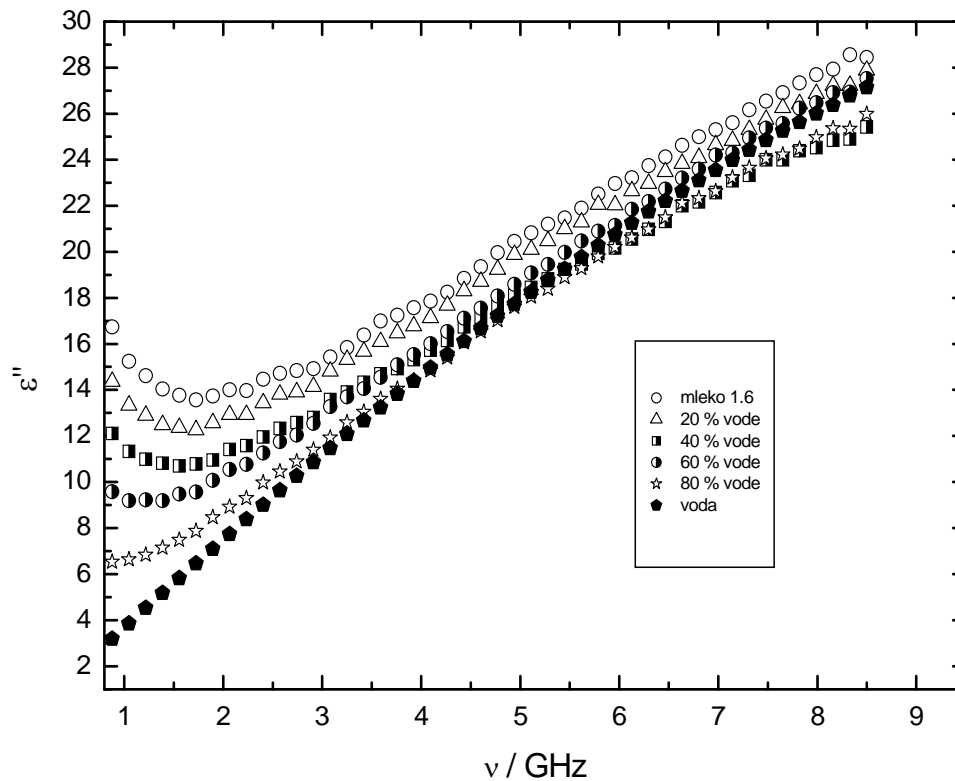


Slika 4: Odvisnost razmerja med faktorjem izgube, ϵ'' , za homogenizirano delno posneto mleko Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 % (peti vzorec) in za deionizirano destilirano vodo, $\epsilon''_{\text{(mleko)}} / \epsilon''_{\text{(voda)}}$, od frekvence, ν .

Poleg vzorca homogeniziranega in delno posnetega mleka Proizvajalca A iz petega tedna preiskav – peti vzorec (slika 2) sem posnela dielektrični spekter tudi za vse razredčene primere omenjenega vzorca mleka, tj. za mleko z različnim masnim deležem dodane destilirane deionizirane vode. Kot je razvidno iz slike 5 in slike 6, se spektri za mleko z naraščajočim razredčenjem čedalje bolj približujejo spektru za vodo. Ker se maksimalna razredčitev mleka najbolj odraža pri znižanju vsebnosti maščobe v mleku (v primerjavi z vsebnostjo beljakovin in laktoze), je smiselno opozoriti na očiten vpliv, ki ga ima znižanje koncentracije maščobe v mleku na vrednost permitivnosti mleka; le-ta z razredčenjem mleka narašča, kar kaže slika 5, saj je voda tudi močno polarna (velik dipolni moment) v primerjavi z maščobami (mnogo manjši dipolni moment). Poleg razredčenja pa seveda tudi hidrofilitnost ostalih, nemaščobnih komponent v mleku vpliva na permitivnost vzorca (Ryyänen, 1995). Z razredčenjem mleka faktor izgube po pričakovanju pada (slika 6) na račun manjše ionske prevodnosti, pri čemer tudi večja hidratacija ionov ni zanemarljiva.



Slika 5: Odvisnost dielektrične konstante, ϵ' , od frekvence za homogenizirano in delno posneto mleko Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 % in različnim masnim deležem dodane vode; peti vzorec.



Slika 6: Odvisnost faktorja izgube, ε'' , od frekvence za homogenizirano in delno posneto mleko Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 % in različnim masnim deležem dodane vode; peti vzorec.

4.2.2 Dielektrične lastnosti mleka pri frekvenci 2,45 GHz

Večina podatkov za dielektrične lastnosti živil se nanaša na frekvenci 915 MHz in 2450 MHz. Kot kažejo raziskave je namreč temperaturni profil živil pri omenjenih frekvencah odvisen tako od dielektrične lastnosti kot tudi od faktorja izgube, kar velja za večino živil (Sipahioglu in Barringer, 2003; Liao in sod., 2002; Everard in sod., 2006). Zato sem tudi sama merjenja dielektričnih lastnosti preiskovanih vzorcev mleka izvajala pri frekvenci 2450 MHz oz. 2,45 GHz. V preglednicah 11 do 15 so zbrani podatki dielektričnih merjenj, gostote, lomnega količnika in temperature zmrzišča za vzorce mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode.

Preglednica 11: Dielektrična konstanta in faktor izgube (frekvenca 2,45 GHz), gostota in lomni količnik pri 25,0 °C ter zmrzišče za preiskovane vzorce mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); prvi vzorec.

w (%)	ϵ'	ϵ''	ρ (g/cm ³)	n_D	T_f (°C)
0	69,411	15,088	1,03073	1,34913	-0,514
20	70,645	14,082	1,02390	1,34600	-0,400
40	72,223	12,807	1,01711	1,34255	-0,294
60	73,675	11,580	1,01036	1,33922	-0,191
80	75,422	10,448	1,00370	1,33575	-0,093

Preglednica 12: Dielektrična konstanta in faktor izgube (frekvenca 2,45 GHz), gostota in lomni količnik pri 25,0 °C ter zmrzišče za preiskovane vzorce mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); drugi vzorec.

w (%)	ϵ'	ϵ''	ρ (g/cm ³)	n_D	T_f (°C)
0	69,408	15,206	1,03103	1,34930	-0,515
20	70,760	14,021	1,02410	1,34592	-0,402
40	72,277	12,847	1,01724	1,34251	-0,294
60	73,664	11,525	1,01046	1,33908	-0,192
80	75,450	10,371	1,00374	1,33575	-0,094

