

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Tine HORVAT

**ELEKTRIČNE LASTNOSTI NEKATERIH VRST
SLOVENSKEGA MEDU**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Tine HORVAT

**ELEKTRIČNE LASTNOSTI NEKATERIH VRST SLOVENSKEGA
MEDU**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**ELECTRICAL PROPERTIES OF CERTAIN TYPES OF SLOVENIAN
HONEYS**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2016

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo v laboratoriju Katedre za biokemijo in kemijo živil, Oddelka za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Za mentorico diplomskega dela je imenovana doc. dr. Nataša Šegatin in za recenzentko prof. dr. Tatjano Košmerl.

Mentorica: doc. dr. Nataša Šegatin

Recenzentka: prof. dr. Tatjana Košmerl

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Podpisani izjavljam, da je diplomsko delo rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Tine Horvat

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 638.162:543.2/.9:537.226(043)=163.6
KG	slovenski med / električna prevodnost / dielektrične lastnosti / HPLC / refraktometrija / dielektrična konstanta / faktor dielektričnih izgub / mineralne snovi / glukoza / fruktoza / akacijev med / cvetlični med / gozdni med / kostanjev med / lipov med
AV	HORVAT, Tine
SA	ŠEGATIN, Nataša (mentorica) / KOŠMERL, Tatjana (recenzentka)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI	2016
IN	ELEKTRIČNE LASTNOSTI NEKATERIH VRST SLOVENSKEGA MEDU
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	XII, 63 str., 18 pregl., 22 sl., 4 pril., 45 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	V diplomski nalogi smo akacijevem, cvetličnem, gozdnem, kostanjevem in lipovem medu in njihovim raztopinam z masnim odstotkom suhe snovi 20 % določili dielektrične lastnosti in električno prevodnost v frekvenčnem območju med 100 kHz in 2 MHz. Ugotavljali smo vpliv vrste medu, temperature, vsebnosti vode in mineralnih snovi ter sestave sladkorjev na dielektrični spekter. Pri nerazredčenih vzorcih medu in pri raztopinah medu se dielektrična konstanta in faktor izgub znižujeta z naraščajočo frekvenco. Ugotovili smo, da vrsta medu močno vpliva na dielektrično konstanto in faktor dielektričnih izgub kot tudi na električno prevodnost medu in njegovih raztopin. Pri raztopinah medu smo najnižjo dielektrično konstanto določili pri akacijevem in najvišjo pri kostanjevem medu. Električna prevodnost in temperaturni koeficient raztopin medu naraščata z naraščajočo temperaturo. Na električne lastnosti raztopin medu bolj vpliva vsebnost mineralnih snovi kot sestava sladkorjev. Dielektrična konstanta medu je precej nižja kot pri raztopinah medu. Najnižjo dielektrično konstanto pri 2 MHz smo določili kostanjevem in lipovem medu, najvišjo pa akacijevem medu. Vpliv sestave medu – vsota vsebnosti glukoze in fruktoze – na faktor dielektričnih izgub določen pri 2 MHz je statistično značilen, medtem ko je vpliv vsebnosti vode medu na dielektrično konstanto določeno pri 2 MHz le zmerno statistično značilen.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn

DC UDC 638.162:543.2/.9:537.226(043)=163.6

CX slovenian honey / electrical conductivity / electrical permittivity / dielectric properties / HPLC / refractometry / dielectric constant / dielectric loss factor / minerals / glucose / fructose / acacia honey / flower honey / forest honey / chestnut honey / linden honey

AU HORVAT, Tine

AA ŠEGATIN, Nataša (supervisor) / KOŠMERL, Tatjana (reviewer)

PP SI-1000, Ljubljana, Jamnikarjeva 101

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology

PY 2016

TI ELECTRICAL PROPERTIES OF CERTAIN TYPES OF SLOVENIAN HONEYS

DT Graduation Thesis (University studies)

NO XII, 63 p., 18 tab., 22 fig., 4 ref.

LA sl

AL sl/en

AB In this thesis the dielectric properties and the electrical conductivity for acacia, flower, forest, chestnut and linden honey and their solutions with percentage by weight of dry matter 20 % were determined in a frequency range between 100 kHz and 2 MHz. The impact of honey type, temperature, water and mineral content and composition of sugars on the electric properties were investigated. The dielectric constant and the dielectric loss factor decreased with increasing frequency for all samples of honey and for all honey solutions. The dielectric constant, the dielectric loss factor and the electrical conductivity of honey and its solutions were strongly dependent on honey type. In honey solutions the lowest values of the dielectric constant were determined for acacia and the highest for chestnut honey. The electrical conductivity and the temperature coefficient of honey solutions increased with increasing temperature. The dielectric properties of honey solution were dependent more on mineral content than on the composition of sugars. The dielectric constant and the dielectric loss factor of honey itself were much lower than in the honey solutions. The lowest dielectric constant at 2 MHz was determined for chestnut and linden honey, and the highest for acacia honey. The impact of honey composition – the sum of glucose and fructose content – on the dielectric loss factor determined at 2 MHz was statistically significant, while the impact of the water content on the dielectric constant determined at 2 MHz was moderately statistically significant.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO SLIK	VII
KAZALO PREGLEDNIC	IX
KAZALO PRILOG	XI
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XII
1 UVOD	1
1.1 CILJI NALOGE	1
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 MED	3
2.1.1 Vrste medu	4
2.1.1.1 Akacijev med.....	4
2.1.1.2 Cvetlični med.....	4
2.1.1.3 Gozdni med	4
2.1.1.4 Kostanjev med	5
2.1.1.5 Lipov med.....	5
2.1.2 Sestava medu.....	5
2.1.3 Sestava ogljikovih hidratov v medu	6
2.1.4 Kakovost in potvorjenost medu	7
2.1.4.1 Preverjanje kakovosti medu.....	7
2.1.4.2 Preverjanje potvorjenosti medu	8
2.1.5 Analizne metode za določanje kakovosti medu	9
2.2 OPIS FIZIKALNOKEMIJSKIH METOD	10
2.2.1 Refraktometrija	10
2.2.2 HPLC	11
2.2.3 Električna prevodnost	13
2.2.4 Dielektričnost	15
2.2.4.1 Dielektrične lastnosti živil.....	16
2.2.4.2 Dielektrične lastnosti ogljikovih hidratov	17

2.2.4.3	Dielektrične lastnosti medu	17
3	MATERIALI IN METODE	18
3.1	MATERIALI ZA RAZISKAVO.....	18
3.1.1	Osnovni vzorci medu	18
3.2	METODE	19
3.2.1	Določanje vsebnosti vode	19
3.2.2	Določanje vsebnosti saharidov v medu s HPLC metodo	20
3.2.2.1	Metoda eksterne standarda.....	21
3.2.2.2	Metoda standardnega dodatka	23
3.2.3	Električna prevodnost	25
3.2.4	Dielektričnost	27
3.2.4.1	Merilnik LCR	28
3.2.5	Statistična obdelava podatkov	31
4	REZULTATI Z RAZPRAVO	33
4.1	SESTAVA MEDU	33
4.1.1	Vsebnost vode v medu	33
4.1.2	Vsebnost glavnih sladkorjev v medu	34
4.2	ELEKTRIČNA PREVODNOST.....	37
4.3	DIELEKTRIČNE LASTNOSTI MEDU	41
4.3.1	Dielektrične lastnosti vodnih raztopin medu	41
4.3.1.1	Vpliv frekvence na dielektrične lastnosti raztopin medu	41
4.3.1.2	Vpliv temperature na dielektrične lastnosti raztopin medu	45
4.3.1.3	Vpliv sestave medu na električne lastnosti raztopin medu.....	46
4.3.2	Dielektrične lastnosti medu	49
4.3.2.1	Vpliv sestave medu na električne lastnosti nerazredčenega medu	52
5	SKLEPI	55
6	POVZETEK.....	57
7	VIRI	60

ZAHVALA

PRILOGE

KAZALO SLIK

Slika 1: Blokovna shema HPLC sistema (Biochemical practicals..., 2013: 20).....	12
Slika 2: Vsi uporabljeni vzorci medu pri diplomski nalogi. Po vrsti: akacijev (T1), cvetlični (T2), gozdni (T3), kostanjev (T4) in lipov med (T5)	18
Slika 3: Ročna refraktometra Atago hand refractometer HHR – 2N, uporabljena pri analizah.....	19
Slika 4: Instrument za tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti, HPLC, Agilent 1260 Infinity HPLC sistem.....	20
Slika 5: Kromatogram medu T3 (modra krivulja) in pokrivanje signalov standardov (fruktoza – rdeča krivulja, glukoza – zelena, saharoza – roza, turanoza – vijolična in maltoza – olivno zelena krivulja)	22
Slika 6: Instrument za merjenje prevodnosti Radiometer CDM230 Conductivity meter ...	26
Slika 7: Zgradba celice za določanje dielektričnih lastnosti tekočih vzorcev 16452A (Agilent Technologies, 2000).....	28
Slika 8: Instrument Agilent Precision LCR Meter E4980A s termostatom Fluke 7230 – 25 in uporovnim termometrom Fluke 1502A s sondo Fluke 5627 – 6–D.....	28
Slika 9: Odvisnost specifične električne prevodnosti, κ vodnih raztopin akacijevega (T1) in kostanjevega (T4) medu s koncentracijo suhe snovi 200 g/L, v odvisnosti od temperature, T	39
Slika 10: Odvisnost logaritma specifične električne prevodnosti, $\ln(\kappa)$ vodnih raztopin akacijevega (T1) in kostanjevega (T4) medu s koncentracijo suhe snovi 200 g/L, od recipročne vrednosti absolutne temperature, $1/T$	40
Slika 11: Vpliv temperature, T in frekvence, f na dielektrično konstanto, ϵ' vodnih raztopin akacijevega medu (T1) s koncentracijo suhe snovi 200 g/L	42
Slika 12: Vpliv temperature, T in frekvence, f na dielektrično konstanto, ϵ' vodnih raztopin kostanjevega medu (T4) s koncentracijo suhe snovi 200 g/L	42
Slika 13: Vpliv temperature, T in frekvence, f na faktor dielektričnih izgub, ϵ'' vodnih raztopin akacijevega medu (T1) s koncentracijo suhe snovi 200 g/L	43
Slika 14: Vpliv temperature, T na vrednost dielektrične konstante, ϵ' vodne raztopine kostanjevega (T4) in akacijevega (T1) medu ter vode	46
Slika 15: Odvisnost kapacitivnosti, C_s izmerjene pri 500 kHz in 2 MHz, ter upornosti, R_s raztopin medu s koncentracijo suhe snovi 200 g/L od vsote vsebnosti glukoze in fruktoze v medu, $F+G$	47
Slika 16: Odvisnost kapacitivnosti, C_s izmerjene pri 500 kHz in 2 MHz, ter upornosti, R_s pri 2 MHz raztopin medu s koncentracijo suhe snovi 200 g/L, od razmerja med fruktozo in glukozo, F/G	48

Slika 17: Odvisnost kapacitivnosti, C_s izmerjene pri 500 kHz in 2 MHz, ter upornosti, R_s pri 2 MHz raztopin medu s koncentracijo suhe snovi 200 g/L od specifične električne prevodnosti, κ , izmerjene s konduktometrom	49
Slika 18: Odvisnost dielektrične konstante, ε' od frekvence, f za nerazredčen med pri 25 °C, v frekvenčnem območju od 500 kHz do 2 MHz	50
Slika 19: Odvisnost faktorja dielektričnih izgub, ε'' od frekvence, f za nerazredčen med pri 25 °C, v frekvenčnem območju od 500 kHz do 2 MHz	51
Slika 20: Odvisnost specifične električne prevodnosti, κ od frekvence, f za nerazredčen med pri 25 °C, v frekvenčnem območju od 500 kHz do 2 MHz	52
Slika 21: Odvisnost faktorja dielektričnih izgub, ε'' nerazredčenega medu pri 2 MHz in 20 °C od vsote vsebnosti fruktoze in glukoze, $F+G$ in od razmerja vsebnosti fruktoze in glukoze, F/G	53
Slika 22: Odvisnost faktorja dielektričnih izgub, ε'' nerazredčenega medu pri 2 MHz in 20 °C, od električne prevodnosti raztopin, κ in od vsebnosti vode v medu	54

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Povprečna vsebnost sladkorjev v posameznih vrstah medu (Golob in sod., 2008c)	7
Preglednica 2: Seznam vzorcev medu za analizo	18
Preglednica 3: Mase in koncentracije standardov mono – in disaharidov v medu, ter retencijski časi in površine signalov pri analizi standardov, P_{std} za metodo eksterne standarda	21
Preglednica 4: Masa in koncentracija posameznih vzorcev medu	22
Preglednica 5: Površine signalov za posamezni saharid, P_{sah} in koncentracije saharidov v različnih raztopinah medu, γ_{sah} za dan analize 15.02.2012, povprečje treh injiciranj.....	23
Preglednica 6: Mase in masne koncentracije raztopin gozdnega medu, T3 in sladkorjev za metodo standardnega dodatka	24
Preglednica 7: Površine signalov za fruktozo, glukozo, vsoto saharoze in turanoze ter maltozo pri analizi gozdnega medu, T3 z metodo standardnega dodatka in povprečna površina signalov, na katere standardni dodatek ne vpliva, P_{sah} in koncentracije saharidov v raztopinah gozdnega medu, γ_{sah}	25
Preglednica 8: Zatehte vzorcev medu pri merjenju specifične električne prevodnosti	27
Preglednica 9: Vrednosti za presojanje moči povezanosti spremenljivk (Seljak, 1996).....	32
Preglednica 10: Vsebnost vode v posameznih vrstah medu.....	33
Preglednica 11: Povprečne masne koncentracije najpomembnejših mono – in disaharidov v raztopinah medu, γ_{sah} in vsebnost teh sladkorjev v medu	34
Preglednica 12: Povprečne masne koncentracije najpomembnejših mono – in disaharidov v raztopinah medu T3, γ_{sah} in vsebnost, w_{sah} teh sladkorjev v medu T3 v g/100 g, določenih z metodo standardnega dodatka.....	35
Preglednica 13: Vsota vsebnosti fruktoze in glukoze ($F+G$), ter razmerje fruktoze in glukoze (F/G) v posameznih vzorcih medu	36
Preglednica 14: Električna prevodnost, κ , absolutna napaka električne prevodnosti, $\Delta\kappa$, koeficient variacije, KV , in temperaturni koeficient, θ , za raztopine akacijevega (T1) in kostanjevega (T4) medu, s koncentracijo suhe snovi 200 g/L pri različnih temperaturah..	37
Preglednica 15: Električna prevodnost, κ , absolutna napaka električne prevodnosti, $\Delta\kappa$, koeficient variacije, KV , in temperaturni koeficient, θ , za raztopine cvetličnega (T2), gozdnega (T3) in lipovega (T5) medu, s koncentracijo suhe snovi 200 g/L pri 20 in 25 °C	38
Preglednica 16: Koeficienti enačb (19 in 20) za opis odvisnosti specifične električne prevodnosti od temperature za kostanjev in akacijev med	40

Preglednica 17: Dielektrična konstanta, ε' in faktor dielektričnih izgub, ε'' pri 2 MHz, za vodne raztopine petih vrst medu s koncentracijo suhe snovi 200 g/L, pri različnih temperaturah 44

Preglednica 18: Dielektrična konstanta, ε' faktor dielektričnih izgub, ε'' in specifična električna prevodnost, κ nerazredčenega medu pri 2 MHz in temperaturi 25 °C 52

KAZALO PRILOG

Priloga A: Odvisnost kapacitivnosti, C_s in upornosti, R_s raztopin akacijevega medu za raztopine s koncentracijo suhe snovi 200 g/L, od frekvence in temperature

Priloga B: Odvisnost kapacitivnosti, C_s in upornosti, R_s raztopin kostanjevega medu za raztopine s koncentracijo suhe snovi 200 g/L, od frekvence in temperature

Priloga C: Odvisnost kapacitivnosti, C_s in upornosti, R_s raztopin cvetličnega, gozdnega in lipovega medu za raztopine s koncentracijo suhe snovi 200 g/L, od frekvence in temperature

Priloga D: Odvisnost kapacitivnosti, C_s in upornosti, R_s vseh petih nerazredčenih vzorcev medu, od frekvence in temperature

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

C	kapacitivnost
D	enota Demal
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (angl. High Performance Liquid Chromatography)
GC	plinska kromatografija (angl. Gas Chromatography)
HMF	hidroksimetilfurfural
K_c	konstanta celice
KV	koeficient variacije
P	površina
SD	standardna deviacija
T1	akacijev med
T2	cvetlični med
T3	gozdni med
T4	kostanjev med
T5	lipov med
θ	temperaturni koeficient
ε'	dielektrična konstanta
ε''	faktor dielektričnih izgub
κ	električna prevodnost
γ	masna koncentracija
$\bar{x}$	aritmetična sredina

1 UVOD

Med ali strd, kot smo ga ljudje včasih poimenovali, je naravna snov, ki nastane iz nektarja in drugih rastlinskih izločkov ter iz mane, to je izločkov žuželk na rastlinskih listih in steblih. Mano in nektar čebele prenesejo v panj, ju zgostijo in obogatijo s svojimi žlezami ter odložijo v celice satovja. V osnovi je med kompleksno sestavljeno živilo, večina njegove sestave so ogljikovi hidrati in voda, poleg teh dveh glavnih sestavin pa so prisotne še mnoge druge, različne in zelo koristne snovi (Pušnik, 2016).

Med kot priljubljen čebelji pridelek že od nekdaj zelo raznovrstno uporabljamo, tako v Sloveniji, kot po vsem svetu. V prvi vrsti ga uporabljamo kot živilo in sladilo, kot kozmetično sredstvo in tudi kot domače zdravilo. Kot tako vsestransko uporabljeno živilo pa je dostikrat zaradi višje cene podvrženo potvorbam, katere zmanjšajo kakovost živila. Želja po zaslužku mnogokrat rodi nove in nove ideje potvorbe živil, zato je odkrivanje le – teh toliko bolj pomembno.

Zaradi zaščite potrošnikov se zato povečujejo zahteve po preverjanju pristnosti in kakovosti živil na trgu. Kemijske analize določanja kakovosti živil so večinoma drage, zamudne, komplicirane in zaradi porabe organskih topil škodljive do okolja. Zato je potreba po razvoju hitrih, enostavnih, zanesljivih, cenejših in morda celo nedestruktivnih metodah vse večja. Na tem področju ima merjenje električnih lastnosti živil velik potencial.

Za med je značilna določena vsebnost različnih sladkorjev. Že določitev vsebnosti glavnih dveh sladkorjev, glukoze in fruktoze ter njunega razmerja lahko hkrati z določitvijo električne prevodnosti uporabimo kot ločitveni test za določanje vrste medu in njegove pristnosti. Ker pa je klasičen način analize sladkorjev zamuden, je smiselno iskati hitrejša načine za ovrednotenje vsebnosti glukoze in fruktoze v medu (Golob in sod., 2008b).

1.1 CILJI NALOGE

Cilj diplomske naloge je določiti petim značilnim vrstam slovenskega medu (akacijev, cvetlični, gozdni, kostanjev ter lipov med) in njihovim raztopinam dielektrično konstanto, faktor dielektričnih izgub in električno prevodnost v odvisnosti od frekvenca, v frekvenčnem območju med 100 kHz in 2 MHz, ter ugotoviti vpliv vsebnosti vode, mineralnih snovi, glukoze in fruktoze na dielektrični spekter.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

- Električna prevodnost in vsebnost glukoze, fruktoze, maltoze in saharoze se bo razlikovala pri različnih vrstah medu.
- Vpliv temperature na dielektrično konstanto, faktor dielektričnih izgub in električno prevodnost se bo razlikoval pri različnih vrstah medu.
- Na dielektrični spekter bo vplivala količina vode, količina mineralnih snovi in sestava sladkorjev v medu.

2 PREGLED OBJAV

2.1 MED

Po definiciji Pravilnika o medu (2011) je med je naravna sladka snov, ki jo izdelajo čebele *Apis mellifera* iz nektarja cvetov ali izločkov iz živih delov rastlin ali izločkov žuželk, ki sesajo rastlinski sok na živih delih rastlin, ki jih čebele zberejo, predelajo z določenimi lastnimi snovmi, shranijo, posušijo in pustijo dozoreti v satju.

Glede na izvor se med po Pravilniku o medu (2011) deli na:

- »nektarni med« ali »cvetlični med«, ki je pridobljen iz nektarja cvetov
- »manin med« ali »gozdni med«, ki je pridobljen predvsem iz izločkov žuželk (*Hemiptera*) na živih delih rastlin ali izločkov živih delov rastlin

Čebele lahko nabirajo tudi druge sladke sokove v naravi, kot so sokovi iz poškodovanega grozdja in podobni primeri (Božnar, 2003).

Medicina ali nektar je sladek sok, izloček cvetov večine cvetnic, ki jih oprahujejo žuželke in je po večini sestavljen iz vode in sladkorjev (Golob in sod., 2008a). Čebele najraje obiskujejo rastline, ki izločajo več in bolj sladek nektar. Nektar poleg vode in sladkorjev vsebuje še različne aminokisline, organske kisline, vitamine, minerale, fenolne spojine, aromatične spojine ter barvila. Izvor nektarja je mogoče določiti z analizo cvetnega prahu (Meglič, 2004).

Mana je odvečni stranski produkt, ki jo izločajo listne uši, kaparji in škržati (Meglič, 2004). Mana je sicer živalski izloček, vendar ni produkt presnove prej navedenih žuželk, temveč ostanek drevesnih sokov. Iz njega žuželke porabijo le majhno količino sladkorjev, ostanek pa izločijo v obliki sladkih kapljic – mane (Golob in sod., 2008a). Glavna sestavina mane so različni sladkorji, aminokisline, vitamini, organske kisline in encimi. V primerjavi z nektarjem mana vsebuje precej rudnin, zlasti kalija, magnezija in fosforja (Božnar, 2003).

Med pa nastane tako, da čebele nato v panju medicino ali mano obdelajo, zgostijo, ji primešajo izločke svojih žlez in jo shranijo v satje ter pokrijejo z voščenimi pokrovčki (Golob in sod., 2008a).

Za dober med je značilno (Božnar, 2002):

- da je bil pridelan v razmerah dobre čebelarke prakse
- da je dozorel v panju in je tak kot so ga ustvarile čebele

- da ne vsebuje tujih primesi
- da je gosto tekoč in vsebuje največ 18,6 % vode
- da prej ali slej kristalizira

2.1.1 Vrste medu

Med mnogo poznanimi vrstami medu v Sloveniji smo za diplomsko nalogo izbrali pet za naše trgovine značilnih vrst medu. To so: akacijev, cvetlični, gozdni, kostanjev in lipov med.

2.1.1.1 Akacijev med

Akacijev med je izrazito svetle barve – prehaja od skoraj brez barve do slamnato rumene in ima zelo neizrazit vonj. Okus je izrazito sladek s srednjo do močno intenzivnostjo. Intenzivnost arome je zelo šibka. Vonj je prav tako zelo neizrazit, če pa je obratno pa nakazuje na navzočnost drugega nektarja in posledično na napako. Še ena posebnost akacijevega medu je, da ima najnižjo električno prevodnost in pH vrednost med vsemi vrstami medu v Sloveniji. Akacijev med tudi zelo redko kristalizira, ima pa ugoden vpliv na počutje saj pomirja ter blaži utrujenost. V Sloveniji se ga toči maja in junija (Božnar, 2002; Golob in sod., 2008c; Pušnik, 2016).