Preglednica 13: Dielektrična konstanta in faktor izgube (frekvenca 2,45 GHz), gostota in lomni količnik pri 25,0 °C ter zmrzišče za preiskovane vzorce mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); tretji vzorec.

w (%)	ϵ'	ϵ''	ρ (g/cm ³)	n_D	T_f (°C)
0	69,399	15,252	1,03090	1,34925	-0,518
20	70,853	14,073	1,02401	1,34590	-0,404
40	72,281	12,803	1,01718	1,34255	-0,297
60	73,904	11,552	1,01041	1,33909	-0,195
80	75,456	10,370	1,00371	1,33594	-0,097

Preglednica 14: Dielektrična konstanta in faktor izgube (frekvenca 2,45 GHz), gostota in lomni količnik pri 25,0 °C ter zmrzišče za preiskovane vzorce mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); četrti vzorec.

w (%)	ϵ'	ϵ''	ρ (g/cm ³)	n_D	T_f (°C)
0	69,411	15,246	1,03089	1,34950	-0,516
20	70,762	14,150	1,02400	1,34600	-0,402
40	72,338	12,910	1,01715	1,34264	-0,296
60	73,844	11,734	1,01039	1,33925	-0,194
80	75,469	10,392	1,00370	1,33580	-0,097

Preglednica 15: Dielektrična konstanta in faktor izgube (frekvenca 2,45 GHz), gostota in lomni količnik pri 25,0 °C ter zmrzišče za preiskovane vzorce mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); peti vzorec.

w (%)	ϵ'	ϵ''	ρ (g/cm ³)	n_D	T_f (°C)
0	69,419	15,239	1,03049	1,34928	-0,514
20	70,822	14,055	1,02365	1,34589	-0,402
40	72,299	12,957	1,01688	1,34233	-0,295
60	73,750	11,619	1,01024	1,33910	-0,194
80	75,318	10,395	1,00362	1,33578	-0,096

Kot so pokazali že rezultati merjenja kemijske sestave vzorcev homogeniziranega in delno posnetega mleka Proizvajalca A (preglednice 4 do 8), ni bilo značilne variacije v kemijskem sestavu mleka v preiskovanem obdobju. Podobno ugotovitev kažejo tudi rezultati fizikalnih meritev v preglednicah 11 do 15. Zato sem za nadaljnjo obdelavo vseh fizikalnokemijskih meritev (razen meritev vrednosti pH), tj. za ugotavljanje njihove medsebojne korelacije, uporabila kar povprečne vrednosti posameznih kemijskih in fizikalnih parametrov, izmerjenih v omenjenem obdobju petih tednov (preglednica 16). Kot je razvidno iz preglednice 16, je koeficient variacije z ozirom na kemijsko sestavo manjši od 1 % (beljakovine, maščobe), oziroma celo 0,6 % v primeru laktoze. V primeru fizikalnih meritev so vrednosti koeficienta variacije večinoma še manjše, npr. pri gostoti, lomnem količniku in dielektrični konstanti.

Preglednica 16: Vsebnost beljakovin, laktoze in maščob, vrednost pH, gostota, lomni količnik, dielektrična konstanta in faktor izgube (frekvenca 2,45 GHz) pri 25,0 °C ter temperatura zmrzišča za preiskovane vzorce mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%); povprečne vrednosti merjenih količin za obdobje petih tednov.

w (%)	0	20	40	60	80
$B \pm \sigma$ (g/100g)	$3,405 \pm 0,037$	$2,875 \pm 0,023$	$2,312 \pm 0,019$	$1,757 \pm 0,016$	$1,208 \pm 0,006$
KV (%)	1,09	0,80	0,82	0,91	0,50
$L \pm \sigma$ (g/100g)	$4,634 \pm 0,026$	$3,794 \pm 0,020$	$2,969 \pm 0,017$	$2,164 \pm 0,06$	$1,361 \pm 0,005$
KV (%)	0,56	0,53	0,57	0,28	0,37
$M \pm \sigma$ (g/100g)	$1,665 \pm 0,010$	$1,342 \pm 0,010$	$1,026 \pm 0,006$	$0,711 \pm 0,007$	$0,393 \pm 0,004$
KV (%)	0,60	0,75	0,58	0,98	1,02
$pH \pm \sigma$	$6,67 \pm 0,04$	$6,73 \pm 0,04$	$6,97 \pm 0,05$	$6,86 \pm 0,03$	$6,99 \pm 0,03$
KV (%)	0,54	0,59	0,74	0,44	0,43
$\rho \pm \sigma$ (g/cm ³)	$1,03081 \pm 0,00021$	$1,02393 \pm 0,00017$	$1,01711 \pm 0,00014$	$1,01037 \pm 0,00008$	$1,00370 \pm 0,00004$
KV (%)	0,02	0,02	0,01	0,01	0,00
$n_D \pm \sigma$	$1,34929 \pm 0,00013$	$1,34594 \pm 0,00005$	$1,34252 \pm 0,00011$	$1,33915 \pm 0,00008$	$1,33580 \pm 0,00008$
KV (%)	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01
$\varepsilon' \pm \sigma$	$69,410 \pm 0,007$	$70,768 \pm 0,105$	$72,284 \pm 0,042$	$73,767 \pm 0,105$	$75,423 \pm 0,061$
KV (%)	0,01	0,15	0,06	0,14	0,08
$\varepsilon'' \pm \sigma$	$15,206 \pm 0,068$	$14,072 \pm 0,048$	$12,865 \pm 0,067$	$11,602 \pm 0,082$	$10,395 \pm 0,032$
KV (%)	0,45	0,34	0,52	0,71	0,31
$T_f \pm \sigma$ (°C)	$-0,515 \pm 0,002$	$-0,402 \pm 0,001$	$-0,295 \pm 0,001$	$-0,193 \pm 0,002$	$-0,095 \pm 0,002$
KV (%)	0,39	0,25	0,34	1,04	2,10

σ – standardna deviacija

KV -koeficient variacije

4.2.3 Specifična refrakcija in specifična polarizacija

Izraz, ki je neodvisen od stanja snovi, ampak je pri določeni frekvenci svetlobe odvisen samo od strukture molekul, atomov ali ionov, se imenuje specifična refrakcija, r_s (cm³/g).