2.1.1.2 Cvetlični med

Za cvetlični med je značilno, da je dokaj svetel in po okusu srednje do močno ali celo zelo močno sladek in da ima pekoč pookus po sladkem. Obvezno je navzoč tudi kisel okus, ki mora biti šibko do srednje močno izražen. Cvetlični med mora imeti prevodnost nižjo od 0,8 mS/cm. Za ta med je tudi značilno, da se lahko dokaj hitro podvrže kristalizaciji, ki pa je delna in nepravilna, pogosto nastanejo veliki kristali. Cvetlični med krepi žile in srce, točimo pa ga od pomladi do jeseni (Božnar, 2002; Golob in sod., 2008c; Pušnik, 2016).

2.1.1.3 Gozdni med

Gozdni med se lahko med seboj zelo razlikuje po barvi, vonju, okusu in aromi in to zato, ker je mešanica različnih vrst mane listavcev in iglavcev. Običajno je od svetlo do temno rjave barve. Za gozdni med je značilno, da v njem ne prevladuje nobena vrsta mane in da sta sladek in kisel okus uravnovešena. Aroma je močna, okus pa sladek, poln, prijeten in običajno močan. Pogosto je mešan s cvetličnim medom zato, ker čebele v gozdu obiskujejo tudi podrast. Kristalizacija je srednja, ponavadi zajame vso količino. Električna prevodnost gozdnega medu mora biti višja kot 0,8 mS/cm. Gozdni med krepi odpornost organizma in

pomaga pri vnetju žrela. V Sloveniji ga točimo julija in avgusta (Božnar, 2002; Golob in sod., 2008c; Pušnik, 2016).

2.1.1.4 Kostanjev med

Kostanjev med se zelo razlikuje od drugih vrst medu predvsem po svojem grenkem in trpkem vonju, grenkem okusu in zelo izraziti in obstojni aromi. Grenčica izvira iz zrnč cvetnega prahu, ki ga je v tem medu veliko. Lahko je temno rjave ali jantarne barve, z rdečim odtenkom in je vedno bister na videz. Ima zelo intenziven vonj, kdaj celo tako intenziven, da je odbijajoč. Kostanjev med kristalizira počasi, med kristalizacijo pa tvori grobe kristale zaradi večje vsebnosti fruktoze. Kostanjev med najpogosteje sestavljata nektar in mana, njegova električna prevodnost je zelo visoka, tudi do več kot 2 mS/cm. Ugodno deluje na prebavila, jetra, nespečnost in živce. Točimo ga junija in julija (Božnar, 2002; Golob in sod., 2008c; Pušnik, 2016).

2.1.1.5 Lipov med

Lipov med čebele pridelajo iz nektarja in mane, zato ima lastnosti obeh vrst medu. Lipov med je lahko od svetlo rumene do svetlo jantarne barve z zelenim odtenkom. Njegov vonj je svež in nežen in ima srednjo do močno intenzivnost. Okus ima uravnotežen in je lahko močan, malo pekoč in dolgotrajen, lahko pa rahlo prevladuje okus po sladkem. Ima zelo značilen okus po lipovem cvetju in je zelo osvežilen. Intenzivnost arome je srednja do močna in je značilna za lipo. Če med izvira iz nektarja, kristalizira hitro, če pa je iz mane, se vrši počasi. Kristali so navadno veliki in neenakomerno razporejeni. Električna prevodnost lipovega medu ni omejena in niha med zelo nizko (0,5 mS/cm) in visoko (več kot 1,0 mS/cm). Lipov med pomaga pri premagovanju prehlada, točimo pa ga v juniju in juliju (Božnar, 2002; Golob in sod., 2008c; Pušnik, 2016).

2.1.2 Sestava medu

Med je kompleksna mešanica 300 različnih kemijskih spojin, večino tega (75 – 80 %) zasedajo raznovrstni sladkorji in voda (14 – 20 %). Poleg sladkorjev in vode so v medu še mnoge druge snovi, kot so na primer organske kisline (0,1 – 1 %), beljakovine (0,2 – 2 %), različni elementi (0,1 – 1,5 %), proste aminokisline (med aminokislinami je prolina od 50 – 85 %), encimi (invertaza, katalaza, glukozidaza, fosfataza), vitamini (B1, B2, B6, C, biotin, pantotenska, folna in nikotinska kislina), barvila, flavonoidi, hormon acetilholin, fenoli in številne druge organske snovi v sledovih, katere največ prispevajo k barvi, okusu, aromi in vonju posameznih vrst medu (Golob in sod., 2008b). Med vsebuje tudi veliko mineralnih snovi, v cvetličnem medu (nektarnega izvora) je okrog 0,35 %, v gozdnem (maninega izvora) pa nad 0,85 % mineralnih snovi. V medu so prisotni še številni

mikroelementi kot so aluminij, železo, kalcij, kalij, magnezij, baker, mangan, natrij, fosfor, krom, cink, žveplo, klor,...(Pušnik, 2016).

Voda, kot druga najbolj zastopana sestavina v medu, ima izreden pomen na senzorično kakovost, obstojnost in fizikalno – kemijske parametre medu. Po Pravilniku o medu (2011) ima lahko med največ 20 % vsebnost vode, povprečno pa slovenski čebelarji pridelujejo med z izjemno nizko vsebnostjo vode – to je manj kot 17 %. Med z višjo kakovostjo in geografsko zaščito slovenski med, pa ima lahko največ 18,6 % vsebnosti vode. Za porabnika je tak med kakovostno boljši od medu, ki vsebuje recimo 20 % vode. Manjša kot je njena vsebnost v medu, bolj je med obstojen, gost in viskozen. Če je vsebnost vode pod 15 %, potem je med slabo tekoč, bolj viskozen in hitreje kristalizira. V takih razmerah je onemogočeno delovanje ozmofilnih kvasovk in s tem fermentacija medu. Pri fermentaciji medu, ki je običajno počasen proces, se iz sladkorjev proizvajata ogljikov dioksid in alkohol, ta pa potem v ocetno kislino in kisik. Vsebnost vode v medu je odvisna od mnogih dejavnikov, kot so vrsta in intenzivnost paše, podnebja, vrste panja in samega dela čebelarjev (Božnar, 2003; Golob in sod., 2008c; Meglič, 2008; Pušnik, 2016).

2.1.3 Sestava ogljikovih hidratov v medu

Ogljikovi hidrati so, kot glavna sestavina medu, odgovorni za njegove fizikalno – kemijske lastnosti, kot so viskoznost, kristalizacija in higroskopsnost (to je vezava vlage iz zraka) ter energijsko vrednost in fizikalno stanje medu (tekoče ali kristalinično stanje). Predvsem je pomembno razmerje ogljikovih hidratov, ki pa je odvisno od različnih dejavnikov, kot so botanični izvor, podnebje, vrsta čebel,... (Golob in sod., 2008b). Visoka koncentracija sladkorjev v medu pa je tudi naravni konzervans, saj se mikroorganizmi v takem okolju ne morejo razmnoževati in tako je med posledično zelo varno živilo.

Invertni sladkor, ki je mešanica monosaharidov fruktoze in glukoze, predstavlja veliko večino vseh ogljikovih hidratov v medu, to je od 65 do 95 %. V primerjavi medu, nastalega iz mane in medu iz nektarja, je vsebnost invertnega sladkorja večja v medu iz nektarja (več kot 65,5 %), kot v medu iz mane (več od 59 %).

Glukoza je slabše topna v vodi, kristalizira pa pri temperaturah nižjih od 50 °C. Po drugi strani pa je fruktoza dobro topna v vodi, zelo higroskopična in zelo počasi kristalizira. Njuno razmerje je predvsem odvisno od botaničnega izvora medu, a večinoma velja da je v medu več fruktoze (okoli 40 %), kot glukoze (okoli 34 %), kar pomeni da med s takim razmerjem potrebuje dalj časa da kristalizira. Visoka vsebnost fruktoze je značilna za kostanjev in akacijev med (Golob in sod., 2008b).

Po Pravilniku o medu (2011) mora biti vsebnost vsote fruktoze in glukoze za cvetlični med najmanj 60 g/100 g medu, za gozdni med ali mešanico gozdnega in cvetličnega medu pa vsaj 45 g/100 g medu. V pravilniku je tudi predpisana vsebnost saharoze, in sicer jo je lahko največ 5 g/100 g medu, edino za akacijev med velja vrednost največ 10 g/100 g medu. Med drugimi ogljikovimi hidrati je največ trisaharidov melecitoze in maltotrioze, ter tudi erloze, rafinoze in panoze. Melecitozo vsebuje med iz mane in je zato dober pokazatelj izvora medu (Golob in sod., 2008b).

V spodnji preglednici 1 (Golob in sod., 2008c) so povprečne vrednosti sladkorjev v petih vrstah medu, katere smo uporabili v diplomski nalogi.

Preglednica 1: Povprečna vsebnost sladkorjev v posameznih vrstah medu (Golob in sod., 2008c)

Vrsta medu / Vsebnost sladkorja	Akacijev	Cvetlični	Gozdni	Kostanjev	Lipov
Glukoza (g/100 g)	26,70	30,90	27,50	24,96	33,94
Fruktoza (g/100 g)	39,26	35,91	31,76	21,29	38,44
Glukoza+fruktoza (g/100 g)	65,96	66,81	58,84	47,74	/
Saharoza (g/100 g)	4,37	2,65	3,49	2,79	0,22

2.1.4 Kakovost in potvorjenost medu

2.1.4.1 Preverjanje kakovosti medu

Čebele vedno pridelajo med prvinske kakovosti, ne glede na to kje so nabrale mano ali nektar. Čebelar te prvinske kakovosti ne more izboljšati, ampak jo lahko z neustrezno tehnologijo le poslabša. Čebele proizvajajo med vedno po istem receptu in ne znajo pridelati eno leto boljšega in drugo leto slabšega medu, lahko pa pridelajo eno leto več in drugo leto manj medu, kar pa nima veze s samo kakovostjo medu (Meglič, 2008).

Med namenjen za prodajo ne sme (Pravilnik o medu, 2011):

- vsebovati nobenih dodatkov
- se mu odvzeti cvetnega prahu ali zanj značilnih sestavin
- vsebovati neznačilnih primesi
- imeti tujega okusa ali vonja
- fermentirati
- biti njegova stopnja kislosti umetno spremenjena
- biti izveden tehnološki postopek tako, da so naravni encimi bodisi uničeni ali da je zmanjšana njihova aktivnost

Med najpomembnejše parametre preverjanja kakovosti medu spadata **vsebnost vode** in **vsebnost glukoze in fruktoze**, o katerih smo podrobneje pisali v prejšnjem poglavju. Med druge pomembne parametre preverjanja kakovosti medu spada **vsebnost prostih kislin**. Povečana vsebnost le teh kaže na fermentacijo medu, ki je posledica delovanja ozmofilnih kvasovk, ki pretvarjajo sladkor v alkohol in naprej v kisline in ogljikov dioksid. Drug pomemben parameter preverjanja kakovosti medu je vsebnost **hidroksimetilfurfurala (HMF)**. HMF je sestavina medu, ki nastaja pri razgradnji fruktoze v kislem okolju, hitrost njegovega nastanka pa je odvisna od temperature. V svežem medu je vsebnost HMF 0,06 – 0,2 mg/kg, večja vsebnost kot ta, pa kaže na neustrezno segrevanje medu, oziroma na njegovo neprimerno skladiščenje (Golob in sod., 2008b). Pravilnik o medu (2011) dovoljuje največ 40 mg HMF/kg medu. Za preverjanje kakovosti medu se uporablja tudi preverjanje aktivnosti encima **diastaze** (amilaze), ki je izjemno občutljiva na povišano temperaturo, kar nam tudi pove o skladiščenju in ravnanju z medom. Pravilnik o medu (2011) predpisuje diastazno število najmanj 8 po Schadejevi lestvici. **V vodi netopne snovi** so pomemben pokazatelj čistosti medu. Pod to kategorijo spadajo delci prahu, cvetni prah, ostanki čebel, ostanki satja in druge nečistoče (Bogdanov in sod., 1999). Po Pravilniku o medu (2011) sme skupna masa netopnih snovi največ 0,1 % mase medu, oziroma 0,5 % v prešanem medu. **Električna prevodnost** je značilna za posamezno vrsto medu, zato lahko to metodo uporabimo za določitev botaničnega porekla medu. Odvisna je predvsem od količine mineralnih snovi in kislin v medu (Korošec, 2012).

2.1.4.2 Preverjanje potvorjenosti medu

Po Korošec (2012) se lahko potvorbe medu, glede na njihov vzrok, razdeli v dve skupini:

- Potvorbe zaradi namernega dodajanja sladkornega sirupa (invertni, koruzni, koruzni z visokim deležem fruktoze, pesin, rižev), katerega se dodaja v sam med ali se z njim krmi čebele, da se s tem poveča količina pridobljenega medu
- Potvorbe zaradi neustrezne deklaracije imena in vrste medu

Med najpogostejše potvorbe medu sodijo redčenje medu z vodo in dodajanje sladkorja oziroma sladkornih sirupov različnega izvora (Korošec, 2012). Za ponarejen med se šteje tudi med, ki so ga čebele proizvedle iz dodane sladkorne raztopine, ki je hrana čebelam med zimo. Enako velja za med, katerega stopnja kislosti je umetno spremenjena, kar je lahko posledica zatiranja škodljivcev z mravljinčno kislino. Med, ki ima občutno spremenjen vonj, na primer zaradi nepravilnega zatiranja škodljivcev s timolom, se tudi šteje kot ponarejen. Enako tudi velja, če so medu dodani encimi (Meglič, 2004).

Suma na potvorbo medu s sladkornim sirupom ne moremo zanesljivo potrditi ali ovreči le z analizo enega samega parametra. Določiti je treba vrednosti različnih parametrov

kakovosti medu, kar pa je zahtevno in zamudno, zato rutinska kontrola pristnosti medu zahteva hitre, nedestruktivne in zanesljive metode (Korošec, 2012).

Vsebnost kislin je pomembno merilo za ugotavljanje pristnosti medu. Ker je običajna pH vrednost medu od 3,2 do 5,5, potem pH vrednosti višje od 6,0 kažejo na ponarejanje medu z neinvertnim sladkorjem, pH nižji ali enak 3,0 pa na dodatek invertnega sladkorja (Golob in sod., 2008b). Po Pravilniku o medu (2011), sme biti vsebnost kislin največ 50 mg/kg medu. Kot indikator potvrjenosti medu se uporablja tudi aminokislina **prolin**, ki ima največji delež med aminokislinami (50 – 85 %) v medu. Njegova vsebnost je odvisna od vrste medu, najmanj ga vsebuje akacijev (približno 300 mg/kg), največ pa kostanjev med (nad 600 mg/kg). Med lahko, zaradi velike vsebnosti in optične aktivnosti sladkorjev, suče polarizirano svetlobo v levo ali desno. Temu pravimo **optična rotacija**, ki ima pozitivno (desnosučnost) ali negativno (levosučnost) vrednost. Med iz nektarja je levosučen, med iz mane in potvorjen med pa desnosučen (Golob in sod., 2008b; Korošec, 2012).

2.1.5 Analizne metode za določanje kakovosti medu

Metode določanja kakovosti medu, ki se uporabljajo za določanje prej naštetih parametrov, so standardizirane, dobro utečene in zbrane v zbornikih, kot sta Harmonised methods of International Honey Commission (Bogdanov, 2009) in Official methods of analysis of AOAC International (AOAC, 1999).

Vsebnost vode v medu se določa refraktometrično, z določevanjem lomnega količnika. Čeprav je ta metoda manj natančna (nižje dobljene vrednosti) kot titracijska metoda po Carl Fischerju, je vseeno uspešna, enostavna in ponovljiva, zato ni potrebe po njeni zamenjavi (Bogdanov, 2009).

Vsebnost sladkorjev v medu se najpogosteje določa s kromatografskimi metodami, kot so: HPLC z amino kolono in refraktometričnim detektorjem, HPLC z ionsko izmenjevalno kolono in pulzno amperometričnim detektorjem in GC (plinska kromatografija) s kapilarno kolono za ločbo derivatov enostavnih sladkorjev. GC metoda je bolj primerna za raziskave. Poleg tega se uporablja še Fehlingovo metodo, ki pa je manj natančna in ima slabšo ponovljivost (Bogdanov, 2009; Korošec, 2012).

V vodi netopne snovi v medu določamo gravimetrično s filtracijo raztopine medu skozi steklene filtrirne lončke. Pri tej metodi je bila ugotovljena velika variabilnost rezultatov (Bogdanov, 2009).

Za določanje aktivnosti diastaze sta v uporabi dve spektrofotometrični metodi. Prva je tradicionalna metoda po Schadeju, ki uporablja škrob kot substrat in določa aktivnost

diastaze v enotah Schade. Druga je Phadebas metoda, ki uporablja umetni substrat in je tudi bolj natančna. Rezultat podajamo kot diastazno število (Bogdanov, 2009).

HMF se v medu določa z metodo HPLC in spektrofotometrično po Whiteu in Winklerju. Winklerjeva metoda se odsvetuje zaradi uporabe rakotvornih reagentov v analizi (Bogdanov, 2009).

Električno prevodnost medu pa določamo konduktometrično v raztopini medu z 20 % suhe snovi in pri temperaturi 20 °C (Bogdanov, 2009).

2.2 OPIS FIZIKALNOKEMIJSKIH METOD

2.2.1 Refraktometrija

Ko žarek svetlobe zadane plosko površino pod kotom, se ta žarek lahko ukrivi navzgor (se odbije ali reflektira) ali navzdol (se lomi ali refraktira) zato, ker je hitrost svetlobe v zraku znatno večja kot v drugem mediju. Stopnja refrakcije je značilnost vsake snovi in jo opišemo z lomnim količnikom ali indeksom refrakcije. Hitrost svetlobnega žarka je odvisna od temperature, sestave, koncentracije in čistosti substance skozi katerega pronica.

Lomni količnik je definiran kot razmerje med sinusom vpadnega kota žarka in sinusom lomnega kota prepuščenega žarka. Lomni količnik je odvisen od temperature, pritiska, nekoliko tudi od valovne dolžine svetlobe in pri raztopinah od koncentracije. Za pravo raztopino določene snovi je značilno, da ima pri konstantni temperaturi in pritisku konstanten lomni količnik. Običajno se lomni količnik določa pri temperaturi 20,0 °C in standardni valovni dolžini 589,26 nm (Na – svetlobni izvor). Oljem določamo lomni količnik pri 25 °C, mastem pa pri 40 °C, ker so pri sobni temperaturi trdne (Golob, 1999; Peris – Tortajada, 1996; Rudan – Tasič in Klofutar, 2007).

V živilstvu se merjenje lomnega količnika uporablja za hitro določanje vsebnosti suhe snovi oz. vode v: sadnih sokovih, želejih, marmeladah, medu in ostalih živilih, ki vsebujejo veliko ogljikovih hidratov, beljakovin ali maščob (Golob, 1999).

Aparature za merjenje lomnega količnika so refraktometri. Najbolj poznan je Abbejev refraktometer, za raztopine se uporablja potopni refraktometer in za analizo vode v medu ročni refraktometer, poleg teh pa še poznamo diferencialni refraktometer in interferometer, ki pa sta bolj kompleksna instrumenta. Pri meritvah z refraktometrom je bistvenega pomena definirana valovna dolžina in konstantna temperatura, ker je lomni količnik

odvisen od temperature. Za natančnejše merjenje se uporablja valovno dolžino 589,26 nm, sicer pa pri ročnem refraktometru uporabimo belo svetlobo, temperaturno korekcijo pa izvedemo po priloženih navodilih (Golob, 1999; Park, 1996; Rudan – Tasič in Klofutar, 2007).

Refraktometrija je direktna, fizikalna metoda (Park, 1996). Njene prednosti so:

- Hitrost
- Ne potrebuje kompleksnih in dragih instrumentov
- Enostavna in primerna natančnost
- Odlična metoda za sadje, mleko in živila polna ogljikovih hidratov

Slabosti:

- Občutljiva na temperaturo
- Potrebuje posebno pripravo nekaterih vzorcev živil (meso,..)
- Potrebuje homogenost vzorcev

2.2.2 HPLC

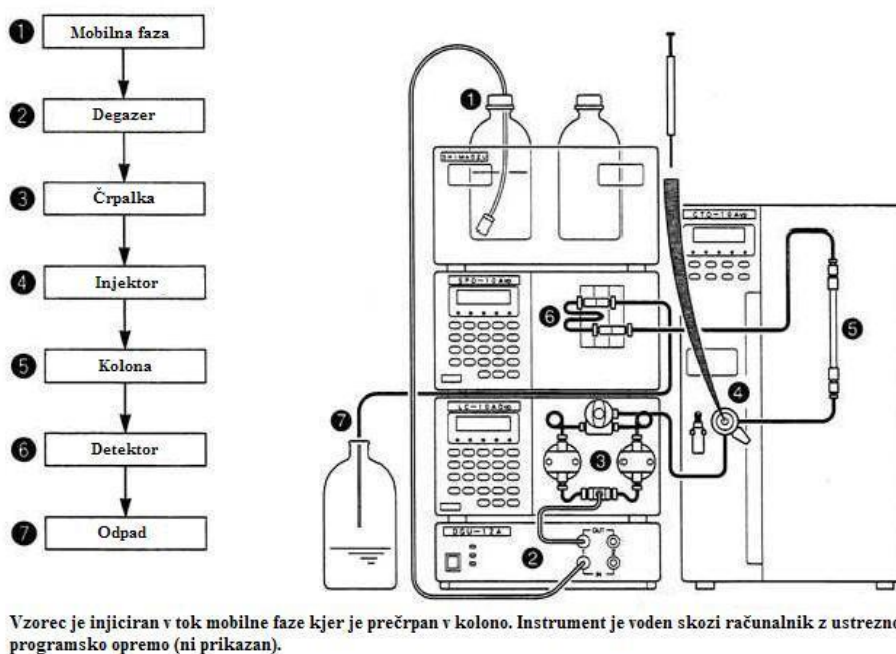
Kromatografija je separacijski proces. Kromatografska analiza je postopek, kjer najprej ločimo posamezne komponente vzorca in jih nato zaznamo z ustrezno detekcijo, s ciljem kvalitativne ali kvantitativne določitve. V praksi skušamo doseči čim boljšo separacijo v čim krajšem času z optimizacijo vseh parametrov in komponent kromatografskega sistema. Posamezne komponente preiskovanega vzorca se ločijo med seboj na podlagi njihovih različnih fizikalnih in kemijskih interakcij z mobilno in stacionarno fazo (Žorž, 1991).

Tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (high – performance liquid chromatography, HPLC) je najbolj raznovrsten in najbolj razširjen tip elucijske kromatografije. Elucija je proces, v katerem se topljenec loči preko toka mobilne faze skozi stacionarno fazo. Tej mobilni fazi, ki se izloči skozi kolono se pravi eluat. Stacionarna faza pri HPLC je fiksirana v koloni skozi katero teče mobilna faza. Osnova stacionarnih faz je največkrat silikagel. Manjši kot so delci v koloni, večja je ločljivost kolone. Kolone so pri HPLC metodi kratke, v primerjavi s klasično tekočinsko kromatografijo, in s tem je sorazmerno kratek tudi čas kromatografskega postopka. Mobilna faza je tekoča in prenaša analitsko mešanico, katera se loči na stacionarni fazi. Za mobilno fazo se uporabljajo čista organska topila, pufri in voda. HPLC metoda se pogosto uporablja za ločevanje in določevanje raznovrstnih organskih, anorganskih in bioloških materialov (Skoog in sod., 2004; Šegatin in sod., 2010).