Na osnovi podatkov za gostoto in lomni količnik v preglednici 16 sem za preiskovane vzorce mleka izračunala specifično refrakcijo z uporabo *Lorenz-Lorenz*-ove relacije (Pomeranz in Meloan, 1994):

$$r_s = \frac{n_D^2 - 1}{n_D^2 + 2} \cdot \frac{1}{\rho} \quad \dots(5)$$

Podobno sem na osnovi podatkov za gostoto in dielektrično konstanto v preglednici 16 za preiskovane vzorce mleka izračunala tudi specifično polarizacijo, p_s (cm³/g) po *Debye*-vi enačbi (Atkins in Paula, 2002):

$$p_s = \frac{\varepsilon' - 1}{\varepsilon' + 2} \cdot \frac{1}{\rho} \quad \dots (6)$$

Preglednica 17: Specifična refrakcija in specifična polarizacija za preiskovane vzorce mleka Proizvajalca A z različnim masnim deležem dodane vode, w (%) pri 25,0 °C (povprečne vrednosti).

w (%)	r_s (cm ³ /g)	p_s (cm ³ /g)
0	0,20836	0,92936
20	0,20794	0,93637
40	0,20747	0,94347
60	0,20699	0,95055
80	0,20650	0,95771

Kot je razvidno iz preglednice 17 z razredčenjem specifična refrakcija mleka upada, njegova specifična polarizacija pa narašča. Omenjeno opažanje je razumljivo, saj z razredčevanjem mleka pada tako vrednost lomnega količnika kot gostote, narašča pa vrednost dielektrične konstante, saj se povečuje delež močno polarne komponente, to je vode.

4.2.4 Odvisnost dielektričnih lastnosti mleka od temperature

4.2.4.1 Odvisnost dielektrične konstante in faktorja izgube od temperature

Odvisnost dielektričnih lastnosti izvornega vzorca, t.j. homogeniziranega delno posnetega mleka Proizvajalca A (z vsebnostjo maščobe 1,6 %) brez dodane vode, od temperature sem določila na petem vzorcu v temperaturnem področju od 25 °C do 55 °C. Rezultati so zbrani v preglednici 18 in prikazani na slikah 7 in 8. Iz slik je razvidno, da se dielektrične lastnosti z naraščajočo temperaturo nelinearno spreminjajo, oz. da tako dielektrična konstanta, kot tudi faktor izgube, z naraščajočo temperaturo nelinearno pada.

Preglednica 18: Odvisnost dielektrične konstante, ε' in faktorja izgube, ε'' , od temperature za homogenizirano in delno posneto mleko Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 %; peti vzorec.

T (°C)	T (K)	$T - T_0$ (K)	ε'	ε''
25	298,15	0	70,100	15,17
30	303,15	5	68,480	14,29
35	308,15	10	66,832	13,63
45	313,15	20	63,346	12,49
55	328,15	30	59,090	11,84

Odvisnost dielektrične konstante mleka od temperature lahko izrazimo z zvezo:

$$\varepsilon' = \varepsilon'_0 + a_1(T - T_0) + a_2(T - T_0)^2 \quad \dots(7)$$

v kateri pomenijo: ε' - dielektrična konstanta mleka pri temperaturi T (K), ε'_0 - dielektrična konstanta mleka pri temperaturi $T_0 = 298,15$ K, a_1 in a_2 pa empirični konstanti, ki sta odvisni od vrste mleka.

Parametre v relaciji (7) sem za preiskovani vzorec mleka izračunala z metodo najmanjših kvadratov. Vrednosti parametrov v relaciji (7) so sledeče: $\varepsilon'_0 = 70,047 \pm 0,087$, $a_1 = -0,291 \pm 0,015$, $a_2 = (-2,44 \pm 0,49) \times 10^{-3}$; kvadrat koeficienta korelacije, $r^2 = 0,9998$ in standardni pogrešek določitve, $SD = 0,098$.

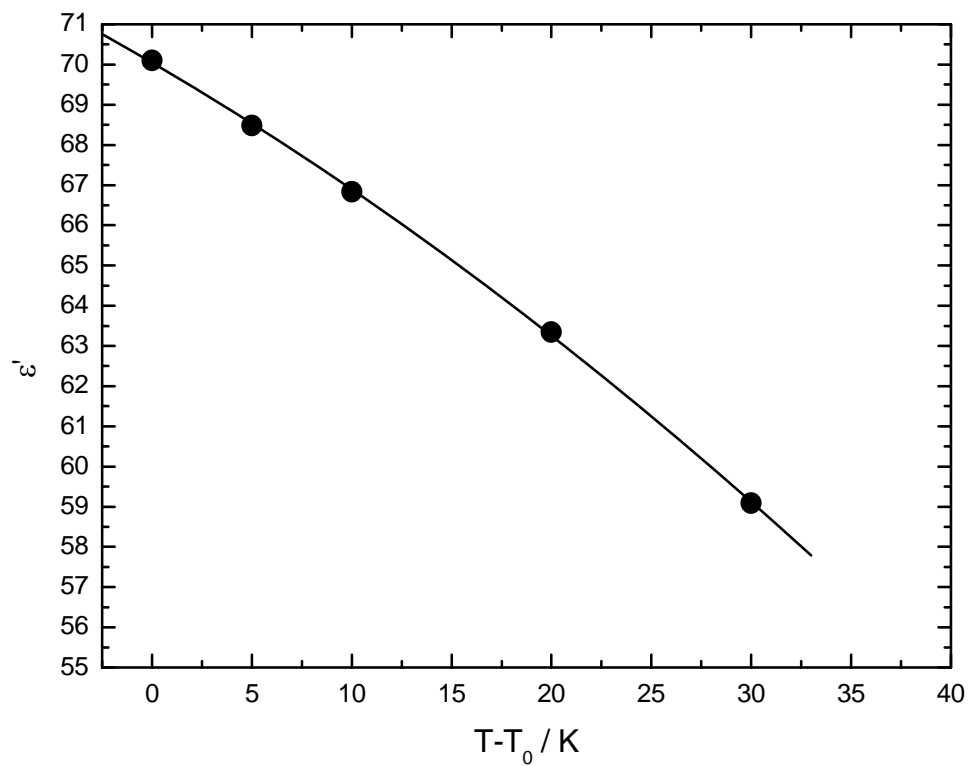
Odvisnost faktorja izgube mleka od temperature izrazimo s podobno zvezo kot v primeru dielektrične konstante:

$$\varepsilon'' = \varepsilon_0'' + b_1(T - T_0) + b_2(T - T_0)^2 \quad \dots(8)$$

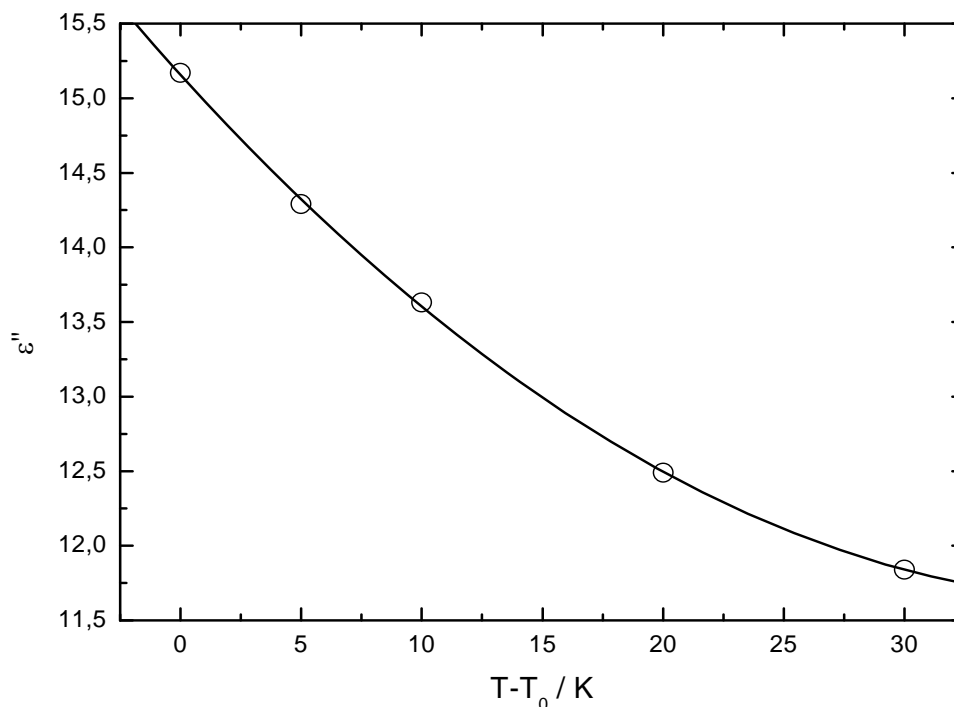
v kateri pomenijo: ε'' - faktor izgube mleka pri temperaturi T , ε_0'' - faktor izgube mleka pri temperaturi $T_0 = 298,15 \text{ K}$, b_1 in b_2 pa empirični konstanti, ki sta odvisni od vrste mleka.

Parametre v relaciji (8) sem za preiskovani vzorec mleka izračunala z metodo najmanjših kvadratov. Vrednosti parametrov v relaciji (8) so sledeče: $\varepsilon_0'' = 15,158 \pm 0,029$, $b_1 = -0,178 \pm 0,005$, $b_2 = (-2,25 \pm 0,16) \times 10^{-3}$; kvadrat koeficienta korelacije, $r^2 = 0,9997$ in standardni pogrešek določitve, $SD = 0,032$.

Sprememba dielektričnih lastnosti mleka s temperaturo (sliki 7 in 8) kaže trende, značilne za številna živila v preiskovanem temperaturnem območju (Datta in sod., 2005). Dielektrična konstanta in faktor izgube z naraščajočo temperaturo pojemata, zlasti pri živilih z veliko vsebnostjo vlage. Obraten efekt je opaziti pri živilih z visoko koncentracijo soli (npr. šunka) oz. pri živilih z nizko vsebnostjo vlage (testenine). Pri snoveh z majhno vsebnostjo vlage faktor izgube z naraščajočo temperaturo narašča, zlasti na račun zmanjšanja obsega fizikalne vezave vode, kar ima za posledico lažje sledenje vodnih dipolov zunanjemu električnemu polju.



Slika 7: Odvisnost dielektrične konstante, ϵ' , od temperature za homogenizirano in delno posneto mleko Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 %; peti vzorec.



Slika 8: Odvisnost faktorja izgube, ε'' , od temperature za homogenizirano in delno posneto mleko Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 %; peti vzorec.

4.2.4.2 Koeficient temperaturne odvisnosti dielektrične konstante

Koeficient temperaturne odvisnosti dielektrične konstante, γ , sem določila z relacijo:

$$\gamma = -\frac{1}{\varepsilon'} \left(\frac{\partial \varepsilon'}{\partial T} \right) \quad \dots(9)$$

Iz relacije (9) je razvidno, da je relativna sprememba v dielektrični konstanti, $\partial \varepsilon' / \partial T$, sorazmerna s spremembo temperature, sorazmernostna konstanta pa je enaka koeficientu temperaturne odvisnosti dielektrične konstante. Iz relacije (7) in (9) sledi za koeficient γ naslednja zveza:

$$\gamma = -\frac{1}{\varepsilon'} [a_1 + 2a_2(T - T_0)] \quad \dots(10)$$

Pri temperaturi $T = T_0 = 298,15\text{K}$ se enačba (10) poenostavi v obliko:

$$\gamma_o = -\frac{a_1}{\varepsilon_o'} \quad \dots(11)$$

Pogrešek temperaturnega koeficienta, $\delta\gamma_o$, sem določila z relacijo:

$$\delta\gamma_o = \frac{\delta a_1 \varepsilon_o' + a_1 \delta \varepsilon_o'}{(\varepsilon_o')^2} \quad \dots(12)$$

kjer sta δa_1 in $\delta \varepsilon_o'$ pogreška ustreznih parametrov. Vrednost temperaturnega koeficienta za preiskovano mleko znaša, $\gamma_o = (4,15 \pm 0,21) \times 10^{-3} \text{ K}^{-1}$.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

5.1.1 Korelacija med fizikalnimi lastnostmi in kemijsko sestavo mleka

Da bi se prepričala o vplivu posameznih sestavin mleka na njegove fizikalne lastnosti, sem z metodo najmanjših kvadratov poiskala korelacijo med posameznim fizikalnim parametrom ter določeno kemijsko sestavo mleka. Omenjene korelacije, r^2 in SD so zbrane v preglednici 19. Iz preglednice je razvidno, da obstajajo zelo visoke, značilne korelacije med izbranimi fizikalnimi parametri ter glavnimi izvornimi sestavinami mleka.