Instrument HPLC (slika 1) je oblikovan za delo pri visokih tlakih. S črpalko pri visokem tlaku potiskamo mobilno fazo, ki vsebuje spojine, ki jih želimo analizirati, skozi kolono

napolnjeno s stacionarno fazo. Velika površina majhnih delcev v gosto pakirani koloni omogoča učinkovito ločevanje snovi (Šegatin in sod., 2010). Najenostavnejši HPLC sistem mora imeti naslednje komponente (Žorž, 1991):

- rezervoar za mobilno fazo
- črpalko, ki ustvarja tlak od nekaj atmosfer do nekaj 100 ali 1000 atm
- avtomatski podajalnik vzorcev z injektorjem za vnos vzorca v sistem
- kromatografsko kolono, kjer poteka ločba
- detektor za ovrednotenje ločene komponente
- instrument za zapis signala



Slika 1: Blokovna shema HPLC sistema (Biochemical practicals..., 2013: 20)

Dobljene rezultate ovrednotimo s kromatogrami, to je zapis signala detektorja v odvisnosti od volumna mobilne faze. Posamezne komponente se v kromatogramu kažejo kot kromatografski vrhovi (chromatographic peaks). Glavna lastnost le teh sta površina vrha in retencijski volumen (čas). Retencijski volumen (čas) je osnova za kvalitativno identifikacijo spojine, površina vrha pa je sorazmerna količini spojine in omogoča določitev kvantitete snovi v zmesi. Retencijski (elucijski) volumen je volumen, ki je potreben, da se neka snov izloči iz kolone. Retencijski čas pa je čas, ki je potreben, da se neka spojina pojavi na iztoku kolone pri konstantnem pretoku skozi njo (Šegatin in sod., 2010).

Dobljene kromatograme potem integriramo, torej primerjamo višino ali površino posameznega vrha vzorca z višino ali površino standarda (Rudan – Tasič in Klofutar, 2007). Tako dobimo vrsto podatkov, ki so sestavljeni iz retencijskih časov, višin in površin vrhov, iz katerih potem računamo koncentracije posameznih komponent, pri čemer uporabljamo različne metode določevanja koncentracij. Pri našem delu smo uporabili:

- Metodo eksterne standarda
- Metodo standardnega dodatka

Metoda eksterne standarda

Pri tej metodi izberemo koncentracijo standarda, ki je podobna koncentraciji vzorca, posnamemo ločena kromatograma vzorca in standarda in izračunamo koncentracijo preiskovane substance iz površine ali višine vrha za vzorec in standard.

Metoda standardnega dodatka

Pri tej metodi moramo vsaj približno poznati koncentracijo določene substance v vzorcu, da jo sploh lahko uporabimo. Najprej posnamemo kromatogram samega vzorca in izmerimo odziv ustreznega vrha preiskovane substance v kromatogramu. Potem v isti vzorec dodamo določeno količino preiskovane substance in zopet posnamemo kromatogram. Odziv vrha preiskovane substance je sedaj večji zaradi dodatka substance.

HPLC se je hitro razvila v glavno instrumentalno metodo za določevanje sladkorjev. Po separaciji na primerni koloni, se sladkorji določijo z ustreznim detektorjem, ki v primeru sladkorjev, pogosto temeljijo na določevanju lomnega količnika. Določeni sladkorji, ki so prisotni, so identificirani po retencijskem času in kvantificirani glede na površine ali višine vrhov (Ceirwyn, 1995).

Prednosti HPLC metode so:

- Hitrost
- Relativno hitro upravljanje, ko se vzpostavi sistem
- Identifikacija in kvantifikacija posameznih sladkorjev v mešanicah le-teh v hrani

Slabosti:

- Drage aparature
- Stacionarnost

2.2.3 Električna prevodnost

Določanje električne prevodnosti temelji na merjenju električne upornosti, ki je recipročna vrednost električne prevodnosti. Upornost oziroma električna prevodnost je odvisna od vrste raztopine, površine elektrod in razdalje med njima. Količina neodvisna od geometrije

elektrod je specifična električna prevodnost raztopine in je enaka električni prevodnosti raztopine med dvema elektrodama z enoto površine (cm^2) in medsebojno razdaljo ene enote (cm). Razmerje med razdaljo elektrod in površino le teh imenujemo konstanta celice, katero podajamo v cm^{-1} . Določimo jo tako, da izmerimo električno prevodnost vodne raztopine kalijevega klorida, za katero poznamo prevodnost. Raztopine kalijevega klorida, ki jih uporabljamo za kalibracijo konduktometrov, so standardizirane, njihovo koncentracijo pa podajamo v enotah Demal (D). Z določeno konstanto celice lahko izračunamo specifično električno prevodnost neznane raztopine, če poznamo njen električni upor. Rezultat električne prevodnosti podajamo v enotah miliSiemens na centimeter (mS/cm) (Korošec, 2012; Rudan – Tasič in Klofutar, 2007; Šegatin in sod., 2010). Izraz specifična električna prevodnost velikokrat skrajšamo v električna prevodnost ali celo samo prevodnost.

Instrument za merjenje električne prevodnosti se imenuje konduktometer. Poleg uporabe konduktometrov v živilski industriji (kontrola pri proizvodnji sladkorja, mesnih in mlečnih izdelkov,...) se le-te uporabljajo še v kemični, usnjarski, papirni, tekstilni industriji in pri ekologiji (kontrola odpadkov, vodotokov, rečnih vod,...) (Golob, 1999).

Električna prevodnost vodne raztopine čistega elektrolita je pri konstantni temperaturi odvisna od koncentracije. Če je v razredčeni raztopini en sam elektrolit, lahko določimo njegovo koncentracijo neposredno z merjenjem električne prevodnosti. Pri raztopinah, ki pa jih sestavljajo različne raztopljene sestavine, je električna prevodnost odvisna tudi od oblike, v kateri se te snovi nahajajo. Na primer prisotnost prostih ionov močno vpliva na vrednost električne prevodnosti, medtem ko koordinacijske spojine teh ionov in organskih molekul mnogo manj vplivajo na električno prevodnost (Golob, 1999; Korošec, 2012; Rudan – Tasič in Klofutar, 2007).

Električno prevodnost medu določamo v raztopini medu z odstotno koncentracijo suhe snovi 20 %, pri temperaturi 20 °C (Bogdanov, 2009). Električna prevodnost medu in njegovih raztopin je odvisna od koncentracije mineralnih snovi, organskih kislin, proteinov, sladkorjev, pepela,... Vrednosti električne prevodnosti so odvisne od vsebnosti pepela in kislin v medu – višja kot je njuna vsebnost, višja je prevodnost medu (Kropf in sod., 2008). Zaradi visoke koncentracije sladkorjev v medu, ki zmanjšajo gibljivost ionov, je prevodnost medu sorazmerno nizka in lahko pri nekaterih koncentracijah tudi narašča z redčenjem medu z vodo. Maksimalno električno prevodnost imajo raztopine medu z 20 – 30 % suhe snovi, ker sta koncentracija in gibljivost ionov v taki raztopini optimalna (Golob, 1999).

Električna prevodnost nam lahko poda koristno informacijo o kakovosti medu in njegovi morebitni potvorjenosti. Ker pa so vrednosti električne prevodnosti medu značilne tudi za posamezno vrsto medu, nam ta podatek omogoča prepoznavanje porekla medu, predvsem

pri ločevanju medu iz nektarja in medu iz mane (Golob in sod., 2008c). Po Pravilniku o medu (2011), maksimalna vrednost električne prevodnosti medu iz nektarja (razen kostanjevega medu), ne sme presegati vrednosti 0,8 mS/cm, maksimalna vrednost električne prevodnosti medu iz mane in kostanjevega medu, pa mora biti enaka oziroma večja od 0,8 mS/cm.

2.2.4 Dielektričnost

Relativna permitivnost materiala, ki opisuje odpor materiala na zunanje električno polje, je podana kot razmerje med permitivnostjo materiala in permitivnostjo vakuumu (Datta in sod., 2005):

$$\varepsilon^* = \frac{\varepsilon}{\varepsilon_0} \quad \dots (1)$$

ε^* ...relativna permitivnost materiala

ε ...permitivnost materiala

ε_0 ...permitivnost vakuumu ($\varepsilon_0 = 8,8542 \cdot 10^{-12} \text{ F/m}$)

Relativna permitivnost materiala, ε^* je sestavljena iz realnega, ε' in imaginarnega dela, ε'' :

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

ε' ...dielektrična konstanta (realni del relativne permitivnosti)

ε'' ...relativni faktor dielektričnih izgub (imaginarni del relativne permitivnosti)

j ...imaginarna enota kompleksne količine

Dielektričnost torej lahko delimo na dva dela:

- Dielektrično konstanto (ε')
- Faktor dielektričnih izgub (ε'')

Relativna permitivnost materiala, ε^* , dielektrična konstanta, ε' , kot tudi faktor dielektričnih izgub, ε'' so brezdimenzijske količine, ker so definirane relativno glede na permitivnost vakuumu, ε_0 . Dielektrična konstanta in faktor dielektričnih izgub merita sposobnost interakcije materiala, tudi živila, z električnim poljem elektromagnetnega valovanja. Dielektrična konstanta je sposobnost materiala, da shrani energijo valovanja, faktor dielektrične izgube pa je sposobnost materiala, da spremeni energijo valovanja v toploto (Datta in sod., 2005; Sahin in Gülüm Sumnu, 2006).

V živilstvu se za toplotno obdelavo živil najpogosteje uporablja mikrovalove, redkeje pa radijske valove. Mikrovalovi so elektromagnetni valovi, ki pokrivajo pester spekter frekvenc od 300 MHz do 30 GHz, radijski valovi pa od 300 kHz do 300 MHz. Zaradi motečih dejavnikov z drugimi napravami je uporaba omejena na 2450 MHz za mikrovalovne pečice domače rabe, 27,12 MHz in 915 MHz pa za industrijsko rabo.

Pri absorpciji mikrovalovne energije v živilu potekata predvsem dva mehanizma (Sahin in Gülüm Sumnu, 2006):

- Ionske interakcije
- Dipolarna rotacija

Ionske interakcije potekajo tako, da poskušajo pozitivno nabiti ioni potovati proti negativno nabitem delu električnega polja in negativno nabiti ioni proti pozitivno nabitem delu električnega polja. Vendar električno polje ni statično polje, saj se njegova polarnost stalno spreminja. Tako se pot ionov stalno spreminja, kar vodi do oscilacije ionov v mediju. Zaradi trkov ionov s sosednimi molekulami in trenja, ki ga povzročijo premiki ionov, se v vzorcu generira toplota, ki se širi tudi v druge dele materiala.

Dipolarna rotacija – Tudi polarne molekule v živilu, kot je voda, se poskušajo orientirati skladno z električnim poljem. Ker se polarnost polja spreminja, spreminjajočemu polju sledijo polarne molekule. Tudi rotacija polarnih molekul povzroča trke z drugimi molekulami in trenje, ki vodi v generacijo toplote. Voda je, kot najpogostejša močno polarna komponenta v hrani, odgovorna za dielektrično gretje pri 2450 MHz, medtem ko so pri nižjih frekvencah zelo pomembne tudi ionske interakcije (Datta in sod., 2005).

2.2.4.1 Dielektrične lastnosti živil

Dielektrične lastnosti živil so odvisne od njene sestave. Glavne sestavine hrane pa so voda, ogljikovi hidrati, maščobe, beljakovine in različne soli. Na dielektrične lastnosti hrane vpliva količina vezane in proste vode (a_w), površinska napetost, količina elektrolitov, neelektrolitov, število vodikovih vezi in pa tudi procesiranje hrane (izguba vode, denaturacija proteinov,...). Proteini, trigliceridi in škrob imajo nizko dielektrično aktivnost, po drugi strani pa imajo prosta voda, monosaharidi in ioni visoko dielektrično aktivnost (Sahin in Gülüm Sumnu, 2006).

Določanje dielektričnih lastnosti se v živilstvu lahko uporablja za kontrolo kakovosti živil, kot je recimo svežina mesa in rib, ocenitev kakovosti olja za cvrenje in določevanje vsebnosti vode. Dielektrične lastnosti dajejo hiter in nedestruktiven rezultat za vsebnost vode v živilih. Vsebnost vode v npr. žitih se lahko določi z merjenjem dielektričnih lastnosti, pri čemer je potrebno upoštevati še gostoto (Sahin in Gülüm Sumnu, 2006).

2.2.4.2 Dielektrične lastnosti ogljikovih hidratov

Škrob, sladkorji in gumi so glavni ogljikovi hidrati v prehrani. Za same ogljikove hidrate je značilna majhna dielektrična aktivnost, zato lahko z meritvami dielektričnih lastnosti ugotovljamo prisotnost proste vode, vodikovih vezi in interakcije med vodo in OH skupinami predvsem pri hidrolizatih škroba in sladkorjih (Sahin in Gülüm Sumnu, 2006).

Sladkor v raztopini spremeni dielektrično obnašanje vode. Voda vezana z vodikovimi vezmi na molekule sladkorja se mnogo slabše odziva na spremembo električnega polja. Do kolikšne mere pa to vpliva na dielektrične lastnosti, je pa odvisno od količine vodikovih vezi. Hidroksilne skupine glukoze so bolj dostopne za vezavo kot pa recimo pri škrobu, zato je faktor dielektričnih izgub manjši pri raztopinah škroba, kot pri sladkornih raztopinah (Sahin in Gülüm Sumnu, 2006). Liao in sodelavci (2003) so ugotovili, da so dielektrične lastnosti raztopin glukoze različnih koncentracij (10 – 60 %) odvisne od temperature in sestave. Dielektrična konstanta raztopine glukoze se je z naraščajočo temperaturo povečevala, faktor izgub pa zmanjševal. Povečanje koncentracije glukoze zmanjša dielektrično konstanto, ker je v bolj koncentrirani raztopini manj proste vode. Pri nižjih temperaturah so opazili, da se faktor izgub zniža, pri temperaturah nad 40 °C pa se poveča z naraščajočo koncentracijo. Pojav so avtorji pripisali količini vodikovih vezi med molekulami glukoze in vode.

2.2.4.3 Dielektrične lastnosti medu

Na dielektrične lastnosti medu vpliva več faktorjev, kot so temperatura, vsebnost vode in pepela (Ahmed in sod., 2007). Po Łuczzycka in sod. (2010, 2012) pa lahko z dielektričnimi lastnostmi do neke mere tudi določimo vrsto medu, predvsem pa dobro ocenimo kvaliteto medu. Opazili so, da se dielektrične lastnosti medu zelo spreminjajo s pregrevanjem medu v procesu dekristalizacije ali pri povečani vsebnosti vode v medu, še posebej pri medu z več kot 21 % vsebnostjo vode.

Guo in sodelavci (2011a, 2011b) so proučevali vpliv sestave sladkorjev in količine vode na dielektrične lastnosti medu in njegovih raztopin pri frekvencah med 10 in 4500 MHz. Ugotovili so, da se dielektrična konstanta medu in njegovih raztopin znižuje z naraščajočo frekvenco, medtem ko so za faktor dielektričnih izgub odkrili vrh v spektru pri 100 MHz. Pri raztopinah medu pa se je ta vrh premaknil k višjim frekvencam v GHz območje. Pri proučevanju vpliva temperature na dielektrično konstanto so ugotovili, da je naraščanje ali zniževanje dielektrične konstante in faktorja dielektričnih izgub s temperaturo odvisno od frekvence in koncentracije vode v medu.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI ZA RAZISKAVO

3.1.1 Osnovni vzorci medu

Za analizo smo izbrali 5 različnih vrst medu, proizvedenih v Sloveniji. Skoraj vse vrste medu so proizvedene v podjetju Medex, kostanjev med pa smo izbrali od lokalnega dobavitelja. Izbrali smo tiste vrste, ki jih lahko najpogosteje izberemo v naših trgovinah in tako smo izbrali cvetlični in gozdni med, ki sta najpogostejši vrsti medu pri nas ter akacijev, lipov in kostanjev med, ki se po svojih lastnostih močno razlikujejo (Golob, 2008c).

Preglednica 2: Seznam vzorcev medu za analizo

Vrsta medu	Oznaka
Akacijev	T1
Cvetlični	T2
Gozdni	T3
Kostanjev	T4
Lipov	T5



Slika 2: Vsi uporabljeni vzorci medu pri diplomski nalogi. Po vrsti: akacijev (T1), cvetlični (T2), gozdni (T3), kostanjev (T4) in lipov med (T5)

3.2 METODE

3.2.1 Določanje vsebnosti vode

Vsebnost vode v medu smo določali po metodi AOAC Official Method 969.38. Moisture in honey (AOAC..., 1999).

Aparature in oprema

- Dva ročna refraktometra Atago hand refractometer HHR – 2N s skalo za korekcijo temperature na hrbtni strani (R1 in R5)
- 100 mL čaše in steklene palčke
- Analitska tehtnica



Slika 3: Ročna refraktometra Atago hand refractometer HHR – 2N, uporabljena pri analizah

Priprava vzorca

Vzorci medu smo premešali s stekleno palčko, kristalizirane vzorce medu pa smo v vodni kopeli segreti do 40 °C, da so se utekočinili, jih premešali in ohladili na sobno temperaturo.

Izvedba analize

Na površino prizme ročnega refraktometra smo s plastično žličko nanесли vzorec medu in zaprli poklopec refraktometra. S pritiskom na poklopec smo med razporedili v tanki plasti po celotni površini prizme. Ob tem smo pazili, da ni bil v vzorcu ujet zračni mehurček, ker bi v nasprotnem primeru dobili napačen rezultat in bi morali postopek ponoviti.

Refraktometer smo usmerili proti svetlobi in pogledali skozi okular. Tam kjer je mejna črta sekala skalo smo odčitali izmerjeno vrednost. Refraktometer je umerjen na 20 °C. Če pa je temperatura merjenja odstopala od 20 °C, smo korekcijsko vrednost odčitali s skale na hrbtni strani refraktometra in jo prišteli ali odšteli od izmerjene glede na temperaturo merjenja vzorca. Po meritvi smo prizmo refraktometra očistili z destilirano vodo in temeljito obrisali do suhega.

3.2.2 Določanje vsebnosti saharidov v medu s HPLC metodo

Aparature in oprema

- Tekočinski kromatograf Agilent 1260 Infinity HPLC system z razplinjevalnikom G1322A, črpalko G1312B, avtomatskim podajalnikom vzorcev G1367E in termostatom za kolono G1316A
- Obdelava podatkov Agilent HPLC 2D ChemStation SW (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA, revision B.04.03)
- Detektor G1362A refractive index detector
- Kromatografska kolona Aminex HPX-87H column (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)
- Analitska tehtnica Mettler Toledo AT201



Slika 4: Instrument za tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti, HPLC, Agilent 1260 Infinity HPLC sistem

Reagenti

- Mobilna faza: 80/20 acetonitril/voda (acetonitril, Merck 1.00003)

- Standardi: fruktoza (Merck 1.04007), glukoza (Merck 1.08337), turanoza (BioChemica 93760), saharoza (Carlo Erba 477187), maltoza (Serva 28390)
- Metanol (Merck 1.06009)
- Prečiščena voda s sistemom MilliQ

Delovni pogoji

- Volumen injiciranja 10 μ L
- Temperatura vzorcev 4 $^{\circ}$ C
- Temperatura kolone 30 $^{\circ}$ C
- Pretok 1,3 mL/min
- Čas analize 30 min

3.2.2.1 Metoda eksterne standarda

Priprava standardov

Raztopine standardov smo pripravili za vsak sladkor posebej. Odtehtali smo ustrezno količino standarda v 100 mL merilno bučko, ga raztopili v vodi, prilili 25 mL metanola in z vodo razredčili do oznake. Odtehtane mase (m_{std}) in koncentracije standardov (γ_{std}) so hkrati z retencijskimi časi in površinami signalov standardov (P_{std}) zbrane v preglednici 3. Vsako raztopino smo analizirali v vsaj treh ponovitvah.

Preglednica 3: Mase in koncentracije standardov mono – in disaharidov v medu, ter retencijski časi in površine signalov pri analizi standardov, P_{std} za metodo eksterne standarda

Standard	m_{std} (g)	γ_{std} (g/L)	Retencijski čas ^a (min)	P_{std} ^a
Fruktoza	2,0059	20,06	6,04	2774350
Glukoza	1,5010	1,501	7,45	1749597
Saharoza	0,2502	0,250	11,93	352369
Turanoza	0,1040	0,208	12,42	138236
Maltoza	0,1505	0,151	15,52	142893

^a povprečje treh meritev

Priprava vzorcev za analizo

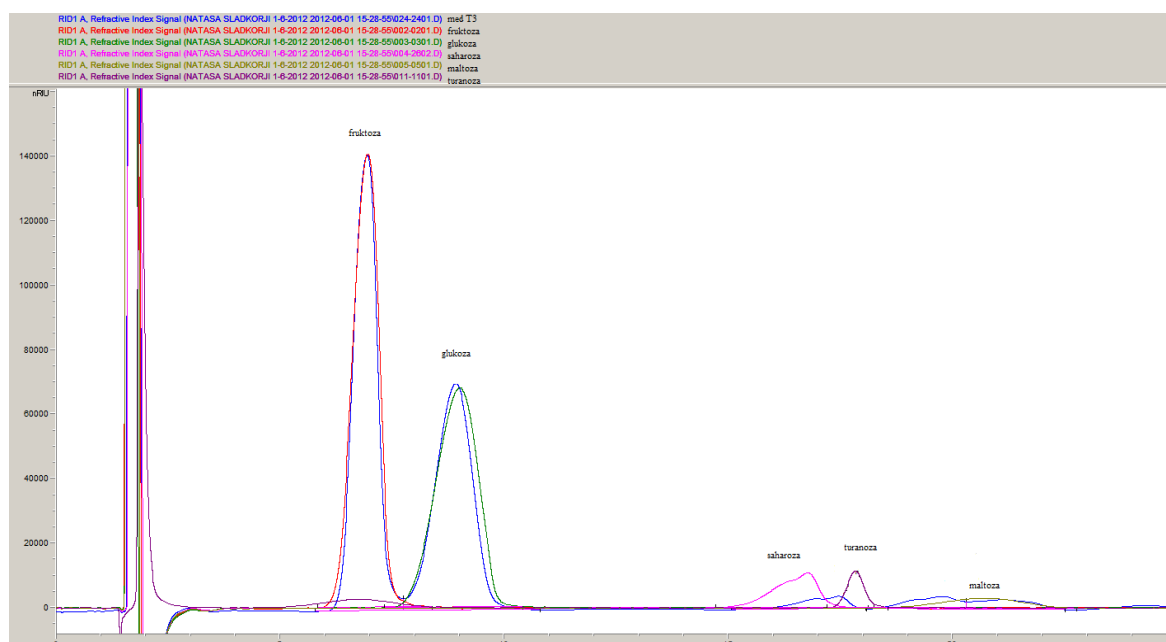
V 100 mL merilno bučko smo odtehtali ustrezno maso medu ($m_{med} = 5,0$ g), ga raztopili v vodi, dodali 25,0 mL metanola in z vodo razredčili do oznake. Tako smo raztopili vzorce medu v 25 % metanolu. Raztopino smo pred analizo prefiltrirali skozi filter z velikostjo por 0,45 μ m, neposredno v vialo. Masna koncentracija medu v raztopini, γ_{med} je bila 50,0 g/L, napaka masne koncentracije, $\Delta\gamma_{med}$, pa 0,1 g/L. Podatke o točnih masah medu pri pripravi raztopin smo zbrali v preglednici 4.