Preglednica 19: Korelacija med dielektrično konstanto, faktorjem izgube (frekvenca 2,45 GHz), gostoto, lomnim količnikom, specifično refrakcijo, specifično polarizacijo pri 25,0 °C in zmrziščem ter koncentracijo nekaterih sestavin mleka Proizvajalca A, t.j. beljakovin, B , laktoze, L in maščob, M (povprečne vrednosti).

Fizikalna lastnost	B (g/100 g)		L (g/100g)		M (g/100g)	
	r^2	SD	r^2	SD	r^2	SD
ε'	0,99988	0,03700	0,99992	0,02900	0,99990	0,03400
ε''	0,99993	0,02600	0,99963	0,06000	0,99977	0,04800
ρ (g/cm ³)	0,99991	0,00016	0,99999	0,00005	0,99999	0,00006
n_D	0,99997	0,00005	0,99995	0,00006	0,99998	0,00004
r_s (cm ³ /g)	0,99975	0,00002	0,99926	0,00003	0,99948	0,00003
p_s (cm ³ /g)	0,99997	0,00009	0,99991	0,00017	0,99998	0,00009
T_f (°C)	0,99990	0,00200	0,99983	0,00300	0,99967	0,00500

Da bi se pa prepričala o skupnem vplivu najpomembnejših sestavin mleka na njegove fizikalne lastnosti, sem z metodo večkratne linearne regresijske analize izračunala korelacijo med posamezno fizikalno lastnostjo ter vsebnostjo vseh treh najpomembnejših sestavin mleka hkrati. Omenjeno odvisnost fizikalnih lastnosti od skupne vsebnosti beljakovin, B , laktoze, L ter maščob, M prikazuje set enačb (13) do (19) s pripadajočo vrednostjo kvadrata koeficienta korelacije, r^2 in standardnega pogreška določitve, SD .

$$\varepsilon' = 77,135 - 3,513B + 5,626L - 14,117M \quad \dots(13)$$

$$r^2 = 0,99990$$

$$SD = 0,045$$

$$\varepsilon'' = 8,010 + 2,793B - 1,673L + 3,267M \quad \dots(14)$$

$$r^2 = 0,99997$$

$$SD = 0,020$$

$$\rho = 0,992185 + 2,283 \times 10^{-3} B + 5,497 \times 10^{-3} L + 3,228 \times 10^{-3} M \quad \dots(15)$$

$$r^2 = 1$$

$$SD = 2,4 \times 10^{-5}$$

$$n_D = 1,329516 + 3,136 \times 10^{-3} B + 1,306 \times 10^{-3} L + 1,827 \times 10^{-3} M \quad \dots(16)$$

$$r^2 = 1$$

$$SD = 1,0 \times 10^{-6}$$

$$r_s = 0,20564 + 1,414 \times 10^{-3} B - 1,306 \times 10^{-3} L + 2,378 \times 10^{-3} M \quad \dots(17)$$

$$r^2 = 0,99998$$

$$SD = 1,0 \times 10^{-6}$$

$$p_s = 0,967684 - 4,726 \times 10^{-3} B + 3,627 \times 10^{-3} L - 2,346 \times 10^{-3} M \quad \dots(18)$$

$$r^2 = 1$$

$$SD = 2,3 \times 10^{-5}$$

$$T_f = 0,142 + 0,063B - 0,401L + 0,592M \quad \dots (19)$$

$$r^2 = 0,99999$$

$$SD = 1,1 \times 10^{-3}$$

5.1.2 Korelacija med masnim deležem dodane vode in kemijsko sestavo mleka

Kot je razvidno iz preglednice 19 ter enačb (13) do (19), je odvisnost posameznih fizikalnih lastnosti mleka od kemijske sestave mleka zelo dobro definirana, oz. je korelacija zelo visoka. Zato sem z metodo večkratne linearne regresijske analize izračunala tudi parametre relacije, ki podaja odvisnost med masnim deležem dodane vode v mleko ter kemijsko sestavo mleka (enačba 20), t.j. skupnim vplivom koncentracij najpomembnejših komponent mleka. Izredno visoka korelacija ni presenetljiva, saj je možno odlično zaznavnost oz. kvantitativno vrednotenje dodane vode v mleko opaziti že iz posledično spremenjene koncentracije posamezne opazovane komponente (preglednica 20).

Preglednica 20: Korelacija med masnim deležem dodane vode, w (%) ter nekaterimi sestavinami mleka Proizvajalca A, t.j. vsebnostjo beljakovin, B , laktoze, L in maščob, M (povprečne vrednosti).

Komponenta	w (%)	
	r^2	SD
B (g/100 g)	0,99996	0,325
L (g/100g)	0,99995	0,369
M (g/100g)	0,99999	0,137

Relacijo med masnim deležem dodane vode, w (%) in skupno koncentracijo beljakovin, B (g/100 g), laktoze, L (g/100 g) ter maščob, M (g/100 g) zelo dobro opisuje naslednja zveza:

$$w = 109,00 - 9,70B + 2,41L - 52,34M \quad \dots(20)$$

kjer je kvadrat koeficienta korelacije $r^2 = 1$ in standardni pogrešek določitve, $SD = 0,032$. Povprečna razlika med eksperimentalno in po relaciji (20) izračunano vrednostjo masnega deleža dodane vode je $\pm 0,02$ %.

5.1.3 Medsebojna korelacija fizikalnih lastnosti mleka

Znižanje temperature zmrzišča raztopine je proporcionalno molalni koncentraciji prisotnih topljencev. Z dodajanjem vode v mleko oz. potvorbo mleka z vodo se koncentracija topljencev ustrezno zmanjša, zato nas je zanimalo, ali obstaja zveza med temperaturo zmrzišča in ostalimi fizikalnimi parametri mleka. Značilni parametri omenjene korelacije, dobljeni z uporabo metode najmanjših kvadratov, so podani v preglednici 21.

Preglednica 21: Korelacija med zmrziščem mleka in dielektrično konstanto, faktorjem izgube (frekvenca 2,45 GHz), gostoto, lomnim količnikom, specifično refrakcijo in specifično polarizacijo mleka Proizvajalca A (povprečne vrednosti).

Fizikalna lastnost	T_f (°C)	
	r^2	SD
ϵ'	0,99988	0,0003
ϵ''	0,99981	0,003
ρ (g/cm ³)	0,99976	0,00422
n_D	0,99998	0,00115
r_s (cm ³ /g)	0,99973	0,00383
p_s (cm ³ /g)	0,99999	0,00061

5.1.4 Korelacija med masnim deležem dodane vode in fizikalnimi parametri mleka

Ker so fizikalne lastnosti mleka neposredna posledica koncentracije posameznih sestavin, pa tudi medsebojnih interakcij le-teh v mleku, nas je zanimal vpliv dodane vode v mleko na posamezno fizikalno lastnost mleka. Rezultati medsebojne korelacije, t.j. eksplicitno zrcaljenje masnega deleža dodane vode v vrednostih posameznih fizikalnih parametrov mleka so razvidni iz preglednice 22.

Preglednica 22: Korelacija med masnim deležem dodane vode ter dielektrično konstanto, faktorjem izgube (frekvenca 2,45 GHz), gostoto, lomnim količnikom, specifično refrakcijo, polarizacijo pri 25 °C ter zmrziščem mleka Proizvajalca A (povprečne vrednosti).

Fizikalna lastnost	w (%)	
	r^2	SD
ε'	0,99994	0,37200
ε''	0,99992	0,42200
ρ (g/cm ³)	0,99998	0,22779
n_D	0,99998	0,23355
r_s (cm ³ /g)	0,99983	0,58474
p_s (cm ³ /g)	0,99999	0,12697
T_f (°C)	1,00000	0,02500

S pomočjo krioskopije lahko hitro in zanesljivo ugotavljamo potvorjenost mleka z vodo, metoda na osnovi dielektričnih lastnosti pa ji glede na naše eksperimentalne ugotovitve, zlasti po natančnosti, lahko konkurira oz. jo celo presega; zato sem poiskala relacijo, ki opisuje odvisnost masnega deleža dodane vode od dielektrične konstante in zmrzišča mleka:

$$w = -370,599 + 6,105\varepsilon' + 103,213T_f \quad \dots(21)$$

$$r^2 = 0,99998$$

$$SD = 0,218$$

Gostota mleka ni konstantna, saj je odvisna od količine brezmasne suhe snovi v mleku ter količine maščobe v mleku, ki ima nižjo gostoto od 1,0000 g/cm³. Zaradi spreminjajočega se razmerja omenjenih količin v svežem mleku in posledično tudi zaradi potvorbe mleka, nas je zanimala korelacija med masnim deležem dodane vode ter gostoto in lomnim količnikom mleka, ob že omenjenih fizikalnih parametrih, t.j. dielektrični konstanti in temperaturi zmrzišča mleka. Podobno kot gostota je namreč tudi lomni količnik hitro in natančno določljiva fizikalna lastnost ter uporabna za karakterizacijo snovi in služi za izračun ostalih fizikalnih lastnosti, npr. specifične refrakcije, r_s . Z metodo večkratne linearne regresijske analize sem izračunala parametre več relacij (22-26), ki podajajo odvisnost med masnim deležem dodane vode v mleko ter najbolj značilnimi in uporabnimi fizikalnimi parametri za oceno kvalitete oz. pristnosti mleka (ocena skupnega vpliva več fizikalnih parametrov):

$$w = 8188,03 - 6070,18n_D - 4,76T_f \quad \dots(22)$$

$$r^2 = 0,99999$$

$$SD = 0,148$$

$$w = 7708,11 - 5734,40n_D + 0,422\varepsilon' \quad \dots(23)$$

$$r^2 = 0,99999$$

$$SD = 0,144$$

$$w = 5981,23 + 1,61\varepsilon' + 22,47T_f - 4507,19n_D \quad \dots(24)$$

$$r^2 = 0,99999$$

$$SD = 0,192$$

$$w = 2658,94 - 4815,28\rho + 1682,78n_D - 66,30T_f \quad \dots(25)$$

$$r^2 = 1$$

$$SD = 0,016$$

$$w = 2210,31 - 2604,34\rho + 243,02n_D + 2,11\varepsilon' \quad \dots(26)$$

$$r^2 = 0,99999$$

$$SD = 0,109$$

Visoka korelacija med eksperimentalno in po relacijah (21) do (26) izračunano vrednostjo masnega deleža dodane vode je prikazana v preglednici 23.

Preglednica 23: Absolutna vrednost povprečne razlike med izračunanimi vrednostmi masnega deleža dodane vode (relacije 21-26) ter eksperimentalnimi vrednostmi za vzorce mleka Proizvajalca A.

Relacija	$ w(\text{eksp})-w(\text{rač}) $ (%)
(21)	0,11
(22)	0,09
(23)	0,17
(24)	0,15
(25)	0,01
(26)	0,04

5.2 SKLEPI

V okviru diplomske naloge sem ugotovila naslednje:

- s fizikalno kemijsko analizo sem potrdila identiteto osnovnih preiskovanih vzorcev homogeniziranega in delno posnetega mleka Proizvajalca A (0 % dodane vode, tj. nepotvorjeno mleko). Na podlagi meritev vrednosti pH, vsebnosti beljakovin, laktoze, maščob, vode in suhe snovi ter temperature zmrzišča, gostote in lomnega količnika lahko zaključim, da so vse našteje vrednosti v mejah, ki jih navaja literatura in ustrezajo Pravilniku o kakovosti mleka, mlečnih izdelkov, siril in čistih cepiv (1997);
- z merjenjem dielektričnih lastnosti nepotvorjenega homogeniziranega in delno posnetega mleka kot tudi mleka z dodano vodo (potvorjeno mleko) sem na slovenskih vzorcih prvič potrdila, v literaturi za maloštevilne vzorce mleka že znano, frekvenčno odvisnost dielektrične konstante in faktorja izgube;
- z merjenjem dielektričnih lastnosti nepotvorjenega mleka v temperaturnem področju od 25 °C do 55 °C sem ugotovila, da dielektrična konstanta in faktor izgube homogeniziranega in delno posnetega mleka nelinearno padata z naraščajočo temperaturo. Odvisnost obeh dielektričnih parametrov od temperature dobro opiše polinom druge stopnje;
- iz eksperimentalno določene vrednosti dielektrične konstante v temperaturnem območju od 25 °C do 55 °C sem izračunala koeficient temperaturne odvisnosti za dielektrično konstanto mleka ter ugotovila, da s temperaturo omenjeni koeficient raste;
- z metodo najmanjših kvadratov sem ugotovila, da obstaja odlična korelacija med posameznim fizikalnim parametrom ter kemijsko sestavo mleka; podobno velja tudi za korelacijo med temperaturo zmrzišča mleka in ostalimi posameznimi fizikalnimi parametri;
- z metodo večkratne linearne regresijske analize sem ugotovila zelo visoko korelacijo med masnim deležem dodane vode v mleko in kemijsko sestavo mleka;
- podobno sem z metodo večkratne linearne regresijske analize ugotovila tudi zelo visoko korelacijo med masnim deležem dodane vode v mleko ter določenimi fizikalnimi karakteristikami, npr. gostoto, lomnim količnikom in zmrziščem/ali dielektrično konstanto;
- izpeljane korelacije med masnim deležem dodane vode in fizikalnokemijskimi parametri mleka nakazujejo enakovredno možnost natančnega in hitrega določanja potvorbe mleka z vodo tako s standardnimi in že uveljavljenimi metodami kot tudi z novejšo metodo, tj. metodo na osnovi merjenja dielektričnih lastnosti;