Preglednica 4: Masa in koncentracija posameznih vzorcev medu

Vzorec medu	Akacijev (T1)	Cvetlični (T2)	Gozdni (T3)	Kostanjev (T4)	Lipov (T5)
Masa (g)	5,01	5,04	5,01	5,00	5,03
Koncentracija (g/L)	50,1	50,4	50,1	50,0	50,3

Identifikacija signalov za posamezne sladkorje

Prisotnost posameznega saharida smo določili z retencijskim časom in z dodatkom posameznega sladkorja v raztopino medu. Primer identifikacije je na sliki 5. Ugotovili smo, da disaharidov turanoze in saharoze ne moremo ločiti, saj sta se signala pri analizi raztopin medu pokrivala.



Slika 5: Kromatogram medu T3 (modra krivulja) in pokrivanje signalov standardov (fruktoza – rdeča krivulja, glukoza – zelena, saharoza – roza, turanoza – vijolična in maltoza – olivno zelena krivulja)

Izračun vsebnosti sladkorjev

Standardne raztopine saharidov smo pripravili s podobnimi koncentracijami, kot smo jih pričakovali v raztopinah medu (Bogdanov, 2009). Koncentracijo saharida v raztopini medu smo izračunali s sledečo enačbo:

$$\gamma_{sah} = \frac{P_{sah}}{P_{StD}} \cdot \gamma_{StD} \quad \dots (3)$$

γ_{sah} ...masna koncentracija izbranega saharida v raztopini medu

γ_{StD} ...masna koncentracija standarda

P_{sah} ...površina izbranega saharida v raztopini medu

P_{StD} ...površina standarda

Iz podatkov o masni koncentraciji medu (preglednica 4) za pripravo 100,0 mL raztopine in koncentracije medu, γ_{med} smo izračunali vsebnost posameznega sladkorja v medu, w_{sah} :

$$w_{sah} = \frac{\gamma_{sah}}{\gamma_{med}} \cdot 100g \quad \dots (4)$$

Napako pri določanju posameznega saharida pa smo izračunali z enačbo:

$$\Delta w_{sah} = \left[\left(\frac{\Delta \gamma_{sah}}{\gamma_{med}} \right)^2 + \left(\frac{\gamma_{sah} \cdot \Delta \gamma_{med}^2}{\gamma_{med}^2} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \cdot 100\% \quad \dots (5)$$

V preglednici 5 smo zbrali podatke za preračun površin signalov v masno koncentracijo posameznega saharida za vse vrste medu analizirane dne 15.2.2012. Ker signalov za turanozo in saharozo nismo mogli ločiti, smo v preglednicah z rezultati podajali vsoto površin signalov obeh disaharidov in masno koncentracijo vsote obeh disaharidov.

Preglednica 5: Površine signalov za posamezni saharid, P_{sah} in koncentracije saharidov v različnih raztopinah medu, γ_{sah} za dan analize 15.02.2012, povprečje treh injiciranj

Vzorec medu	Fruktoza		Glukoza		Saharoza in turanoza		Maltoza	
	P_{sah}	γ_{sah}	P_{sah}	γ_{sah}	P_{sah}	γ_{sah}	P_{sah}	γ_{sah}
Akacijev (T1)	2906653	20,7	1648112	14,1	8629	0,061	129514	1,36
Cvetlični (T2)	2683103	19,1	1877791	16,1	29083	0,206	123670	1,30
Gozdni (T3)	2553945	18,2	1686990	14,5	12266	0,087	119731	1,26
Lipov (T5)	2667332	19,0	1817900	15,6	9243	0,066	132572	1,39

3.2.2.2 Metoda standardnega dodatka

Natančnost analize najpomembnejših mono – in disaharidov v medu, določenih z metodo eksterne standarda smo preverili še z bolj zamudno metodo standardnega dodatka.

Priprava vzorcev za metodo standardnega dodatka

Pripravili smo 5 raztopin medu T3, pri čemer smo v štiri raztopine dodali po enega izmed standardnih sladkorjev. Pri pripravi raztopin smo postopali kot pri pripravi raztopin medu: zatehto medu in sladkorja smo raztopili v vodi, raztopino kvantitativno prenesli v 100,0 mL merilno bučko, dodali 25,0 mL metanola in razredčili do oznake. Podatki o zatehtah in masnih koncentracijah medu in sladkorjev so zbrani v preglednici 6. Oznaka T3 pomeni gozdni med, T3+M pomeni, da smo poleg gozdnega medu v raztopino dodali tudi maltozo, T3+S saharozo, T3+G glukozo, T3+F pa fruktozo. Pričakujemo, da bodo površine signalov za saharide v vseh raztopinah medu T3, ki jim nismo dodali standarda, enake. Vsako raztopino smo analizirali v dveh ponovitvah. Pogoji HPLC analize so bili enaki kot pri metodi eksterne standarda.

Preglednica 6: Mase in masne koncentracije raztopin gozdnega medu, T3 in sladkorjev za metodo standardnega dodatka

Oznaka	m_{med} (g)	γ_{med} (g/L)	m_{std} (g)	γ_{std} (g/L)
Gozdni med (T3)	5,00	0,0500	0,00000	0,0000
T3+M	4,99	0,0499	0,12283	1,2283
T3+S	5,00	0,0500	0,13028	1,3028
T3+G	5,00	0,0500	0,15081	1,5081
T3+F	5,02	0,0502	0,27077	2,7077

Izračun vsebnosti sladkorjev pri metodi standardnega dodatka

Iz podatkov o površini signalov saharidov v medu in povečanih površin signalov za vzorce z dodatkom posameznega saharida, smo izračunali masno koncentracijo z naslednjo enačbo:

$$\gamma_{sah} = \frac{P_{sah}}{P_{std}} \cdot \gamma_{std} \quad \dots (6)$$

γ_{std} ...masna koncentracija standardnega dodatka

P_{std} ...površina vrha zaradi standardnega dodatka

P_{std} smo izračunali tako, da smo od površine vrha, ki smo ga dobili za posamezni saharid in standardni dodatek odšteli površino vrha, ki smo ga določili za sam med. Rezultate smo zbrali v preglednici 7.

Preglednica 7: Površine signalov za fruktozo, glukozo, vsoto saharoze in turanoze ter maltozo pri analizi gozdnega medu, T3 z metodo standardnega dodatka in povprečna površina signalov, na katere standardni dodatek ne vpliva, P_{sah} in koncentracije saharidov v raztopinah gozdnega medu, γ_{sah}

Vzorec	Površina signala							
	Fruktoza	± SD	Glukoza	± SD	Saharoza in turanoza	± SD	Maltoza	± SD
Gozdni med (T3)	5247887	4995	4161967	8724	287969	1628	270175	7488
T3+M	5238776	9013	4177931	2794	283452	2331	475245	8532
T3+S	5261144	5481	4172774	6819	620172	1767	269093	6934
T3+G	5259703	3019	4623070	11398	276264	6124	270000	9745
T3+F	6054192	779	4188128	3963	279767	8903	278952	891
Povprečna površina signalov na katere standardni dodatek ne vpliva								
P_{sah}	5251877	10562	4175200	10887	281863	5019	272055	4623
Povprečna površina signala saharida in standardnega dodatka								
$P_{sah} + StD$	6054192	779	4623070	11398	620172	1767	475245	11395
Koncentracije saharidov v raztopinah medu, γ_{sah}								
γ_{sah} (g/L)	2,659	0,010	2,274	0,014	0,571	0,017	0,759	0,037

3.2.3 Električna prevodnost

Postopek

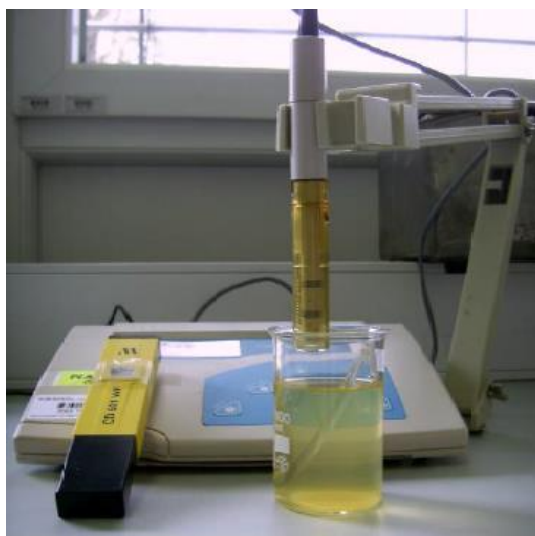
S konduktometrom in pripadajočo elektrodo smo merili specifično električno prevodnost raztopin medu, s koncentracijo suhe snovi 200 g/L pri 20 in 25 °C za raztopine cvetličnega, gozdnega in lipovega medu, ter pri temperaturah od 20 do 70 °C raztopinam akacijevega in kostanjevega medu.

Reagenti

- Prečiščena voda s sistemom MilliQ
- Kalijev klorid (KCl), Suprapur, 99,999 % (Merck, 1.04938)

Aparature in oprema

- Instrument za merjenje prevodnosti Radiometer CDM230 Conductivity meter
- Štiri – polno platinizirana celica z vgrajenim temperaturnim senzorjem Conductivity Cell CDC866T
- Termostat Julabo 5
- Termometer Fluke 1502A



Slika 6: Instrument za merjenje prevodnosti Radiometer CDM230 Conductivity meter

Umeritev celice

Celico smo umerili z raztopino kalijevega klorida, s koncentracijo 0,01 D pri 25,0 °C. Za raztopino s koncentracijo 0,01 D smo odtehtali 0,74582 g kalijevega klorida, sušenega 2 uri pri 105 °C in ohlajenega v 1000,00 g vode. Umeritev celice smo izvedli v skladu z navodili za uporabo instrumenta, ki upošteva da je specifična električna prevodnost te raztopine pri tej temperaturi 1,409 mS/cm. Pred umeritvijo smo preverjali temperaturo na $\pm 0,05$ °C natančno.

Priprava vzorcev medu za merjenje elektrolitske prevodnosti

Iz vsebnosti vode v posameznem vzorcu medu smo po sledeči enačbi izračunali maso medu, ki jo potrebujemo za pripravo 100,0 mL raztopine s koncentracijo suhe snovi 200 g/L:

$$m_{\text{medu}} = \frac{m_{\text{suhe snovi}} \cdot 100}{(100 - w_{\text{vode v medu}})} \quad \dots (7)$$

m_{medu} ...masa medu (g)

$m_{\text{suhe snovi}}$...masa suhe snovi (20 g)

$w_{\text{vode v medu}}$...vsebnost vode v medu (g/100 g)

V čašo smo odtehtali izračunano maso posameznega vzorca medu (preglednica 8), ga raztopili v vodi in kvantitativno prenesli v 100 mL merilno bučko. Merilno bučko smo dopolnili z vodo do oznake volumna. Pri vsakem vzorcu medu smo naredili 3 paralelke.

Preglednica 8: Zatehte vzorcev medu pri merjenju specifične električne prevodnosti

Vzorec medu	Akacijev (T1)	Cvetlični (T2)	Gozdni (T3)	Kostanjev (T4)	Lipov (T5)
Masa (g)	23,86	23,81	24,01	23,82	23,65

3.2.4 Dielektričnost

Postopek

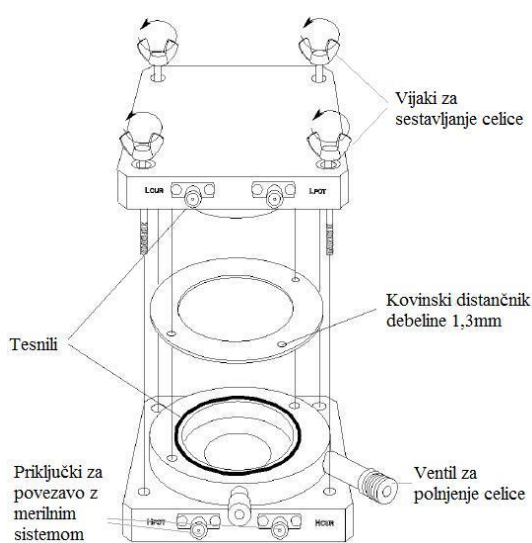
Z LCR metrom s pripadajočo celico in osebnim računalnikom, z naloženo ustrezno programsko opremo, smo raztopinam medu s koncentracijo suhe snovi 200 g/L merili dielektrično konstanto in faktor dielektričnih izgub pri frekvencah med 0,1 – 2 MHz. Meritve smo izvajali pri različnih temperaturah in sicer akacijev in kostanjev med smo merili od 20,0 pa vse do 70,0 °C, cvetlični, gozdni in lipov med pa pri 20,0 in 25,0 °C.

Sistem LCR meter Agilent E4980A s celico 16452A

Dielektrične lastnosti smo merili s kapacitivno metodo z uporabo celice za merjenje dielektričnih lastnosti tekočih vzorcev (Agilent, 16452A, Agilent Technologies, California, USA) in LCR merilnikom (Agilent, E4980A, Agilent Technologies, California, USA).

Celica za določanje dielektričnih lastnosti tekočih vzorcev

Celica (Agilent, 16452A) omogoča določanje dielektrične konstante in prevodnosti tekočih in pol tekočih vzorcev (Agilent Technologies, 2000). Vzorec se napolni med dve ploščati, okrogli in vzporedni elektrodi, kar predstavlja kondenzator z določeno kapacitivnostjo. Površina elektrod v celici ima premer 38 mm, za delo pa smo izbrali 3,0 mm distančnik (slika 7). Vzorce raztopin medu smo v celico napolnili s pomočjo 5 mL injekcijske igle. Vzorce nerazredčenega medu smo polnili v odprto celico. Ko smo celico zaprli, smo iztisnili prebitek medu skozi oba ventila.



Slika 7: Zgradba celice za določanje dielektričnih lastnosti tekočih vzorcev 16452A (Agilent Technologies, 2000)



Slika 8: Instrument Agilent Precision LCR Meter E4980A s termostatom Fluke 7230 – 25 in uporovnim termometrom Fluke 1502A s sondo Fluke 5627 – 6–D

3.2.4.1 Merilnik LCR

Celico smo povezali z merilnikom za merjenje impedance Agilent Precision LCR Meter E4980A (slika 8). Merilnik omogoča meritve upornosti in kapacitivnosti v merilnem območju frekvenc od 20 Hz do 2 MHz, pri napetostih od 100 μ V do 2 V in toku od 1 μ A do 20 mA. Pri tem nam instrument poda vrednosti dveh parametrov. Glede na podatke iz literature (Agilent Technologies, 2006) smo izbrali parametra kapacitivnost, C in upornost, R. Pri meritvah smo uporabili merilno napetost (1 V). To je pogosto uporabljena vrednost

napetosti pri meritvah električnih in dielektričnih lastnosti tekočih vzorcev. Tok je dosegel vrednosti > 1 mA.

Celica za merjenje tekočih vzorcev je kondenzator. Dejanski kondenzator lahko v elektrotehniki opišemo z nadomestno vezavo idealnega kondenzatorja in upora, ki sta lahko vezana paralelno ali serijsko (Šuhel in Kralj, 1991). V primeru meritev raztopin medu smo na osnovi predhodnih meritev (Agilent Technologies, 2000) ugotovili, da je primerno izbrati serijsko nadomestno vezavo. Oznaki C_s in R_s torej označujeta meritve kapacitivnosti in upornosti na osnovi serijske nadomestne vezave. Meritve C_s in R_s smo izvajali v frekvenčnem območju med 500 kHz in 2 MHz, v korakih po 75 kHz. Na ta način smo posneli dielektrični spekter vzorcev pri 21 frekvencah. Celoten merilni proces smo izvajali avtomatizirano z uporabo računalnika s pripadajočo programsko podporo.

Za sistem LCR merilnika in pripadajoče celice smo v skladu z navodili proizvajalca izvedli umeritev sistema s kratkim stikom. Poleg tega smo izmerili kapacitivnost zraka, C_0 in vode, C_v pri enakih frekvencah kot pri vzorcih in ju uporabili pri izračunu dielektričnih parametrov.

Termostatiranje vzorcev

Za termostatiranje vzorcev smo uporabili:

- termostatsko kopel (Fluke 7230–25)
- platinasti uporovni termometer (Fluke 1502A) z merilnim območjem temperature od -200 °C do 420 °C
- digitalni termometer (Fluke 5627–6–D) z natančnostjo $\pm 0,005$ °C

Temperaturo smo nastavljali ročno na termostatski kopeli in jo preverjali z digitalnim termometrom. Meritev smo opravili, ko je digitalni termometer v termostatu 15 minut kazal konstantno temperaturo $\pm 0,01$ °C od izbrane temperature.

Priprava vzorcev medu

Raztopine medu s koncentracijo 200 g/L suhe snovi: Pri določanju dielektrične konstante raztopinam medu smo pripravili raztopine vzorcev medu po istem postopku, kot pri električni prevodnosti (str. 26). Pri vsaki vrsti medu smo naredili 3 paralelke.

Nerazredčen med: Pri nerazredčenih vzorcih medu smo vzorec medu segreli na 40 °C, da je bil bolj tekoč in ga injicirali v celico.

Izračun dielektričnih parametrov (dielektrične konstante in faktorja dielektričnih izgub) iz meritev kapacitivnosti in upornosti

Merjena parametra v serijski vezavi C_s in R_s smo preračunali v ustrezna parametra v paralelni vezavi C_p in R_p , z uporabo faktorja D po naslednjih enačbah:

$$D = \omega \cdot R_s \cdot C_s \quad \dots (8)$$

$$R_p = R_s \cdot \left(1 + \left(\frac{1}{D} \right)^2 \right) \quad \dots (9)$$

$$C_p = \frac{C_s}{1 + D^2} \quad \dots (10)$$

D ...faktor

ω ...kotna frekvenca ($\omega = 2\pi f$)

R_p ...upornost v paralelni nadomestni vezavi

R_s ...upornost v serijski nadomestni vezavi

C_s ...kapacitivnost v serijski nadomestni vezavi

C_p ...kapacitivnost v paralelni nadomestni vezavi

Dielektrično konstanto, ε' smo izračunali z naslednjo enačbo (Midmore in sod., 1987):

$$\varepsilon' = (C_p - C_c) / K_c \quad \dots (11)$$

ε' ...dielektrična konstanta vzorca

C_c ...korekcija kapacitivnosti določena pri umeritvi

K_c ...konstanta celice

Faktor dielektričnih izgub, ε'' smo izračunali iz upornosti, R_p in konstante celice, K_c :

$$\varepsilon'' = \frac{1}{\omega R_p K_c} \quad \dots (12)$$

Celico smo umerili z zrakom in vodo pri 25 °C. Za vsako frekvenco smo izračunali konstanto celice (Midmore in sod., 1987):

$$K_{c,f} = \frac{(C_w - C_a)}{(\varepsilon'_w - 1)} \quad \dots (13)$$

$K_{c,f}$...konstanta celice pri frekvenci f

C_w ...kapacitivnost vode pri frekvenci f

C_a ...kapacitivnost zraka pri frekvenci f

ε'_w ...dielektrična konstanta vode (ε'_w (25 °C) = 78,33)

Faktor za korekcijo kapacitivnosti, $C_{c,f}$ smo določili po naslednji enačbi:

$$C_{c,f} = C_a - K_{c,f} \quad \dots (14)$$

$C_{c,f}$...korekcija kapacitivnosti določena pri umeritvi pri frekvenci f

$K_{c,f}$...konstanta celice pri frekvenci f

C_a ...kapacitivnost zraka pri frekvenci f

Povprečno vrednost konstante celice, K_c in korekcijskega faktorja za kapacitivnost, C_c smo izračunali kot povprečje v območju frekvenc med 500 kHz in 2 MHz, kjer se ti dve konstanti ne spreminjata s frekvenco. Vrednost za $K_c = (5,1049 \pm 0,0003) \cdot 10^{-12}$ F in $C_c = (1,551 \pm 0,003) \cdot 10^{-13}$ F.

Deklarirana napaka dielektrične konstante za proučevane vzorce pri navedenih pogojih merjenja je odvisna od frekvence in temperature. Pri 20 in 30 °C je napaka kapacitivnosti ~ 1 % in nekoliko narašča s frekvenco, napaka upornosti je 0,05 % (Agilent Technologies, 2006). Ponovljivost meritve upornosti (in faktorja dielektričnih izgub) je < 2 % in kapacitivnosti (in dielektrične konstante) < 4 %.

3.2.5 Statistična obdelava podatkov

Dobljene rezultate analiz smo statistično obdelali s pomočjo programa Microsoft Excel 2007. Statistični parametri, ki smo jih določali so:

- aritmetična sredina ($\bar{x}$)
- standardna deviacija (SD)
- koeficient variacije (KV)

Aritmetična sredina

Aritmetična sredina ($\bar{x}$) ali povprečje, je najpogosteje uporabljana srednja vrednost. Izračunamo jo tako, da seštejemo vse vrednosti spremenljivke x_i in vsoto delimo s številom podatkov n (Košmelj, 2007):

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i \quad \dots (15)$$

Standardna deviacija

Imenovana tudi standardni odklon (SD), je merilo razpršenosti posameznih vrednosti okoli aritmetične sredine. SD se uporablja kot mera variiranja skupaj z aritmetično sredino kot srednjo vrednostjo (Adamič, 1989). SD izračunamo tako, da varianco korenimo (Košmelj, 2007):

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad \dots (16)$$

Koeficient variacije

Koeficient variacije (KV), meri kolikšen odstotek aritmetične sredine predstavlja standardni odklon. KV je relativna mera variabilnosti in omogoča primerjavo variabilnosti različnih spremenljivk (Košmelj, 2007). Izračunamo ga tako, da standardno deviacijo delimo z aritmetično sredino istega vzorca in to izrazimo kot odstotek (Adamič, 1989):

$$KV\% = \frac{SD}{\bar{x}} \cdot 100 \quad \dots (17)$$

Pearsonov koeficient korelacije

Izračunali smo tudi Pearsonov koeficient korelacije, r , ki je merilo stopnje povezanosti med dvema spremenljivkama, ki sta med seboj povezani, naključni, a ne nujno med seboj odvisni. Obsega vrednosti med -1 in $+1$, -1 predstavlja maksimalno negativno korelacijo (vrednost ene spremenljivke pada, če vrednost druge narašča) in $+1$ maksimalno pozitivno korelacijo (vrednost ene spremenljivke narašča z vrednostjo druge). Vrednost 0 nam pove, da med spremenljivkama ni nobene povezanosti. Glede na vrednost koeficienta korelacije lahko sklepamo moč povezanosti med statističnimi enotami, ki pa nam ne pove nič o značilnosti te povezanosti (Adamič, 1989). V preglednici 9 smo podali vrednosti za presojanje moči povezanosti spremenljivk.

Preglednica 9: Vrednosti za presojanje moči povezanosti spremenljivk (Seljak, 1996)

Pearsonov koeficient korelacije (r)	Povezanost
0,00 do $\pm 0,20$	Ni povezanosti
$\pm 0,20$ do $\pm 0,40$	Šibka
$\pm 0,40$ do $\pm 0,70$	Zmerna
$\pm 0,70$ do $\pm 1,00$	Močna

4 REZULTATI Z RAZPRAVO

4.1 SESTAVA MEDU

4.1.1 Vsebnost vode v medu

Najprej smo analizirali vsebnost vode v posamezni vrsti medu z obema refraktometroma (R1 in R5) po trikrat. Nato smo izračunali povprečje vseh treh meritev za posamezen refraktometer in za oba refraktometra skupaj (preglednica 10). Podatke o vsebnosti vode v medu smo potrebovali za nadaljnje analize električne prevodnosti in dielektričnih lastnosti medu.

Preglednica 10: Vsebnost vode v posameznih vrstah medu

Vrsta medu	Refraktometer	Vsebnost vode (g/100 g)			Povprečje	Povprečna vsebnost vode (g/100 g)
Akacijev (T1)	R1	16,20	16,25	16,10	16,15	16,19 ± 0,06
	R5	16,25	16,15	16,20	16,23	
Cvetlični (T2)	R1	16,05	16,00	16,05	16,03	16,01 ± 0,04
	R5	16,00	15,95	16,00	15,98	
Gozdni (T3)	R1	16,75	16,70	16,75	16,75	16,69 ± 0,07
	R5	16,55	16,65	16,60	16,63	
Kostanjev (T4)	R1	16,05	16,05	16,10	16,07	16,03 ± 0,04
	R5	16,00	16,00	16,00	16,00	
Lipov (T5)	R1	15,50	15,45	15,40	15,45	15,44 ± 0,05
	R5	15,40	15,40	15,50	15,43	

Pri akacijevem medu smo dobili povprečje meritev 16,19 g vode/100 g medu, pri cvetličnem medu 16,01 g vode/100 g medu, gozdnem medu 16,69 g vode/100 g medu, kar je največ od vseh petih analiziranih vzorcev medu, pri kostanjevem medu smo izmerili 16,03 g vode/100 g medu in pri lipovem medu 15,44 g vode/100 g medu, kar je najmanj od vseh merjenih vzorcev.

Glede na literaturo so rezultati vsebnosti vode v medu pričakovani. Po pravilniku (Pravilnik o medu, 2011), sme med vsebovati največ 20 % vode in temu kriteriju ustrezajo vsi naši vzorci medu. Rezultate smo primerjali tudi z Golob in Plestenjak (1999) in ugotovili, da vsi analizirani vzorci ustrezajo vrednostim v intervalu analiziranih vzorcev, samo gozdni med je malo presegel intervalno vrednost in to za 0,09 g vode/100 g medu.

4.1.2 Vsebnost glavnih sladkorjev v medu

V preglednici 11 smo zbrali rezultate meritev povprečnih koncentracij najpomembnejših mono – in disaharidov in pa njihov delež v g/100 g medu, v vseh petih raztopinah medu.

Preglednica 11: Povprečne masne koncentracije najpomembnejših mono – in disaharidov v raztopinah medu, γ_{sah} in vsebnost teh sladkorjev v medu

Vzorec medu	Masna koncentracija saharida v raztopinah medu, γ_{sah} (g/L)			
	Fruktoza	Glukoza	Saharoza in turanoza	Maltoza
Akacijev (T1)	21,07 ± 0,32	14,21 ± 0,08	1,62 ± 0,21	1,32 ± 0,04
Cvetlični (T2)	19,19 ± 0,04	16,03 ± 0,06	1,51 ± 0,01	1,24 ± 0,06
Gozdni (T3)	18,17 ± 0,20	14,27 ± 0,40	1,44 ± 0,34	1,14 ± 0,13
Kostanjev (T4)	20,51 ± 0,05	12,22 ± 0,16	0,84 ± 0,06	1,08 ± 0,08
Lipov (T5)	19,06 ± 0,02	15,52 ± 0,07	1,84 ± 0,04	1,34 ± 0,06
	Vsebnost saharida v medu, w_{sah} (g/100 g)			
	Fruktoza	Glukoza	Saharoza in turanoza	Maltoza
Akacijev (T1)	42,03 ± 0,65	28,34 ± 0,15	3,22 ± 0,41	2,63 ± 0,09
Cvetlični (T2)	38,04 ± 0,07	31,79 ± 0,13	3,00 ± 0,02	2,46 ± 0,12
Gozdni (T3)	36,23 ± 0,39	28,47 ± 0,80	2,98 ± 0,87	2,27 ± 0,25
Kostanjev (T4)	41,02 ± 0,10	24,45 ± 0,33	1,68 ± 0,12	2,15 ± 0,17
Lipov (T5)	37,89 ± 0,04	30,85 ± 0,14	3,66 ± 0,08	2,65 ± 0,11

Analizo saharidov smo ponovili večkrat v več zaporednih dneh. Masno koncentracijo saharidov v raztopini medu in masni delež saharidov v medu pa smo izračunali kot povprečje vseh meritev. Vsako vrsto medu smo analizirali vsaj v dveh zaporednih dneh; napake v preglednici 11 podajajo razlike med analizami v različnih dneh. Med T3 pa smo analizirali v petih ponovitvah v različnih časovnih intervalih. Napake pri medu T3 prikazujejo razlike pri analizi saharidov z metodo eksterne standarda v daljšem časovnem intervalu.

Natančnost analize najpomembnejših mono – in disaharidov v medu določenih z metodo eksterne standarda smo preverili še z bolj zamudno metodo standardnega dodatka. Rezultate smo zbrali v preglednici 12. Z metodo standardnega dodatka smo določili nekoliko nižje vrednosti fruktoze, glukoze in vsote saharoze in turanoze. Občutno večje vrednosti maltoze (za 30 %) pa smo določili z metodo standardnega dodatka.

Preglednica 12: Povprečne masne koncentracije najpomembnejših mono – in disaharidov v raztopinah medu T3, γ_{sah} in vsebnost, w_{sah} teh sladkorjev v medu T3 v g/100 g, določenih z metodo standardnega dodatka

Vzorec medu	Fruktoza	± SD	Glukoza	± SD	Saharoza in turanoza	± SD	Maltoza	± SD
Masna koncentracija saharida v raztopini gozdnega medu (T3), γ_{sah} (g/L)								
Gozdni (T3)	2,659	0,010	2,274	0,014	0,571	0,017	0,759	0,037
Vsebnost saharida v medu, w_{sah} (g/100 g)								
Gozdni (T3)	35,35	0,10	27,97	0,15	2,17	0,05	3,21	0,13

Glede na Harmonised methods (Bogdanov, 2009) se kakovost medu ocenjuje predvsem glede na vsoto glukoze in fruktoze ter vsebnost saharoze v medu. Kot pričakovano sta v vseh vzorcih medu fruktoza in glukoza v veliki večini. Pri naši analizi je imel gozdni med najmanjši delež fruktoze med vsemi petimi analiziranimi vzorci in sicer 36,2 g/100 g medu, največ pa akacijev med z 42,0 g/100 g medu. Glukoze je bilo največ v cvetličnem medu z 31,8 g/100 g in najmanj v kostanjevem medu z 24,5 g/100 g medu. Saharoze in turanoze je največ vseboval lipov med s 3,66 g/100 g, najmanj pa kostanjev med z 1,68 g/100 g medu. Maltoza je bila najbolj prisotna v lipovem medu z 2,65 g/100 g, najmanj pa v kostanjevem medu z 2,15 g/100 g medu.

V primerjavi s podatki iz literature lahko ugotovimo, da smo določili v vseh vrstah medu višjo vsebnost fruktoze, v povprečju za približno 2 %. Višjo vrednost glukoze smo določili v akacijevem in cvetličnem medu, manj pa v gozdnem, kostanjevem in lipovem medu. Vrednosti za maltozo pri naših analizah, so v vseh vrstah medu strnjene med vrednosti 2,2 in 2,7 g/100 g medu, medtem ko so pri Korošec (2012) med 0,7 g/100 g za gozdni med in do 5,8 g/100 g za kostanjev med. Višjo vsoto disaharidov saharoze in turanoze smo določili pri gozdnem in lipovem medu in nižjo vsoto disaharidov pri akacijevem, cvetličnem in kostanjevem medu. Glede na primerjavo vsebnosti vseh analiziranih sladkorjev v medu lahko posumimo, da smo z izbrano metodo eksterne standarda, čeprav ta metoda sodi med priporočene metode, določili nekoliko višje vrednosti monosaharidov in nižje vrednosti disaharidov.

Pri primerjavi vsebnosti posameznih sladkorjev naj še poudarimo, da je Koroščeva za analizo vzela veliko večje število vzorcev medu iste vrste v primerjavi z nami. Pri analizi je uporabila 29 vzorcev akacijevnega medu, 41 vzorcev cvetličnega medu, gozdnega medu 39 vzorcev, kostanjevega medu 31 vzorcev in lipovega medu 23 vzorcev.

Za obsežnejšo primerjavo s podatki iz literature smo izračunali še dva karakteristična parametra, s katerima opisujemo vsebnosti najpomembnejših sladkorjev v medu in to sta vsota vsebnosti glukoze in fruktoze ($F+G$), ter razmerje med vsebnostjo glukoze in fruktoze (F/G) v medu. Rezultate skupaj s podatki iz literature smo zbrali v preglednici 13 (Golob in sod., 2008c; Korošec, 2012). Vidimo lahko, da smo določili višjo vrednost $F+G$ pri akacijevem, cvetličnem, gozdnem in lipovem medu. Pri kostanjevem medu pa je $F+G$ višja kot pri Koroščevi (2012) in precej nižja kot pri Golobovi in sodelavcih (2008c).

Naše meritve ustrezajo merilom pravilnika (Pravilnik o medu, 2011), ki med drugim podaja tudi merilo za vsebnost vsote glukoze in fruktoze za cvetlični (nektarni) in gozdni (manin) med, kar znaša najmanj 60 g/100 g za cvetlični in najmanj 45 g/100 g za gozdni med.

Pri naši analizi določeno razmerje fruktoze in glukoze nekoliko odstopa navzgor pri gozdnem in lipovem, izrazito pa pri kostanjevem medu. Akacijev in cvetlični med pa se lepo ujemata s podatki iz literature. Iz vira Golob in sodelavci (2008c) in Korošec (2012) smo vrednosti F/G izračunali iz podatkov za vsebnost fruktoze in glukoze v posamezni vrsti medu.

Preglednica 13: Vsota vsebnosti fruktoze in glukoze ($F+G$), ter razmerje fruktoze in glukoze (F/G) v posameznih vzorcih medu

Vrsta medu	Akacijev (T1)	Cvetlični (T2)	Gozdni (T3)	Kostanjev (T4)	Lipov (T5)
$F+G$ (g/100 g)	70,36 65,96 ^a 68,3 ^b	69,84 66,81 ^a 66,1 ^b	64,70 58,84 ^a 62,5 ^b	65,47 72,38 ^a 63,9 ^b	68,74 47,74 ^a 68,1 ^b
F/G	1,48 1,47 ^a 1,51 ^b	1,20 1,16 ^a 1,24 ^b	1,27 1,15 ^a 1,13 ^b	1,68 0,85 ^a 1,42 ^b	1,23 1,13 ^a 1,08 ^b

^aGolob in sod, 2008c, ^bKorošec, 2012

4.2 ELEKTRIČNA PREVODNOST

Merjenje električne prevodnosti smo izvedli tako, da smo vsem vzorcem medu izmerili prevodnost pri 20,0 in 25,0 °C (preglednica 15), nakar smo akacijevem in kostanjevem medu izmerili prevodnost še pri višjih temperaturah 30,0 °C, 40,0 °C, 50,0 °C, 60,0 °C in 70,0 °C (preglednica 14).

Dobljene rezultate smo primerjali z Golobovo in sodelavci (2008c), ki poudari da so podane intervalne vrednosti rezultat večletnih meritev. Akacijevem medu smo izmerili prevodnost 0,225 mS/cm, kar je nad povprečjem intervala meritev Golobove in sodelavcev (2008c) (0,114 – 0,265 mS/cm, povprečje intervala: 0,171 mS/cm). Enako velja za kostanjev med, katerega prevodnost je 1,789 mS/cm (0,959 – 2,245 mS/cm, povprečje intervala: 1,499 mS/cm). Rezultat prevodnosti cvetličnega medu je 0,391 mS/cm in glede na interval (0,237 – 0,838 mS/cm, povprečje intervala: 0,534 mS/cm) pade močno pod njegovo povprečje. Enako velja za gozdni med (interval: 0,807 – 1,677 mS/cm, povprečje intervala: 1,228 mS/cm), katerega prevodnost je 0,881 mS/cm in lipov med (izmerjena prevodnost: 0,668 mS/cm, interval: 0,548 – 1,073 mS/cm, povprečje intervala: 0,795 mS/cm). Meritve električne prevodnosti raztopin medu se ujemajo z intervali večletnih meritev Golobove in sodelavcev (2008c). Če primerjamo rezultate meritev še s Pravilnikom o medu (2011), ki predpisuje vrednost prevodnosti medu največ 0,8 mS/cm, le za gozdni in kostanjev med najmanj 0,8 mS/cm, vidimo da vseh pet analiziranih vzorcev medu ustreza zahtevam pravilnika.

Preglednica 14: Električna prevodnost, κ , absolutna napaka električne prevodnosti, $\Delta\kappa$, koeficient variacije, KV, in temperaturni koeficient, θ , za raztopine akacijevega (T1) in kostanjevega (T4) medu, s koncentracijo suhe snovi 200 g/L pri različnih temperaturah

T (°C)	Akacijev med (T1)				Kostanjev med (T4)			
	κ (mS/cm)	$\Delta\kappa$	KV (%)	θ (%/°C)	κ (mS/cm)	$\Delta\kappa$	KV (%)	θ (%/°C)
20	0,225	0,0002	0,091	/	1,789	0,0012	0,067	/
25	0,254	0,0003	0,120	2,61	2,017	0,0014	0,069	2,55
30	0,285	0,0010	0,360	2,67	2,256	0,0015	0,066	2,61
40	0,350	0,0022	0,620	2,80	2,761	0,0017	0,062	2,72
50	0,422	0,0073	1,700	2,93	3,300	0,0010	0,030	2,81
60	0,495	0,0082	1,700	3,00	3,870	0,0000	0,000	2,91
70	0,572	0,0086	1,500	3,09	4,480	0,0078	0,174	3,01

Preglednica 15: Električna prevodnost, κ , absolutna napaka električne prevodnosti, $\Delta\kappa$, koeficient variacije, KV , in temperaturni koeficient, θ , za raztopine cvetličnega (T2), gozdnega (T3) in lipovega (T5) medu, s koncentracijo suhe snovi 200 g/L pri 20 in 25 °C

T (°C)	Cvetlični med (T2)			Gozdni med (T3)			Lipov med (T5)		
	κ (mS/cm)	$\Delta\kappa$	KV (%)	κ (mS/cm)	$\Delta\kappa$	KV (%)	κ (mS/cm)	$\Delta\kappa$	KV (%)
20	0,391	0,0003	0,082	0,881	0,0010	0,113	0,668	0,0029	0,434
25	0,443	0,0008	0,082	0,989	0,0005	0,051	0,753	0,0003	0,042
θ (%/°C)	2,63	/	/	2,44	/	/	2,56	/	/

Iz meritev v preglednicah 14 in 15 lahko razberemo, da v vseh primerih električna prevodnost narašča z naraščajočo temperaturo. Ta pojav lahko obravnavamo na več načinov. Proizvajalci konduktometrov običajno uporabljajo linearno odvisnost specifične prevodnosti od temperature $\kappa_T = \kappa_{Ref} \cdot (1 + \theta T)$. V tem primeru se temperaturni koeficient določi na sledeči način (CDM230, 2004):

$$\theta = \frac{(\kappa_T - \kappa_{Ref}) \cdot 100}{(T - T_{Ref}) \kappa_{Ref}} \quad \dots (18)$$

θ ...temperaturni koeficient (enote %/°C)

κ_T, κ_{Ref} ...specifična električna prevodnost pri temperaturi T in pri referenčni temperaturi

T_{Ref} ...referenčna temperatura (20 °C za meritve prevodnosti raztopin medu)

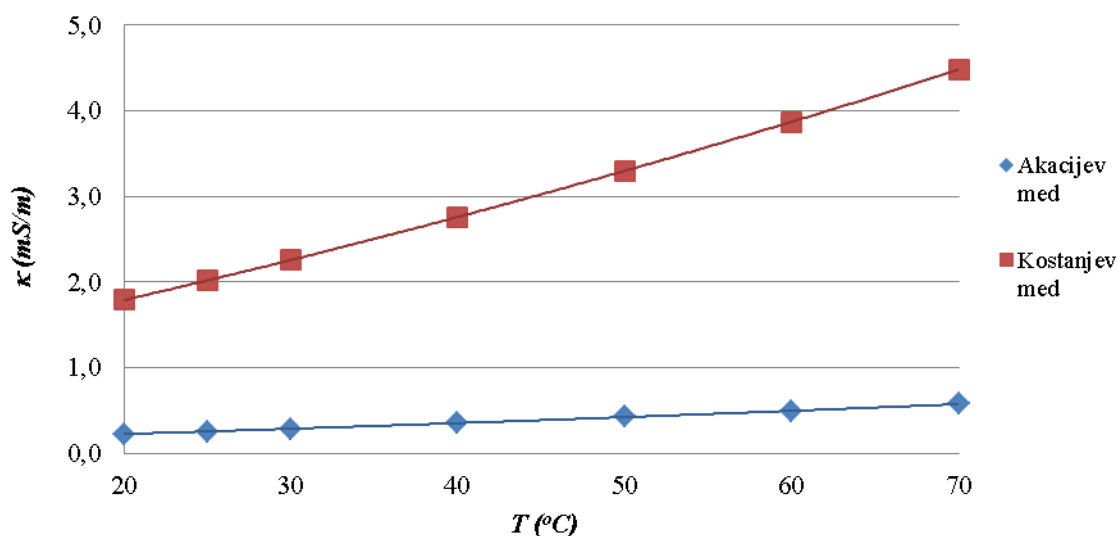
Temperaturni koeficient se pri konduktometrih, z možnostjo temperaturne korekcije, vstavi v instrument za avtomatično korekcijo električne prevodnosti iz vrednosti pri merjeni temperaturi na vrednost pri referenčni temperaturi. Z enačbo (18) izračunane temperaturne koeficiente smo dopisali v preglednici 14 in 15. Vidimo lahko, da so temperaturni koeficienti določeni pri temperaturah blizu sobne (20 in 25 °C) precej nižji kot pri 3,2 %/°C, kolikor je vrednost temperaturnega koeficienta za raztopine medu s koncentracijo suhe snovi 200 g/L, iz literature (Bogdanov, 2009). Temperaturni koeficient z naraščajočo temperaturo narašča. Iz tega lahko sklepamo, da je smiselno upoštevati navodila (CDM230, 2004), da mora biti temperaturni interval za določanje temperaturnega koeficienta več kot 10 °C. Tudi ta podatek ne prinese razlike med izračunano vrednostjo pri temperaturnem intervalu 5 °C in vrednostjo iz literature.

Za boljše poznane sisteme, kot je na primer merjenje prevodnosti vode, proizvajalci instrumentov izbirajo enačbo za opis specifične električne prevodnosti od temperature v obliki polinoma (CDM230, 2004). Kot vidimo iz slike 9 in preglednice 16, lahko odvisnost

specifične električne prevodnosti od temperature v vsem merjenem območju zadovoljivo opišemo s polinomom 2. stopnje:

$$\kappa = a + bT + cT^2 \quad \dots (19)$$

a, b, c ...koeficienti polinoma



Slika 9: Odvisnost specifične električne prevodnosti, κ vodnih raztopin akacijevega (T1) in kostanjevega (T4) medu s koncentracijo suhe snovi 200 g/L, v odvisnosti od temperature, T

Teoretična interpretacija vpliva temperature na transportne lastnosti, kamor sodi tudi specifična električna prevodnost pa, zaradi hitrega naraščanja prevodnosti s temperaturo, predvideva Arrheniusovo enačbo:

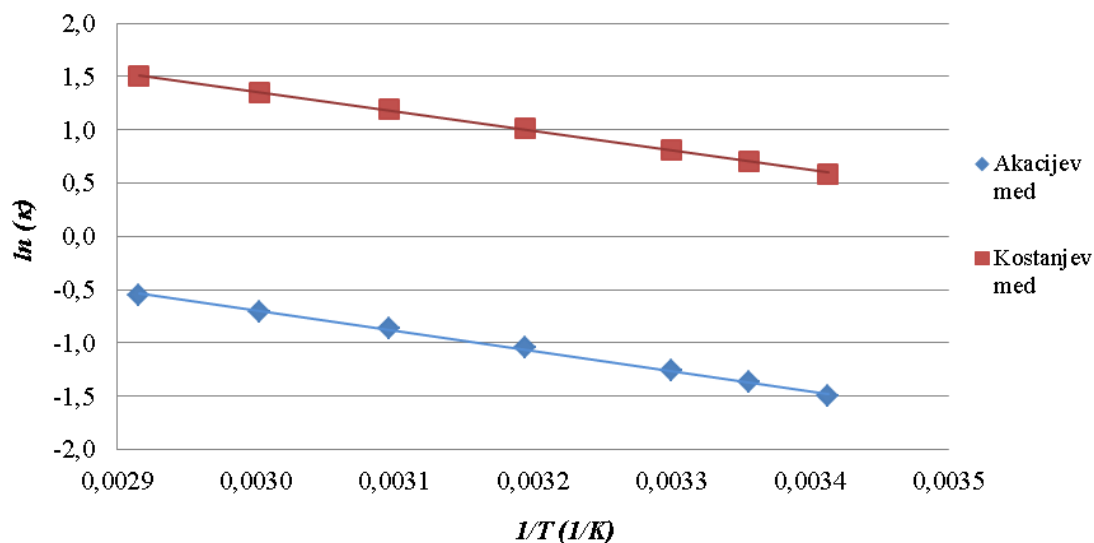
$$\sigma = A \cdot \exp\left(\frac{\Delta E_a}{RT_K}\right) \quad \dots (20)$$

A ...koeficient dobljen pri regresiji

E_a ...aktivacijska energija (kJ/mol)

R ...splošna plinska konstanta ($8,314 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)

T_K ...temperatura (K)



Slika 10: Odvisnost logaritma specifične električne prevodnosti, $\ln(\kappa)$ vodnih raztopin akacijevega (T1) in kostanjevega (T4) medu s koncentracijo suhe snovi 200 g/L, od recipročne vrednosti absolutne temperature, $1/T$

Koeficiente regresije enačbe (19) in (20) smo za akacijev in kostanjev med zbrali v preglednici 16.

Preglednica 16: Koeficienti enačb (19 in 20) za opis odvisnosti specifične električne prevodnosti od temperature za kostanjev in akacijev med

Vrsta medu	Polinom			
	A (mS/cm)	$B \cdot 10^2$ (mS/cm/K)	$c \cdot 10^4$ (mS/cm/K ²)	r^2
Akacijev (T1)	$0,1136 \pm 0,0026$	$0,5106 \pm 0,013$	$0,207 \pm 0,014$	1,000
Kostanjev (T4)	$0,9577 \pm 0,0048$	$3,8020 \pm 0,024$	$1,760 \pm 0,027$	1,000
	Arrheniusova enačba			
	A (mS/cm)	$-E_a/R$	$-E_a$ (kJ/mol)	r^2
Akacijev (T1)	$4,94 \pm 0,11$	1881 ± 35	$15,64 \pm 0,29$	0,9983
Kostanjev (T4)	$6,89 \pm 0,10$	1843 ± 30	$15,32 \pm 0,25$	0,9987

Aktivacijska energija toka elektronov je pri raztopinah medu enaka za obe vrsti medu. V olju je ta aktivacijska energija mnogo višja in sicer 39 kJ/mol (Corach in sod., 2014), v raztopini kalijevega klorida (0,01 mol/L) pa nekoliko manjša kot pri raztopinah medu – 14,7 kJ/mol (CDM230, 2004).