- z merjenjem dielektričnih lastnosti mleka sem pokazala, da so le-te, zlasti dielektrična konstanta, primeren fizikalnokemijski parameter za vrednotenje kvalitete oz. ugotavljanje pristnosti določene vrste mleka.

6 VIRI

- Antalašić M. 2006. Učinkovitost uporabe hitre imunoencimske metode (E.L.I.S.A) za odkrivanje potvorb ovčjega mleka s kravjim mlekom. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko: 45 str.
- Arsov A. 1986. Higijensko pridobivanje mleka. Ljubljana, Kmečki glas: 125 str.
- Arvanitoyannis J.S., Tzouros N.E. 2005. Implementation of quality control methods in conjunction with chemometrics toward authentication of dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45: 231-249
- Atkins P., de Paula J. 2002. *Atkins' physical chemistry*. 7th ed. New York, Oxford University Press inc.: 686-718
- Bajt N. 1998. Živilska tehnologija. Vaje. Zv. 4, Mleko in mlečni izdelki. 1. izd. Ljubljana, Zavod Republike Slovenije za šolstvo: 179 str.
- Bajt N., Golc-Teger S. 2002. Izdelava jogurta, skute in sira. Ljubljana, Kmečki glas: 142 str.
- Barthel J., Buchner R., Münsterer M. 1995. Electrolyte data collection. Dielectric properties of water and aqueous electrolyte solutions. Frankfurt, Dechema: 365 str.
- Čanžek Majhenič A., Perko B., Rogelj I. 2007. Praktikum pri predmetu tehnologija mleka. Domžale, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko: 73
- Datta A.K., Sumnu G., Gaghavan G.S.V. 2005. Dielectric properties of food. V: *Engineering properties of foods*. 3rd ed. Rao M.A., Rizvi S.S.H., Datta A.K. (eds.). New York, Taylor & Francis Group: 501-565
- De la Fuente M.A., Juárez M. 2005. Authenticity assessment of dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45: 563-585.
- Đorđević J. 1987. Mleko. Hemija i fizika mleka. Beograd, Naučna knjiga: 312 str.
- Everard C.D., Fagan C.C., O'Donnell C.P., O'Callaghan D.J., Lyng J.G. 2006. Dielectric properties of process cheese from 0,3 to 3 GHz. *Journal of Food Engineering*, 75: 415-422
- Fuchs K., Kaatze U. 2002. Dielectric spectra of mono- and disaccharide aqueous solutions. *Journal of Chemical Physics*, 116, 16: 7137-7144
- Golc-Teger S. 1995. Parametri kakovosti mleka in mlečnih izdelkov. *Sodobno kmetijstvo*, 28, 4: 191-193

Goswami T.K., Gupta S.K. 2008. Detection of dilution of milk with the help of glass transition temperature by differential scanning calorimetry (DSC). *African Journal of Food Science*, 2: 7-10

Green A.D. 1997. Measurement of the dielectric properties of cheddar cheese. *Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy*, 32: 16-27

IDF 141C:2000. Whole milk - Determination of milk fat, protein and lactose content: guidance on the operation of mid-infrared instruments: whole milk Brussels, International Dairy Federation. 2000: 15 str.

ISO 6713. Milk, cream and evaporated milk - Determination of total solids content (Reference method). Brussels, International Dairy Federation. 1989: 3 str.

Kapš P. 2004. Mleko za zdravje. Ljubljana, Karantanija: 232 str.

Kent M., Knöchel R., Daschner F., Berger U.K. 2001. Composition of foods including added water using microwave dielectric spectra. *Food Control*, 12: 467-482

Kudra T., Raghavan V., Akyel C., Bosisio R., van de Voort F. 1992. Electromagnetic properties of milk and its constituents at 2,45 GHz. *Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy*, 27: 199-204

Liao X., Raghavan G.S.V., Dai J., Yaylayan V.A. 2002. Dielectric properties of α -D-glucose aqueous solutions at 2450 MHz. *Food Research International*, 36: 485-490

Mavrin D., Oštir Š. 2002. Tehnologija mleka in mlečnih izdelkov. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 128 str.

Miletić S. 1994. Mlijeko i mliječni proizvodi. Zagreb, Hrvatsko Mljekarsko Društvo: 5-60

Mudgett R.E., Smith A.C., Wang D.I.C., Goldblith S.A. 1971. Prediction of relative dielectric loss factor in aqueous solutions of non-fat dried milk through chemical simulation. *Journal of Food Science*, 36: 915-918

Mudgett R.E., Smith A.C., Wang D.C.I., Goldblith S.A. 1974. Prediction of dielectric properties in nonfat milk at frequencies and temperatures of interest in microwave processing. *Journal of Food Science*, 39: 52-54

Nunes A.C., Bohigas X., Tejada J. 2006. Dielectric study of milk for frequencies between 1 and 20 GHz. *Journal of Food Engineering*, 76: 250-255

Nyfors E., Vainikainen P. 1989. Industrial microwave sensors. Norwood, Artech house: 351 str.

Origin™ User's manual. 1995. OriginLab (14. 11. 2000)

<http://www.originlab.com/> (13. 5. 2010)

Petričić A. 1984. Konzumno i fermentirano mlijeko. Zagreb, Udruženje Mljekarskih Radnika SRH: 357 str.