4.3 DIELEKTRIČNE LASTNOSTI MEDU

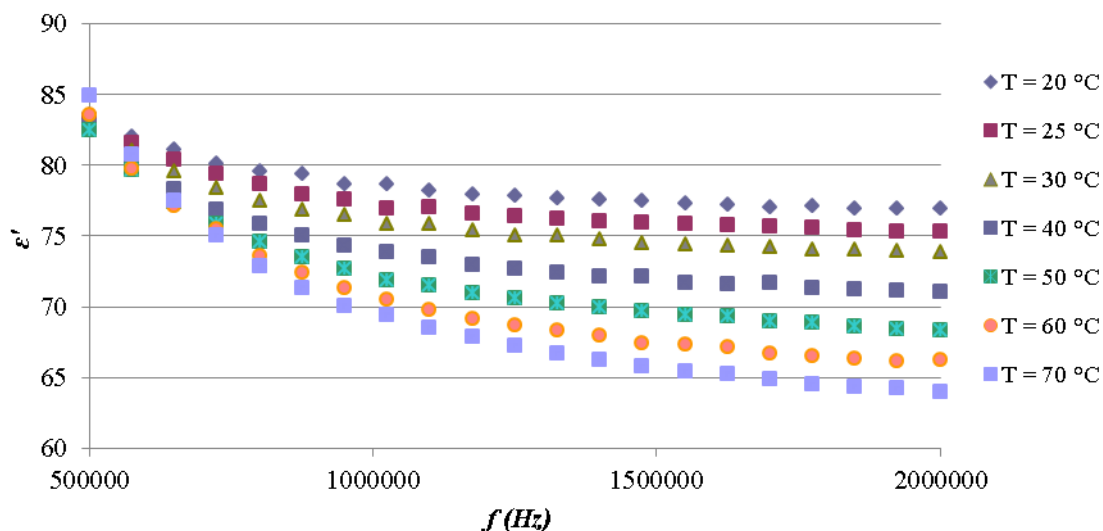
4.3.1 Dielektrične lastnosti vodnih raztopin medu

Dielektrično konstanto in faktor izgub smo določali vodnim raztopinam medu s koncentracijo suhe snovi 200 g/L. Vrstam medu z najvišjo in najnižjo električno prevodnostjo, to je akacijevemu in kostanjevemu medu, smo določili dielektrične lastnosti v širokem temperaturnem območju od 20 do 70 °C, ostalim vrstam medu pa pri 20 in 25 °C. Rezultate za akacijev in kostanjev med smo prikazali na slikah 11 – 13.

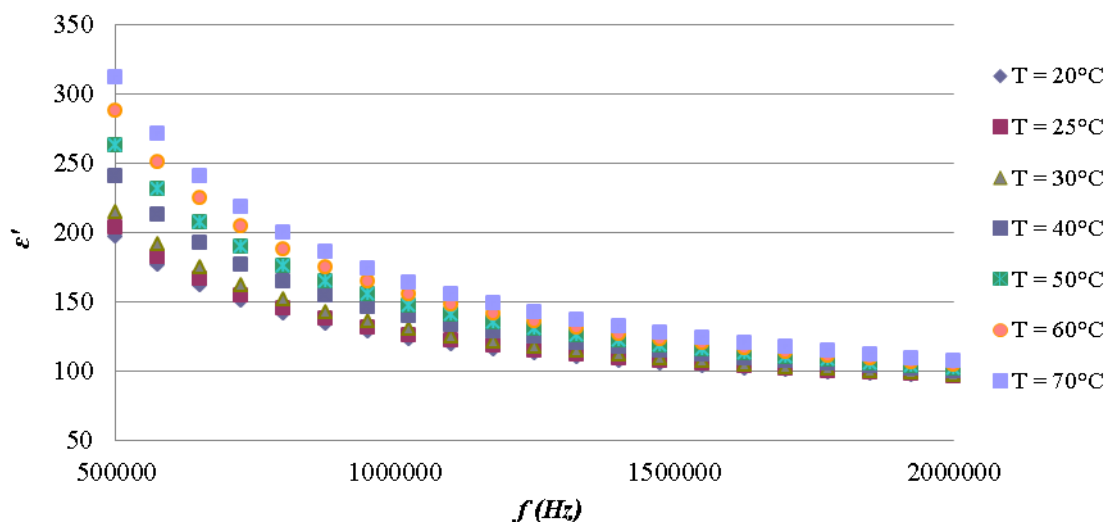
4.3.1.1 Vpliv frekvence na dielektrične lastnosti raztopin medu

Na slikah 11 in 12, kjer je prikazano spreminjanje dielektrične konstante s frekvenco pri različnih temperaturah vidimo, da se za obe vrsti medu dielektrična konstanta v območju od 500 kHz do 2 MHz znižuje. Efekt je mnogo bolj izrazit za raztopino kostanjevega medu, pri raztopini akacijevega medu pa predvsem pri nižjih temperaturah do 30 °C in frekvencah blizu 2 MHz, kjer vidimo, da je dielektrična konstanta neodvisna od frekvence. Pri nizkih frekvencah je vpliv temperature na dielektrično konstanto različen, tako pri akacijevem kot tudi pri kostanjevem medu. Pri raztopini akacijevega medu so vrednosti dielektrične konstante pri frekvenci 500 kHz za vse temperature zgoščene med vrednosti 80 in 85, medtem ko so pri kostanjevem medu mnogo bolj razpršene in dosežajo višje vrednosti, približno od 200 do 300. Nasproten pa je vpliv temperature na vrednosti dielektrične konstante pri frekvenci 2 MHz. Pri akacijevem medu je vpliv temperature pri tej frekvenci mnogo večji kot pri 500 kHz, saj so vrednosti razpršene približno na območju med 65 in 75. Pri kostanjevem medu pa je ravno obratno, vpliv temperature se s frekvenco manjša in pri 2 MHz se vse vrednosti gnetejo na območju 100.

Podoben spekter dielektrične konstante, kot za raztopine akacijevega medu, dobimo tudi za vodno raztopino cvetličnega medu, medtem ko je spreminjanje dielektrične konstante s frekvenco za vodno raztopino gozdnega in lipovega medu podobno kot za raztopino kostanjevega medu.



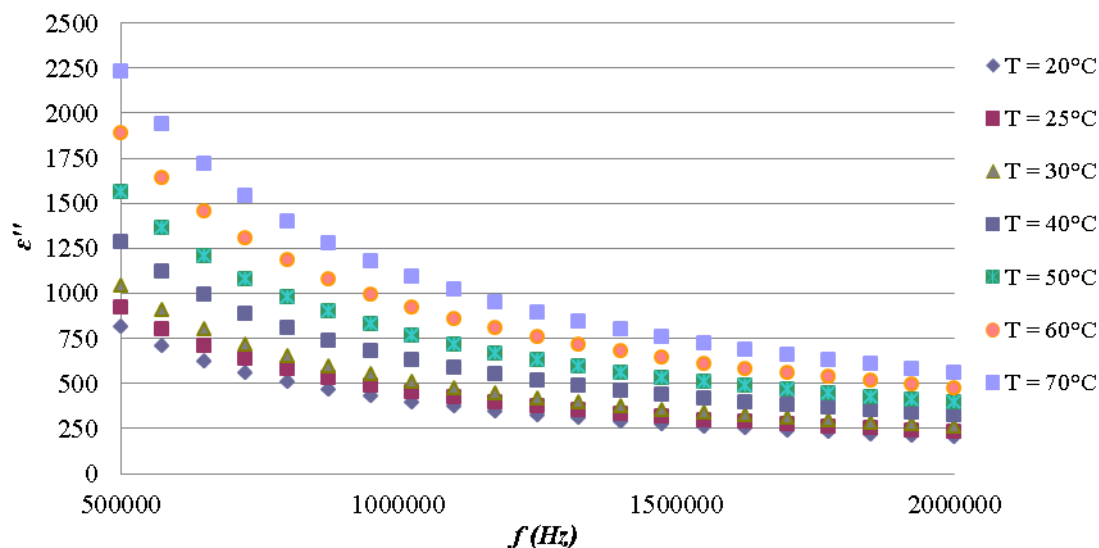
Slika 11: Vpliv temperature, T in frekvence, f na dielektrično konstanto, ϵ' vodnih raztopin akacijevnega medu (T1) s koncentracijo suhe snovi 200 g/L



Slika 12: Vpliv temperature, T in frekvence, f na dielektrično konstanto, ϵ' vodnih raztopin kostanjevega medu (T4) s koncentracijo suhe snovi 200 g/L

Spreminjanje faktorja dielektričnih izgub s frekvenco in temperaturo, smo za raztopino akacijevnega medu prikazali na sliki 13. Odvisnost je za raztopine drugih vrst medu podobna, le vrednosti faktorja izgub so tako pri 500 kHz kot pri 2 MHz veliko višje. Faktor dielektričnih izgub odraža količino ionov v raztopini medu in je v primerjavi z dielektrično konstanto zelo visok. Vodne raztopine medu so predvsem prevodne raztopine, njihova

kapacitivnost je, v primerjavi z upornostjo, majhna. Za vse vrste medu lahko ugotovimo, da se faktor dielektričnih izgub zničuje z naraščajočo frekvenco in narašča s temperaturo.



Slika 13: Vpliv temperature, T in frekvence, f na faktor dielektričnih izgub, ϵ'' vodnih raztopin akacijevnega medu (T1) s koncentracijo suhe snovi 200 g/L

Vodne raztopine medu so precej prevodne. Spreminjanje dielektrične konstante s frekvenco lahko pripišemo različnim vplivom na vrednosti upornosti in kapacitivnosti, do katerih prihaja zaradi kopičenja elektronov na površini elektrod. Ta pojav se imenuje polarizacija elektrod. Elektrode celice Agilent 16452A so narejene iz jekla in za jeklo je značilno, da je polarizacija elektrod izrazita (Lawton in Pethigt, 1993). Šele tisti del dielektričnega spektra, kjer se izmerjena dielektrična konstanta ne spreminja s frekvenco, lahko pripišemo naravi samega vzorca in ne efektom, ki se dogajajo na meji med elektrodo in raztopino. Vse meritve bi bilo nujno obdelati z modeli, s katerimi se lahko ovrednoti vpliv različnih prispevkov h kapacitivnosti, zaradi efektov na elektrodah, kar pa presega obseg tega dela s področja živilstva. Zaradi možnosti boljše obdelave podatkov smo osnovne meritve upornosti in kapacitivnosti zbrali v prilogah A – D. Poleg tega bi bilo smiselno obravnavati raztopine z veliko nižjo koncentracijo. Izbor koncentracije medu, ki je primeren za merjenje električne prevodnosti, ni primeren za določanje dielektrične konstante raztopin medu. Postopek bi potekal na podoben način, kot ga je za raztopine škroba opisal Yadem in sodelavci (2015). Pojavom se raziskovalci izogibajo tudi z izborom elektrod, ki so prevlečene s črno gobasto platino, ki pa je za elektrode v živilstvu manj primerna, zaradi težav pri čiščenju elektrode zaradi kompleksno sestavljenih vzorcev, ki vsebujejo lipide, beljakovine in kompleksne ogljikove hidrate (Lawton in Pethigt, 1993).

Za obravnavo vpliva vrste medu in temperature na dielektrične lastnosti medu, smo v preglednici 17 zbrali meritve vrednosti faktorja dielektričnih izgub in dielektrične konstante pri 2 MHz, to je pri frekvenci, kjer se je dielektrična konstanta najmanj spreminjala s frekvenco, za vse vrste vodnih raztopin medu s koncentracijo suhe snovi 200 g/L.

Preglednica 17: Dielektrična konstanta, ϵ' in faktor dielektričnih izgub, ϵ'' pri 2 MHz, za vodne raztopine petih vrst medu s koncentracijo suhe snovi 200 g/L, pri različnih temperaturah

Vrsta medu / T (°C)	Dielektrična konstanta, ϵ'			Faktor dielektričnih izgub, ϵ''		
	Akacijev (T1)	Kostanjev (T4)		Akacijev (T1)	Kostanjev (T4)	
20	76,9	95,9		204	1625	
25	75,3	96,5		232	1831	
30	73,9	97,4		261	2048	
40	71,0	100,0		323	2501	
50	68,3	102,1		394	2978	
60	66,2	104,6		474	3477	
70	64,0	107,1		561	3995	
Vrsta medu	Cvetlični (T2)	Gozdni (T3)	Lipov (T5)	Cvetlični (T2)	Gozdni (T3)	Lipov (T5)
20	78,2	84,0	80,4	358	789	603
25	76,9	83,5	79,5	403	893	681

Raztopine medu vsebujejo poleg vode in saharidov tudi precej mineralnih – ionskih snovi. Ponovno lahko zapišemo, da lahko obnašanje vodnih raztopin medu v izmeničnem električnem polju opišemo predvsem s prevodnostjo, saj je prispevek faktorja dielektričnih izgub štiridesetkrat večji od dielektrične konstante pri kostanjevem in devetkrat večji pri akacijevem medu. Zaradi oblikovanja plasti ionov na površini elektrod, je izračunana dielektrična konstanta vodnih raztopin kostanjevega medu mnogo previsoka (slika 14, preglednica 17). Vrednosti dielektrične konstante vodne raztopine glukoze s koncentracijo 200 g/L so 75,1 pri 20 °C in 73,6 pri 25 °C, te vrednosti za fruktozo pa so 75,5 in 73,9 (Chen in sod., 2008), kar je primerljivo z vrednostmi dielektrične konstante akacijevga in morda še cvetličnega medu.

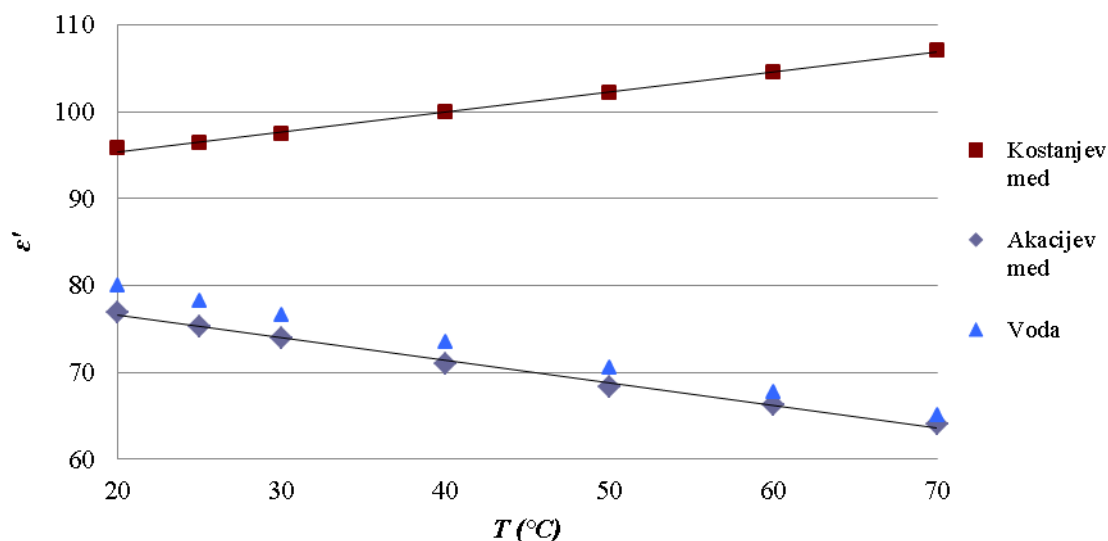
Podatkov o dielektrični konstanti raztopin medu je v literaturi malo. Guo s sodelavci (2011a) je za 43 % vodno raztopino akacijevga medu pri 10 MHz določil dielektrično konstanto 60. Dielektrična konstanta se z naraščajočim deležem medu v raztopini in z naraščajočo frekvenco, znižuje. Nedefinirani vrsti medu je Puranik s sodelavci (1991) določil dielektrično konstanto pri 10 MHz in 25 °C (30 % raztopina medu 74,07 in 10 % raztopina 75,09), kar je podobno kot vrednosti za akacijev med v preglednici 17. Faktor

dielektričnih izgub določen pri istih pogojih je za 30 % raztopino medu 607 in 10 % raztopino 556, kar je podobno vrednosti za lipov med.

4.3.1.2 Vpliv temperature na dielektrične lastnosti raztopin medu

Vpliv temperature na dielektrično konstanto raztopin medu smo predstavili na sliki 15, kjer vidimo nasprotni vpliv temperature na vrednosti dielektrične konstante za akacijev in kostanjev med. Naraščanje dielektrične konstante s temperaturo pri raztopini kostanjevega medu kaže na to, da na vrednosti izmerjene kapacitivnosti vpliva polarizacija elektrode, saj za vodne raztopine monosaharidov pri 2 MHz velja, da se dielektrična konstanta znižuje z naraščajočo temperaturo. Nižjo dielektrično konstanto smo pri višji temperaturi (25 °C) določili tudi pri raztopinah cvetličnega, gozdnega in lipovega medu (preglednica 14).

Za vodne raztopine glukoze in fruktoze so kitajski avtorji (Chen in sod., 2008) tudi določili, da se logaritem dielektrične konstante linearno znižuje s temperaturo, s koeficientom $-0,0019\text{ K}^{-1}$. Ta koeficient ima za akacijev med vrednost $-0,0016\text{ K}^{-1}$. Tudi iz tega podatka lahko sklepamo, da je izmerjena kapacitivnost in izračunana dielektrična konstanta za raztopine akacijevnega medu smiselna, medtem ko za kostanjev med verjetno ni. Odvisnost dielektrične konstante od temperature (°C) za akacijev med lahko opišemo s premico, pri kateri je odsek 81,74 in naklon $-0,259$, ter $r^2 = 0,996$. Za primerjavo smo na sliko 14 vnesli še podatke o dielektrični konstanti vode pri različnih temperaturah. Vidimo lahko podoben vpliv temperature na dielektrično konstanto vode in vodno raztopino akacijevnega medu, v nasprotju z vodno raztopino kostanjevega medu. Tudi vpliv temperature na dielektrično konstanto kostanjevega medu je linearen ($\epsilon' = 0,2288 \cdot T + 90,851$, $r^2 = 0,9965$).



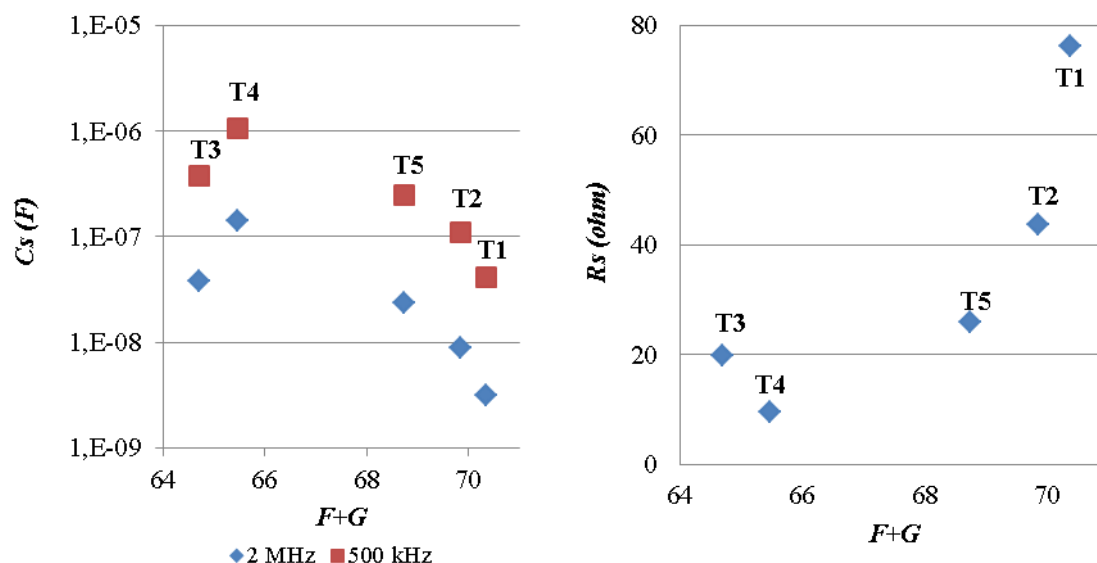
Slika 14: Vpliv temperature, T na vrednost dielektrične konstante, ϵ' vodne raztopine kostanjevega (T4) in akacijevega (T1) medu ter vode

Guo je s sodelavci (2011a) proučeval vpliv temperature na dielektrično konstanto medu s 30 % vode in ugotovil, da se pri 10 MHz dielektrična konstanta z naraščajočo temperaturo znižuje. Za višje frekvence v GHz območju, pa je vpliv temperature nasproten. Obrat so opazili pri 200 MHz.

4.3.1.3 Vpliv sestave medu na električne lastnosti raztopin medu

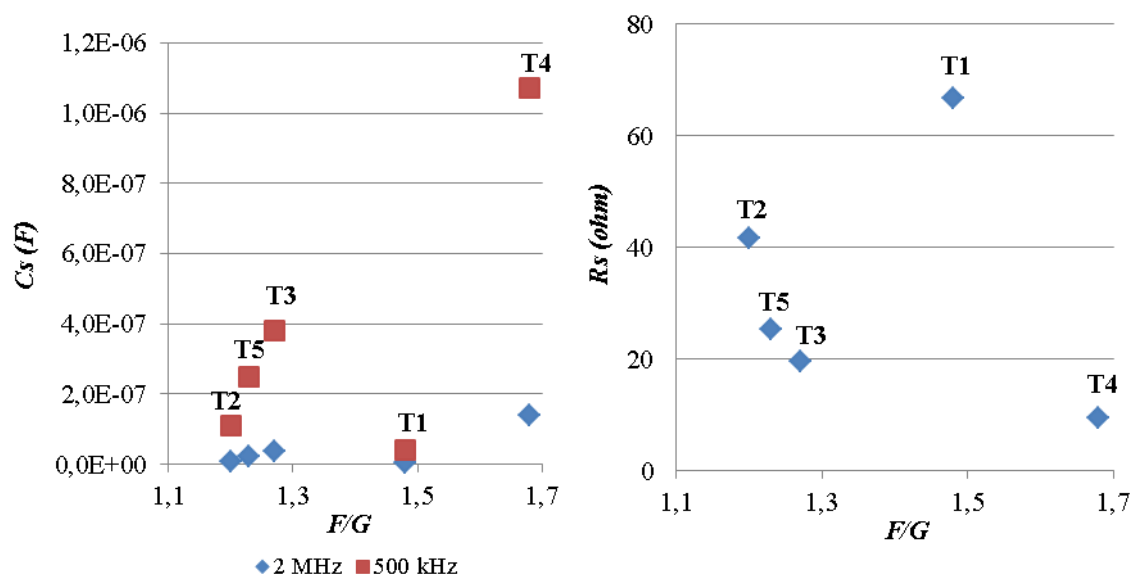
Dielektrično konstanto in faktor izgub raztopin medu smo izračunali iz merjenih parametrov C_s in R_s . Dielektrične lastnosti opisujejo lastnosti snovi, ki jih napolnimo v celico. Rezultati kažejo, da je pri raztopinah medu odziv celice odvisen tudi od različnih efektov na površini elektrod. Zato bomo za ugotavljanje vpliva sestave medu, električne prevodnosti in vsebnosti glavnih sladkorjev, na odziv LCR metra obravnavali kar osnovne podatke o upornosti in kapacitivnosti.

Poiskali smo odvisnost najbolj karakterističnih vrednosti C_s in R_s od sestave medu. Ker je vpliv frekvence na C_s velik, smo kot najbolj karakteristično vrednost C_s izbrali tisto pri frekvenci 500 kHz in 2 MHz; za R_s , ker je vpliv frekvence na to funkcijo majhen, pa le vrednosti pri 2 MHz. Sestavo medu smo opisali z razmerjem in vsoto vsebnosti glukoze in fruktoze v medu ter z električno prevodnostjo raztopin medu. Odvisnosti smo prikazali na slikah 15 – 17.



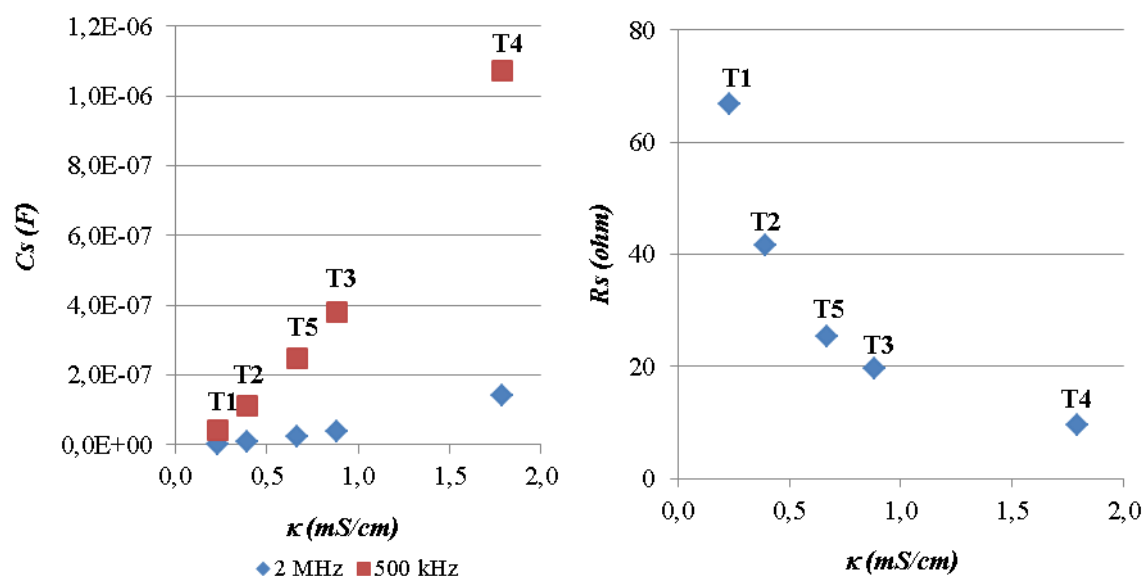
Slika 15: Odvisnost kapacitivnosti, C_s izmerjene pri 500 kHz in 2 MHz, ter upornosti, R_s raztopin medu s koncentracijo suhe snovi 200 g/L od vsote vsebnosti glukoze in fruktoze v medu, $F+G$

Na sliki 15 vidimo, da se C_s znižuje, medtem ko R_s narašča z naraščajočo vsoto vsebnosti glukoze in fruktoze ($F+G$). Pearsonov koeficient korelacije, r je $-0,70$ za C_s pri 2 MHz in $-0,74$ za C_s pri 500 kHz, ter $+0,84$ za R_s . Spreminjanje vseh treh električnih parametrov je statistično značilno. V vseh primerih izstopa nekoliko prenizka vrednost (C_s) ali previsoka (R_s) izmerjena pri medu T3 (gozdni med). Upornost raztopin medu z naraščajočo skupno vsebnostjo glukoze in fruktoze narašča, recipročna vrednost upornosti (prevodnost) pa se znižuje. Ugotovili smo, da ima vpliv vrednosti ($F+G$) in (F/G) (slika 16) na C_s pri 500 kHz in 2 MHz enak trend, samo vrednosti C_s pri 500 kHz so precej višje od tistih pri 2 MHz.



Slika 16: Odvisnost kapacitivnosti, C_s izmerjene pri 500 kHz in 2 MHz, ter upornosti, R_s pri 2 MHz raztopin medu s koncentracijo suhe snovi 200 g/L, od razmerja med fruktozo in glukozo, F/G

Na sliki 16 vidimo, da C_s določen pri obeh frekvencah narašča z naraščajočim razmerjem F/G , medtem ko se R_s z naraščajočim razmerjem F/G znižuje. Na obeh slikah je izjema med T1 (akacijev med). Pearsonovi koeficienti korelacije kažejo na statistično visoko značilno odvisnost pri parametru C_s (+ 0,76 pri 2 MHz in + 0,72 pri 500 kHz), medtem ko je za parameter R_s odvisnost statistično neznačilna, zaradi velikega odstopanja upornosti akacijevega medu ($r = -0,14$). Če poiščemo odvisnost prevodnosti ($1/R_p$) od razmerja F/G in izpustimo točko za akacijev med je $r = +0,98$.



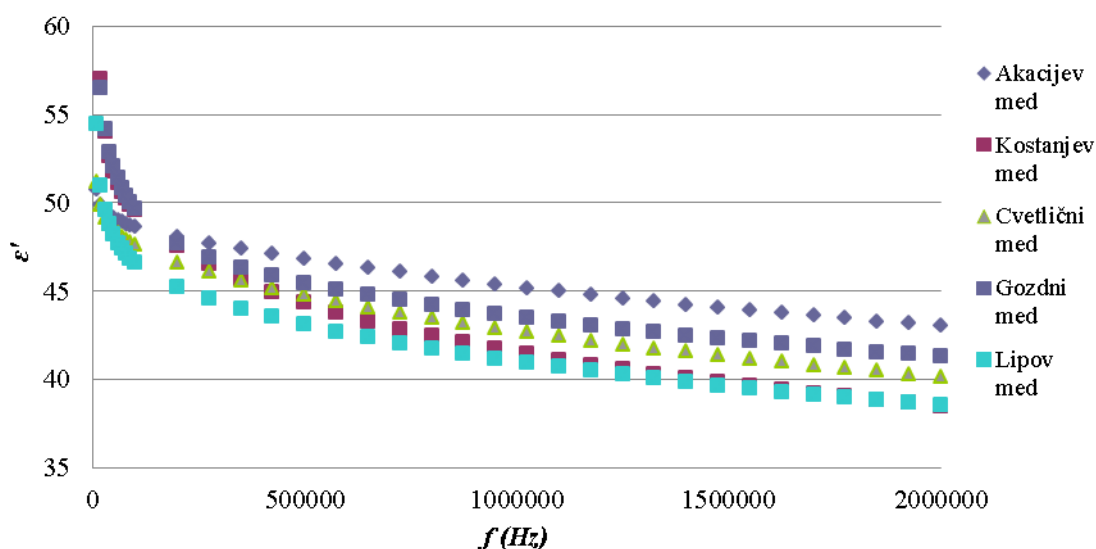
Slika 17: Odvisnost kapacitivnosti, C_s izmerjene pri 500 kHz in 2 MHz, ter upornosti, R_s pri 2 MHz raztopin medu s koncentracijo suhe snovi 200 g/L od specifične električne prevodnosti, κ , izmerjene s konduktometrom

Specifična električna prevodnost (slika 17) sodi, prav tako kot kapacitivnost in upornost, med električne lastnosti medu, zato smo pri teh odvisnostih ugotovili veliko ujemanje meritev. Kapacitivnost skoraj linearno narašča s specifično električno prevodnostjo ($r = +0,984$ pri 2 MHz in $+0,995$ pri 500 kHz). Iz teh vrednosti lahko ponovno ugotovimo, da je pri pogojih izvedbe analiz na vrednost kapacitivnosti vplivala prisotnost ionov v raztopini. Upornost R_s raztopine se znižuje z naraščajočo prevodnostjo. Seveda je prevodnost recipročna vrednost upornosti, za odvisnost $1/R_s$ od specifične električne prevodnosti določene s konduktometrom, je Pearsonov koeficient korelacije, $r = +0,99990$. Iz tega podatka lahko sklepamo, da smo meritve natančno izvedli, saj specifična prevodnost določena s konduktometrom CDM230 zelo dobro sovпада s prevodnostjo določeno z LCR metrom.

4.3.2 Dielektrične lastnosti medu

Pri določanju dielektričnega spektra nerazredčenega medu, smo se najprej ukvarjali s polnjenjem celice za tekoče vzorce z gosto in viskozno snovjo kot je med. Vse vrste medu smo pred polnjenjem segreli v termostatu na $35 - 40^\circ\text{C}$, tako smo kristaliziran med utekočinili, vsem vrstam medu pa znižali viskoznost. Topel med smo napolnili v injekcijsko iglo in ga injicirali v celico za tekoče vzorce. Celico smo termostatirali pri 25°C in ko se je vzpostavila želena temperatura izvedli meritve.

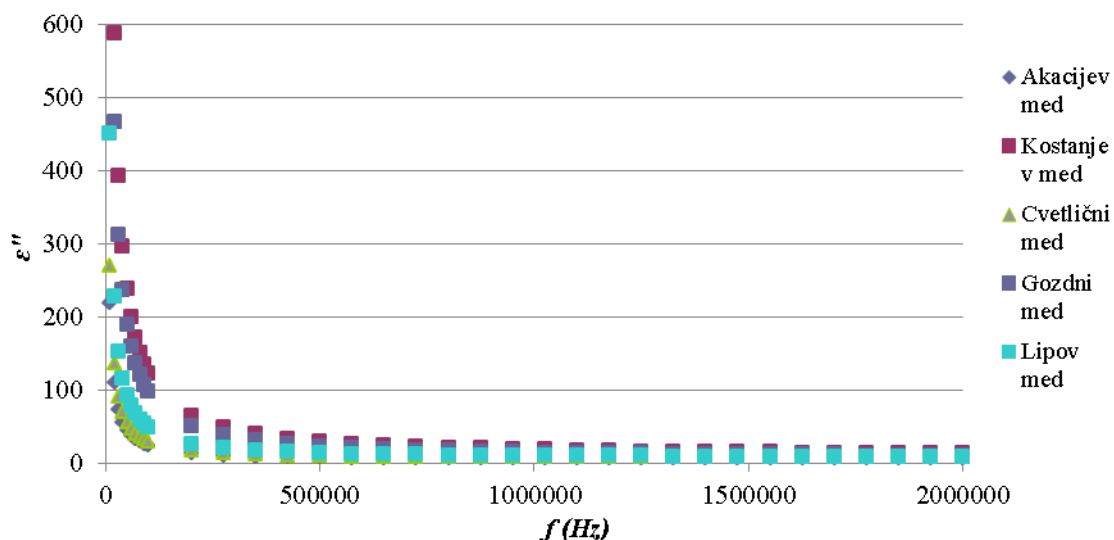
Dielektrični spekter za nerazredčene raztopine medu smo prikazali na sliki 18 za dielektrično konstanto in na sliki 19 za faktor dielektričnih izgub. Na obeh slikah vidimo, da se tako dielektrična konstanta kot faktor izgub znižujeta z naraščajočo frekvenco. Dielektrična konstanta se hitro zniža do frekvence 200 kHz, od 200 kHz naprej pa je zniževanje počasnejše in enakomerno. Dielektrična konstanta v frekvenčnem območju do 2 MHz nikjer ne doseže platoja. Vpliv frekvence na spreminjanje dielektrične konstante je največji pri kostanjevem in lipovem, najmanjši pa pri akacijevem medu.



Slika 18: Odvisnost dielektrične konstante, ϵ' od frekvence, f za nerazredčen med pri 25 °C, v frekvenčnem območju od 500 kHz do 2 MHz

Zmanjševanje faktorja izgub z naraščajočo frekvenco (slika 18) je do 200 kHz še večje kot pri dielektrični konstanti, saj se ta faktor v tem frekvenčnem območju zmanjša za okrog dvajsetkrat. Od 200 kHz do 2 MHz je zmanjševanje počasnejše. Tudi tu so spremembe največje pri kostanjevem medu, sledijo gozdni, lipov in cvetlični med, najmanjše spremembe pa smo opazili pri akacijevem medu.

Guo s sodelavci (2011b) je analiziral dielektrični spekter treh vrst medu in ugotovil, da se tudi pri frekvencah od 10 MHz do 4,5 GHz dielektrična konstanta z naraščajočo frekvenco znižuje, faktor dielektričnih izgub pa ima pri približno 100 MHz maksimum. Ahmed s sodelavci (2007) je analiziral dielektrični spekter sedmih vrst medu v frekvenčnem območju od 900 MHz do 2,5 GHz in ugotovil velike razlike v vrednostih dielektrične konstante in faktorja izgub različnih vrst medu, ter da se oba dielektrična parametra z naraščajočo frekvenco znižujeta.

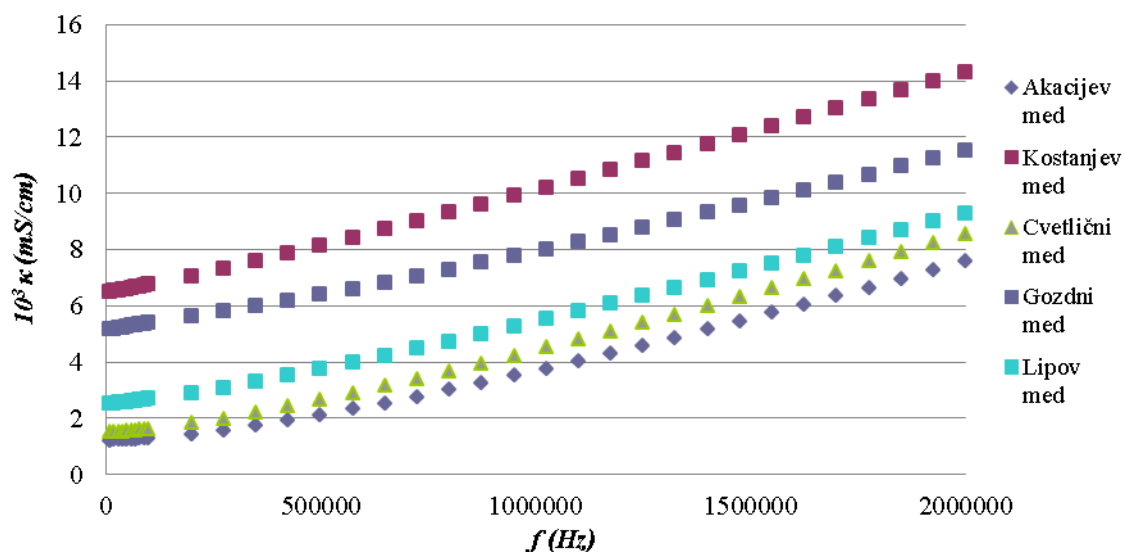


Slika 19: Odvisnost faktorja dielektričnih izgub, ε'' od frekvence, f za nerazredčen med pri 25 °C, v frekvenčnem območju od 500 kHz do 2 MHz

Iz upornosti lahko izračunamo tudi specifično električno prevodnost in ne le faktorja dielektričnih izgub:

$$\sigma = \frac{\varepsilon_0}{R_p \cdot K_c} \quad \dots (21)$$

Odvisnost specifične električne prevodnosti od frekvence za nerazredčen med smo prikazali na sliki 20. Specifična električna prevodnost za vse vrste medu z naraščajočo frekvenco narašča. Vrednosti specifične električne prevodnosti so najvišje za kostanjev med, sledi gozdni, lipov, cvetlični in akacijev med. Vrstni red je enak v vsem frekvenčnem območju, razlike v prevodnosti pa so različne pri različnih frekvencah za različne vrste medu.



Slika 20: Odvisnost specifične električne prevodnosti, κ od frekvence, f za nerazredčen med pri 25 °C, v frekvenčnem območju od 500 kHz do 2 MHz

4.3.2.1 Vpliv sestave medu na električne lastnosti nerazredčenega medu

Za ugotavljanje vpliva vsebnosti sladkorjev in električne prevodnosti na električne parametre nerazredčenega medu, smo izbrali parametre določene pri 2 MHz (preglednica 18).

Preglednica 18: Dielektrična konstanta, ϵ' faktor dielektričnih izgub, ϵ'' in specifična električna prevodnost, κ nerazredčenega medu pri 2 MHz in temperaturi 25 °C

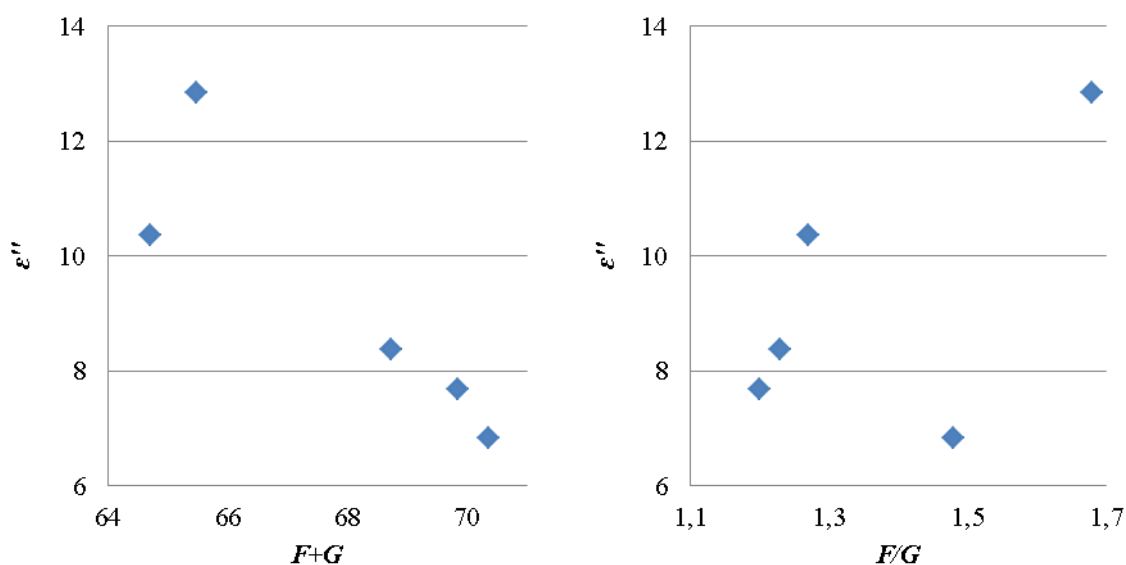
Vzorec medu	Dielektrična konstanta ϵ'	Faktor dielektričnih izgub ϵ''	Električna prevodnost κ (mS/cm)
Akacijev (T1)	43,0	6,82	0,0076
Cvetlični (T2)	40,2	7,68	0,0085
Gozdni (T3)	41,3	10,36	0,0115
Kostanjev (T4)	38,5	12,85	0,0143
Lipov (T5)	38,5	8,36	0,0093

Iz preglednice 18 vidimo, da je dielektrična konstanta neraztopljenega medu nižja kot dielektrična konstanta raztopin medu, kar lahko pojasnimo s tem, da je v medu manj proste vode, skoraj vsa voda je z vodikovimi vezmi trdno vezana na molekule sladkorjev. Vrednosti dielektrične konstante vseh analiziranih vrst medu so si podobne, med 38,5 in 43,0. Interval, v katerem so vse vrednosti dielektrične konstante je 10 %, kostanjev in lipov

med imata pri 2 MHz celo enako dielektrično konstanto. Razlike v vrednosti faktorja dielektričnih izgub pa so pri različnih vrstah medu veliko večje (od 6,8 do 12,9), torej približno za dvakrat.

Puranik s sodelavci (1991) je za nedefiniran med določil vrednost dielektrične konstante 40,29 in faktorja dielektričnih izgub 1,92 pri 10 MHz in temperaturi 25 °C.

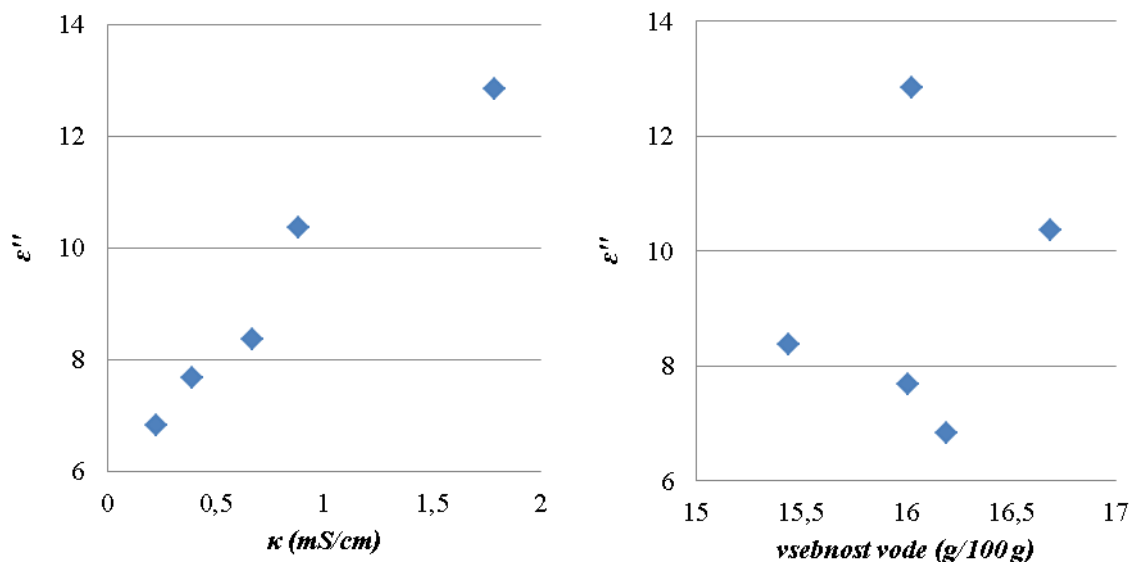
Ugotavljali smo odvisnost dielektrične konstante in faktor izgub nerazredčenega medu, določenega pri 2 MHz in pri 25 °C, od vsebnosti vode in glavnih sladkorjev v medu (parametrov $F+G$ in F/G) in električne prevodnosti raztopin medu. Vsota vsebnosti obeh glavnih sladkorjev ne vpliva statistično značilno na vrednost dielektrične konstante (Pearsonov koeficient korelacije, $r = -0,31$), pač pa značilno na faktor dielektričnih izgub ($r = -0,885$), kar vidimo na sliki 21. Statistično zmerno značilna je odvisnost faktorja dielektričnih izgub od razmerja vsebnosti glavnih sladkorjev F/G ($r = +0,57$, slika 21) v nasprotju z odvisnostjo dielektrične konstante ($r = -0,05$).



Slika 21: Odvisnost faktorja dielektričnih izgub, ϵ'' nerazredčenega medu pri 2 MHz in 20 °C od vsote vsebnosti fruktoze in glukoze, $F+G$ in od razmerja vsebnosti fruktoze in glukoze, F/G

Pri ugotavljanju odvisnosti dielektričnih parametrov od električne prevodnosti raztopin medu, smo določili za vpliv na dielektrično konstanto Pearsonov koeficient korelacije ($r = -0,42$). Za faktor dielektričnih izgub (slika 22) smo pričakovano določili visoko odvisnost med faktorjem dielektričnih izgub in električno prevodnostjo raztopin ($r = +0,975$), saj oba parametra odražata vsebnost mineralnih oziroma ionskih snovi v medu.

Vsebnost vode v nasprotju s podatki iz literature (Ahmed in sod., 2007; Guo in sod., 2011b), vpliva zmerno značilno na dielektrično konstanto ($r = +0,62$) ali neznačilno na faktor dielektričnih izgub ($r = +0,20$, slika 22) pri tako majhnih razlikah v vsebnosti vode, kot velja za vseh pet vrst analiziranega medu.