Pomeranz Y., Meloan C.E. 1994. Food analysis, Theory and practice. New York, Chapman & Hall: 430-448

Pravilnik o elementih za oblikovanje odkupne cene kravjega mleka. 2001. Uradni list Republike Slovenije, št. 107: 11726

Pravilnik o kakovost mleka, mlečnih izdelkov, siril in čistih cepiv. 1993. Uradni list Republike Slovenije, št. 21: 1069

Rogelj I. 2003. Mleko. V: Mikrobiologija živil živalskega izvora. Zaviša B., Adamič J., Žlender B., Smole-Možina S., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 515-537

Rudan Tasič D., Klofutar C. 2007. Fizikalnokemijske metode v živilstvu. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 376 str.

Ryynänen S. 1995. The electromagnetic properties of food materials: A review of the basic principles. Journal of Food Engineering, 26: 409-429

Sabadoš D. 1996. Kontrola i ocjenivanje kakvoće mlijeka i mliječnih proizvoda. Zagreb, Hrvatsko Mljekarsko Društvo: 339 str.

Schmidt + Haensch ^{GmbH & Co.}. 1997. Operating manual for the Refractometer DUR-W2. Berlin: 35 str.

Sherbon J. W. 1988. Physical properties of milk. V: Fundamentals of dairy chemistry. Wong N. P. (ed.). New York, Van Nostrand Reinhold: 409-460

Sipahioglu O., Barringer S.A. 2003. Dielectric properties of vegetables and fruits as a function of temperature, ash, and moisture content. Journal of Food Science, 68, 1: 234-239

SIST EN ISO 5764. Mleko – Določanje ledišča – Thermistor cryoscope method (referenčna metoda). 2002: 15 str.

Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A. 1998. Principles of instrumental analysis. 5th ed. Orlando, Harcourt brace & Company: A1-A25

Tratnik L. 1998. Mlijeko – tehnologija biokemija i mikrobiologija. Zagreb, Hrvatska mljekarska udruga: 2-80

Vujičić I.F. 1985. Mlekarstvo, I deo. Beograd, Naučna knjiga: 276 str.

ZAHVALA

PRILOGE

Priloga A: Eksperimentalni podatki za mikrovalovni dielektrični spekter deionizirane destilirane vode.

ν (GHz)	ϵ'	ϵ''
0,20000	78,50256	0,38347
0,36939	78,50711	1,06536
0,53878	78,55904	1,77933
0,70816	78,58713	2,50709
0,87755	78,54358	3,18264
1,0469	78,50473	3,85484
1,2163	78,45422	4,52016
1,3857	78,37009	5,17919
1,5551	78,27232	5,81817
1,7245	78,15918	6,46229
1,8939	78,05460	7,09460
2,0633	77,91277	7,72508
2,2327	77,78419	8,37122
2,4020	77,63216	9,00324
2,5714	77,46281	9,63248
2,7408	77,28870	10,25521
2,9102	77,10109	10,85873
3,0796	76,91001	11,46763
3,2490	76,70470	12,06945
3,4184	76,48104	12,66437
3,5878	76,25570	13,23116
3,7571	76,04001	13,82707
3,9265	75,77972	14,38562
4,0959	75,53936	14,96006
4,2653	75,28660	15,53696
4,4347	75,01995	16,10442
4,6041	74,73756	16,67064
4,7735	74,43220	17,21450
4,9429	74,13269	17,72918
5,1122	73,84201	18,24906
5,2816	73,53886	18,75869
5,4510	73,24001	19,25133
5,6204	72,94102	19,76490
5,7898	72,61368	20,25927
5,9592	72,29577	20,73900
6,1286	71,96379	21,24457

se nadaljuje

Nadaljevanje priloge A: Eksperimentalni podatki za mikrovalovni dielektrični spekter deionizirane destilirane vode.

ν (GHz)	ϵ'	ϵ''
6,2980	71,60194	21,73936
6,4673	71,22053	22,19351
6,6367	70,85700	22,64409
6,8061	70,49811	23,10330
6,9755	70,13731	23,54569
7,1449	69,79114	23,98529
7,3143	69,42615	24,42653
7,4837	69,06658	24,84829
7,6531	68,67648	25,25185
7,8224	68,30055	25,63132
7,9918	67,89277	25,99796
8,1612	67,52894	26,37138
8,3306	67,11703	26,77214
8,5000	66,67052	27,14224

Priloga B: Eksperimentalni podatki za mikrovalovni dielektrični spekter homogeniziranega delno posnetega mleka Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 %; peti vzorec.

ν (GHz)	ϵ'	ϵ''
0,20000	74,8214	52,40419
0,36939	73,25652	31,04785
0,53878	71,97922	22,69931
0,70816	71,74048	18,92727
0,87755	71,23155	16,82184
1,0469	70,79485	15,43001
1,2163	70,51746	14,60068
1,3857	70,25563	14,18047
1,5551	70,03546	13,92408
1,7245	69,65893	13,62483
1,8939	69,97337	14,01157
2,0633	69,34645	14,27926
2,2327	69,03038	14,14342
2,4020	69,07224	14,64788
2,5714	68,45850	14,86553
2,7408	68,30006	14,92545
2,9102	68,43439	15,14282
3,0796	68,30792	15,89841
3,2490	67,86089	16,33139
3,4184	67,61149	16,66002
3,5878	67,36820	17,00619
3,7571	67,11617	17,33377
3,9265	66,93621	17,78940
4,0959	66,59632	18,09922
4,2653	66,49197	18,68849
4,4347	66,09053	19,18828
4,6041	65,97444	19,66857
4,7735	65,56226	20,25988
4,9429	65,09866	20,75200
5,1122	64,79747	21,12781
5,2816	64,49713	21,65014
5,4510	64,18159	21,92134
5,6204	63,86123	22,43070
5,7898	63,60222	22,88007
5,9592	63,29914	23,29235
6,1286	62,92377	23,52136
6,2980	62,44521	24,22721
6,4673	61,97489	24,47902

se nadaljuje

Nadaljevanje priloge B: Eksperimentalni podatki za mikrovalni dielektrični spekter homogeniziranega delno posnetega mleka Proizvajalca A z vsebnostjo maščobe 1,6 %; peti vzorec.

ν (GHz)	ϵ'	ϵ''
6,6367	61,55642	24,91838
6,8061	61,15038	25,28757
6,9755	60,78679	25,78733
7,1449	60,30140	25,99154
7,3143	59,83116	26,51093
7,4837	59,57193	26,63246
7,6531	59,24525	27,30712
7,8224	58,85786	27,47053
7,9918	58,40169	28,01052
8,1612	58,14196	28,18155
8,3306	57,98609	28,36007
8,5000	57,28621	28,83351