Slika 22: Odvisnost faktorja dielektričnih izgub, ϵ'' nerazredčenega medu pri 2 MHz in 20 °C, od električne prevodnosti raztopin, κ in od vsebnosti vode v medu

5 SKLEPI

- Sestava medu: vsebnost vode, vsebnost fruktoze in glukoze, njuna vsota in razmerje se razlikujejo pri različnih vrstah medu in se skladajo s pričakovanimi vrednostmi.
- Vrednost $F+G$ je višja pri akacijevem, cvetličnem, gozdnem in lipovem medu, pri kostanjevem medu pa je ponekod višja in nižja v primerjavi z rezultati iz literature, a ustreza Pravilniku o medu (2011).
- S priporočeno metodo eksterne standarda smo, v primerjavi z literaturo, določili nekoliko višje vrednosti monosaharidov in nižje vrednosti disaharidov.
- Z metodo standardnega dodatka smo v primerjavi z metodo eksterne standarda v gozdnemu medu določili nekoliko nižje vrednosti fruktoze, glukoze in vsote saharoze in turanoze ter za 30 % večjo vsebnost maltoze.
- Vrednosti električne prevodnosti raztopin medu so skladne s pričakovanimi vrednostmi za proučevane vrste medu: nižjo električno prevodnost smo določili pri akacijevem in cvetličnem, višjo pa pri gozdnem, lipovem in kostanjevem medu. Iz rezultatov meritev lahko razberemo, da v vseh primerih električna prevodnost narašča z naraščajočo temperaturo, tako kot tudi temperaturni koeficient. V prvih sklepih smo potrdili prvo hipotezo.
- Vrsta medu močno vpliva na dielektrično konstanto in faktor dielektričnih izgub raztopin medu. S tem smo potrdili drugo hipotezo.
- Pri nizkih frekvencah je vpliv temperature na dielektrično konstanto raztopin akacijevega in kostanjevega medu različen, pri akacijevem medu so vrednosti dielektrične konstante pri frekvenci 500 kHz za vse temperature zgoščene med vrednosti 80 in 85, pri kostanjevem medu pa bolj razpršene in dosežajo vrednosti približno od 200 do 300. Pri frekvenci 2 MHz pa se vidi nasproten vpliv temperature na vrednosti dielektrične konstante. Pri akacijevem medu so vrednosti razpršene približno na območju med 65 in 75, pri kostanjevem medu pa je ravno obratno, vse vrednosti se gnetejo na območju 100.
- Vodna raztopina cvetličnega medu ima podoben spekter dielektrične konstante kot vodna raztopina akacijevega medu, raztopini gozdnega in lipovega medu pa sta bolj podobna dielektričnem spektru kostanjevega medu.

- Faktor dielektričnih izgub se znižuje z naraščajočo frekvenco in narašča s temperaturo pri vseh raztopinah medu. Za vse vzorce medu je spreminjanje faktorja dielektričnih izgub s frekvenco in temperaturo podobna raztopini akacijevega medu, le vrednosti faktorja izgub so tako pri 500 kHz, kot pri 2 MHz veliko višje.
- Pri nerazredčenih vzorcih medu se dielektrična konstanta in faktor izgub znižujeta z naraščajočo frekvenco. Dielektrična konstanta se hitro zniža do frekvence 200 kHz, od 200 kHz pa je zniževanje počasnejše in enakomerno. Vpliv frekvence na spreminjanje dielektrične konstante je največji pri kostanjevem in lipovem, najmanjši pa pri akacijevem medu.
- Pri raztopinah medu smo visoko korelacijo določili za vpliv vsote vsebnosti fruktoze in glukoze na upornost raztopin medu (in s tem faktor dielektričnih izgub), določeno pri 2 Mhz. Pri korelaciji kapacitivnosti (C_s) ali upornosti (R_s) in razmerja vsebnosti fruktoze in glukoze (F/G) izstopa akacijev med.
- Pri analizi vpliva sestave medu na dielektrične lastnosti nerazredčenega medu smo ugotovili, da vsota vsebnosti glukoze in fruktoze značilno vpliva na faktor dielektričnih izgub določen pri 2 MHz in vpliv vsebnosti vode na dielektrično konstanto je statistično zmerno značilen – s tem smo potrdili še zadnjo hipotezo.

6 POVZETEK

Med je naravna sladka snov, ki jo čebele *Apis mellifera* proizvedejo iz nektarja in mane. Je kompleksno sestavljeno živilo in večina njegove sestave predstavljajo ogljikovi hidrati in voda, v manjši meri pa še cel nabor različnih koristnih snovi. Vsaka od teh snovi da medu svojo noto in tako dobimo unikaten proizvod čebel, ki ima cel spekter uporabe za ljudi že mnogo let.

Cilj diplomske naloge je bil, da vzorcem medu določimo dielektrične lastnosti in električno prevodnost v odvisnosti od frekvence, v območju med 500 kHz in 2 MHz in ugotoviti vpliv vsebnosti mineralnih snovi, glukoze in fruktoze na dielektrični spekter medu. Za analizo smo izbrali 5 značilnih vrst medu v Sloveniji in sicer akacijev, cvetlični, gozdni, kostanjev in lipov med.

V diplomski nalogi smo uporabili 4 analitske metode: refraktometrijo, metodo HPLC, električno prevodnost in dielektrično spektrometrijo. Z refraktometrijo smo določili vsebnost vode v vzorcih medu, s HPLC metodo vsebnost saharidov v medu, z električno prevodnostjo prevodnost raztopin medu in pa z dielektrično spektrometrijo smo medu in njegovim raztopinam določili dielektrično konstanto in faktor dielektričnih izgub.

Povprečna vsebnost vode je v vseh petih vzorcih medu krepko pod maksimalno dovoljeno mejo 20 % oziroma 20 g/100 g medu, in sicer najmanjšo vsebnost vode (15,44 g/100 g medu) je imel lipov, največjo pa gozdni med (16,69 g/100 g medu). Akacijev med ima 16,19 g vode/100 g medu, cvetlični 16,01 g vode/100 g medu in kostanjev med 16,03 g vode/100 g medu.

Meritve vsebnosti fruktoze v vzorcih medu smo dobili naslednje: 42,03 g/100 g medu v akacijevem medu, kar je največ izmed petih vzorcev, 41,02 g/100 g medu za kostanjev, 38,04 g/100 g medu za cvetlični, 37,89 g/100 g medu za lipov med in 36,23 g/100 g medu za gozdni med, kar je najmanj med analiziranimi vzorci. Največjo vsebnost glukoze smo izmerili pri cvetličnem medu (31,79 g/100 g medu), sledi lipov med s 30,85 g/100 g medu, gozdni (28,47 g/100 g medu) in akacijev med (28,34 g/100 g medu), daleč najmanjšo vsebnost glukoze pa ima kostanjev med in sicer 24,45 g/100 g medu. Vsebnost saharoze in turanoze je največ v lipovem medu (3,66 g/100 g medu), sledijo akacijev (3,22 g/100 g medu), cvetlični (3,00 g/100 g medu) in gozdni med (2,98 g/100 g medu), kostanjev med pa je zopet na zadnjem mestu (1,68 g/100 g medu). Največjo prisotnost maltoze imata lipov (2,65 g/100 g medu) in akacijev med (2,63 g/100 g medu), sledijo še cvetlični (2,46 g/100 g medu), gozdni (2,27 g/100 g medu) in kostanjev med (2,15 g/100 g medu).

S HPLC metodo smo po metodi eksterne standarda določili višjo vrednost glukoze akacijevem in cvetličnem medu, manjšo vrednost pa gozdnem, kostanjevem in lipovem medu, v vseh petih vrstah medu pa približno 2 % višjo vsebnost fruktoze v primerjavi z literaturo. Rezultati vsote disaharidov saharoze in turanoze so bili višji za gozdni in lipov med, v primerjavi z vrednostmi iz literature, nižjo vsoto disaharidov pa smo izmerili pri akacijevem, cvetličnem in kostanjevem medu. Vrednosti maltoze se pri vseh vzorcih medu gibljejo od 2,2 do 2,5 g/100 g medu, kar ponekod presega vrednosti (gozdni med), ponekod pa ne dosega vrednosti (kostanjev med) iz literature.

Pri HPLC metodi smo za vzorec gozdnega medu primerjali metodo eksterne standarda in standardnega dodatka. Z metodo eksterne standarda smo določili nekoliko višje vrednosti monosaharidov in nižje vrednosti disaharidov. Z metodo standardnega dodatka, pa smo gozdnemu medu določili nekoliko nižje vrednosti glukoze, fruktoze in vsoto saharoze in turanoze, vsebnost maltoze pa je bila za 30 % večja.

Izračunali smo še dva parametra, s katerima opisujemo vsebnosti najpomembnejših sladkorjev v medu in sicer vsoto vsebnosti glukoze in fruktoze ($F+G$) in razmerje vsebnosti glukoze in fruktoze (F/G) v medu. Vrednosti $F+G$ so bile višje pri akacijevem (70,36), cvetličnem (69,84), gozdnem (64,70) in lipovem medu (68,74), pri kostanjevem medu (65,47) pa so bile ponekod višje in nižje v primerjavi z vrednostmi iz literature. Razmerje fruktoze in glukoze (F/G) se pri akacijevem (1,48) in cvetličnem medu (1,20) lepo ujema s podatki iz literature, nekoliko pa odstopa navzgor pri gozdnem (1,27) in lipovem medu (1,23), izrazito pa pri kostanjevem medu (1,68).

V skladu s standardizirano metodo smo električno prevodnost merili raztopinam medu z masno koncentracijo suhe snovi 200 g/L. Višjo električno prevodnost smo izmerili pri gozdnem in lipovem medu, nižjo pa pri cvetličnem in akacijevem medu. Iz rezultata vseh meritev lahko vidimo, da v vseh primerih specifična električna prevodnost narašča z naraščajočo temperaturo, tako kot tudi temperaturni koeficient.

Dielektrične lastnosti smo merili v temperaturnem območju od 20 – 70 °C raztopinam akacijevega in kostanjevega medu, drugim trem vzorcem medu pa pri 20 in 25 °C. Pri raztopini akacijevega in kostanjevega medu vidimo trend zniževanja dielektrične konstante v območju od 500 kHz do 2 MHz. Pri nizkih frekvencah je vpliv temperature na dielektrično konstanto različen, pri akacijevem medu so vrednosti pri frekvenci 500 kHz za vse temperature zgoščene med vrednosti 80 in 85, pri kostanjevem medu pa bolj razpršene med vrednosti od 200 do 300. Pri višji frekvenci 2 MHz se pa vidi ravno nasproten vpliv temperature na vrednosti dielektrične konstante. Pri akacijevem medu so vrednosti razpršene približno na območju med 65 in 75, pri kostanjevem medu se vse vrednosti gnetejo na območju 100. Če primerjamo še druge vrste medu z dielektričnim spektrom

kostanjevih in akacijevih raztopinam medu, se vidi podobnost cvetličnega medu z akacijevim in lipovega in gozdnega s kostanjevim medom.

Vpliv temperature na dielektrično konstanto ima nasproten vpliv za akacijev in kostanjev med. Pri kostanjevem medu dielektrična konstanta narašča s temperaturo, kar kaže na to, da je na vrednosti izmerjene kapacitivnosti vplivala polarizacija elektrode, to je kopičenje elektronov na površini elektrod. Za vodne raztopine monosaharidov drugače velja, da se dielektrična konstanta znižuje z naraščajočo temperaturo. Pri vseh vzorcih medu se faktor dielektričnih izgub znižuje z naraščajočo frekvenco in narašča s temperaturo.

Pri nerazredčenih vzorcih medu se dielektrična konstanta in faktor izgub z naraščajočo frekvenco znižujeta. Dielektrična konstanta se hitro zniža do frekvence 200 kHz, od tu pa se upočasni in postane enakomerna. Vpliv frekvence na spreminjanje dielektrične konstante je največji pri kostanjevem in lipovem, najmanjši pa pri akacijevem medu. Faktor izgub pa se z naraščajočo frekvenco zmanjšuje, do 200 kHz je trend hiter, nato pa se upočasni. Najbolj so vidne spremembe pri kostanjevem medu, potem gozdnem, nato lipovem, cvetličnem in najmanj pri akacijevem medu.

7 VIRI

- Adamič Š. 1989. Temelji biostatistike. 2. izd. Ljubljana, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Inštitut za biomedicinsko informatiko: 27 – 36, 116 – 120
- Agilent Technologies. 2000. Agilent 16452A Liquid test fixture operation and service manual. 3rd ed. Kobe, Agilent Technologies: 48 str.
- Agilent Technologies. 2006. Agilent E4980A Precision LCR meter 20 Hz to 2 MHz data sheet. Kobe, Agilent Technologies: 35 str.
- Ahmed J., Prabhu S.T., Raghavan G.S.V., Ngadi M. 2007. Physico – chemical, rheological, calorimetric and dielectric behavior of selected Indian honey. Journal of Food Engineering, 79: 1207 – 1213
- AOAC Official Method 969.38. Moisture in honey. 1999. V: Official methods of analysis of AOAC International. Vol. 2. Cuniff P. (ed.). 16th ed. Gaithersburg, AOAC International, Chapter 44: 20 – 21
- Biochemical practicals in winter semester: module Cellular basis of medicine. 2013. Praha, Univerzita Karlova v Praze: 20 – 20
[http://nas.lf3.cuni.cz/materialy/CVSE1M0001/instructions_zs_2013-14\(52444636398b6\).pdf](http://nas.lf3.cuni.cz/materialy/CVSE1M0001/instructions_zs_2013-14(52444636398b6).pdf) (30.05.2016)
- Bogdanov S. 2009. Harmonised methods of the International Honey Commission. Bern, International Honey Commission, Bee Product Science: 63 str.
<http://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf> (25.04.2016)
- Bogdanov S., Lüllmann C, Martin P., von der Ohe W., Russmann H., Vorwohl G., Persano – Oddo L., Sabatini A.G., Marazzan G.L., Piro R., Flamini C., Morlot M., Lheritier J., Borneck R., Marioleas P., Tsigouri K., Kerkvliet J., Ortiz A., Ivanov T., D'Arcy B., Mossel B., Vit P. 1999. Honey quality and International Regulatory Standards: Review of the work of the International Honey Commission. Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, 90, 1: 108 – 125
- Božnar A. 2003. Mikrobiologija medu. V: Mikrobiologija živil živalskega izvora. Bem Z., Adamič J., Žlender B., Smole Možina S., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 579 – 588
- Božnar M. 2002. Zaklad iz čebeljega panja. Ljubljana, Kmečki glas: 12 – 14

- CDM230. 2004. Conductivity meter: Operating instructions, D21M009. Copenhagen, Radiometer Analytical SAS: 169 str.
- Ceirwyn S.J. 1995. Analytical chemistry of foods. Glasgow, Blackie Academic and Professional, Chapman & Hall: 59 – 59
- Chen Y.J., Zhuo K.L., Kang L., Xu S.J., Wang J.J. 2008. Dielectric constants for binary saccharide – water solutions at 278,15 – 313,15 K. *Acta Physica – Chimica Sinica*, 24, 1: 91 – 96
- Corach J., Sorichetti P.A., Romano S.D. 2014. Electrical properties of vegetable oils between 20 Hz and 2MHz. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39: 8754 – 8758
- Datta A.K., Sumnu G., Gaghavan G.S.V. 2005. Dielectric properties of foods. V: *Engineering properties of foods*. 3rd ed. Rao M.A., Rizvi S.S.H., Datta A.K. (eds.). New York, Taylor & Francis group: 501 – 566
- Golob T. 1999. Osnove refraktometrije in elektrolitske prevodnosti. V: *Pridelava in kontrola medu v okviru kolektivne blagovne znamke za slovenski med*. Golob T. (ur.). Ljubljana, Čebelarska zveza Slovenije, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 49 – 60
- Golob T., Plestenjak A. 1999. Quality of Slovene honey. *Food Technology and Biotechnology*, 37, 3: 195 – 201
- Golob T., Jamnik M., Bertoncelj J., Kropf U., Kandolf A., Božič J., Zdešar P., Meglič M., Goljat A. 2008a. Uvod. V: *Med. Značilnosti slovenskega medu*. Kandolf A. (ur.). Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije: 7 – 7
- Golob T., Jamnik M., Kropf U., Bertoncelj J., Kandolf A. 2008b. Lastnosti medu. V: *Med. Značilnosti slovenskega medu*. Kandolf A. (ur.). Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije: 25 – 42
- Golob T., Jamnik M., Kropf U., Bertoncelj J., Kandolf A. 2008c. Fizikalno – kemijski parametri ter senzorične in mikroskopske značilnosti slovenskega medu. V: *Med. Značilnosti slovenskega medu*. Kandolf A. (ur.). Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije: 43 – 69
- Guo W., Liu Y., Zhu X., Wang S. 2011a. Temperature – dependent dielectric properties of honey associated with dielectric heating. *Journal of Food Engineering*, 102: 209 – 216

- Guo W., Liu Y., Zhu X., Wang S. 2011b. Dielectric properties of honey adulterated with sucrose syrup. *Journal of Food Engineering*, 107: 1 – 7
- Korošec M. 2012. Določitev fizikalnih kemijskih parametrov za ugotavljanje prisotnosti medu. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 205 str.
- Košmelj K. 2007. Uporabna statistika (elektronski vir). 2. dopolnjena izd. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 56 – 69
http://www.bf.uni-lj.si/fileadmin/groups/2721/Uporabna_statistika_okt_2007/Uporabna_statistika_01.pdf
(23.05.2016)
- Kropf U., Jamnik M., Bertonecelj J., Golob T. 2008. Linear regression model of the ash mass fraction and electrical conductivity for Slovenian honey. *Food Technology and Biotechnology*, 46, 3: 335 – 340
- Lawton B.A., Pethigt R. 1993. Determining the fat content of milk and cream using AC conductivity measurements. *Measurement Science and Technology*, 4: 38 – 41
- Liao X.J., Raghavan G.S.V., Dai J., Yaylayan V.A. 2003. Dielectric properties of α -D glucose aqueous solutions at 2450 MHz. *Food Research International*, 36: 485 – 490
- Łuczycza D. 2010. Dielectric properties of selected honey varieties. *Inżynieria Rolnicza*, 5, 123: 137 – 142
- Łuczycza D., Nowakowski P., Szewczyk A., Pruski K., Howis M. 2012. Electric properties in commodity – science evaluation of honey. *Acta Agrophysica*, 19, 4: 749 – 759
- Meglič M. 2008. Tehnologija pridelave medu v Sloveniji. V: Med. Značilnosti slovenskega medu. Kandolf A. (ur.). Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije: 15 – 18
- Meglič M. 2004. Čebelji pridelki pridobivanje in trženje. Brdo pri Lukovici, Čebelarska zveza Slovenije: 96 str.
- Midmore B.R., Hunter R.J., O'Brien R.W. 1987. Dielectric response of concentrated lattices. *Journal of Colloid and Interface Science*, 120: 210 – 217
- Park Y.W. 1996. Determination of moisture and ash contents of food. V: Handbook of food analysis. Vol. 1. Nollet L.M.L. (ed.). Marcel Dekker, New York, Inc.: 59 – 92

Peris – Tortajada M. 1996. Carbohydrates. V: Handbook of food analysis. Vol. 1. Nollet L.M.L. (ed.). Marcel Dekker, New York, Inc.: 533 – 550

Pravilnik o medu. 2011. Uradni list Republike Slovenije, 21, 4: 345 – 347

Puranik S., Kumbharkhane A., Mehrotra S. 1991. Dielectric properties of honey – water mixtures between 10 MHz to 10 GHz using time domain technique. Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy, 26, 4: 196 – 201

Pušnik V. 2016. Apiterapija. Ljubljana, Kmečki glas: 20 – 32

Rudan – Tasič D., Klofutar C. 2007. Fizikalnokemijske metode v živilstvu. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 224 – 236

Sahin S., Gülüm Sumnu S. 2006. Physical properties of foods. New York, Springer Science + Business Media, LLC.: 157 – 192

Seljak J. 1996. Statistične metode. Ljubljana, Visoka upravna šola: 197 – 199

Skoog A.D., West M.D., Holler J.F., Crouch R.S. 2004. Fundamentals of analytical chemistry. 8th ed. Belmont – CA, Brooks/Cole – Thomson Learning Inc.: 920 – 985

Šegatin N., Rudan – Tasič D., Poklar – Ulrih N. 2010. Fizikalno kemijske metode v živilstvu – Laboratorijske vaje. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 47 – 79

Šuhel P., Kralj A. 1991. Sistemi industrijske elektronike: Gradniki in sestavi. Ljubljana, Fakulteta za elektrotehniko in računalništvo: 41 – 43

Yadem C., Repo T., Silvennoinen R. 2015. Dielectric relaxations in starch–water solutions. Electrochimica Acta, 171: 42 – 48

Žorž M. 1991. HPLC. Ljubljana, samozaložba: 5 – 8, 65 – 67

ZAHVALA

Predvsem gre največja zahvala moji nadsuperiorni mentorici doc. dr. Nataši Šegatin s Katedre za biokemijo in kemijo živil Oddelka za živilstvo na Biotehniški fakulteti, za jekleno potrpežljivost, izredno organiziranost, ogromno znanja, bliskovit odziv, brezpogojno pomoč in ustrežljivost in neomajno podporo pri praktični in teoretični izdelavi diplomske naloge!

Ogromna zahvala gre vsem mojim sošolcem in kolegom s fakultete, ki so mi kakorkoli pomagali skozi vsa ta leta na fakulteti, predvsem pa Tjaši Prevc in Roku Felicijanu za vse učne ure, zapiske, nasvete in neizmerno pripravljenost za pomoč!

Vsem profesorjem in osebju Oddelka za živilstvo na Biotehniški fakulteti, s katerimi sem bil več ali manj v stiku, za njihovo izredno prijaznost, razumevanje, človečnost, predajanje znanja in pripravljenost pomagati, zaradi katerih sem si fakulteto zapomnil v res lepem spominu.

Recenzentki, prof. dr. Tatjani Košmerl za hiter, strokoven pregled in koristne nasvete za izboljšavo diplomske naloge.

Lini, Barbari in Brigiti iz knjižnice Oddelka za živilstvo za profesionalen odnos in preskrbo z zelenim gradivom.

Zahvala gre seveda tudi mojim staršem Jožici in Emilu Horvat, bratoma Mihi in Blažu Horvat, teti Darji Glavaš, Maji Wondra, Alenki Golc Wondra, Barbari in Staši Kosler, Maji Peteh, Roku Vrebcu in ostalim prijateljem za vso podporo, nasvete in pomoč v vsem tem času na fakulteti in pri izdelavi diplomske naloge.

PRILOGE

Priloga A: Odvisnost kapacitivnosti, C_s in upornosti, R_s raztopin akacijevega medu za raztopine s koncentracijo suhe snovi 200 g/L, od frekvence in temperature

f (kHz)	Akacijev med (T1)													
	Cs·10 ⁹ (F)	Rs (Ω)	Cs·10 ⁹ (F)	Rs (Ω)	Cs·10 ⁹ (F)	Rs (Ω)	Cs·10 ⁹ (F)	Rs (Ω)	Cs·10 ⁹ (F)	Rs (Ω)	Cs·10 ⁹ (F)	Rs (Ω)	Cs·10 ⁹ (F)	Rs (Ω)
	T = 20 °C		T = 25 °C		T = 30 °C		T = 40 °C		T = 50 °C		T = 60 °C		T = 70 °C	
500	41,0	75,8	53,0	66,8	67,4	59,4	103,0	48,2	153,0	39,6	219,0	32,9	301,0	27,8
575	31,7	75,5	41,0	66,7	52,3	59,3	80,7	48,1	120,0	39,6	174,0	32,9	240,0	27,8
650	25,2	75,2	32,7	66,5	41,8	59,2	64,7	48,0	96,8	39,5	141,0	32,8	196,0	27,8
725	20,6	74,9	26,7	66,2	34,2	59,0	53,1	47,9	79,6	39,5	116,0	32,8	163,0	27,8
800	17,1	74,6	22,2	66,0	28,5	58,9	44,3	47,8	66,6	39,4	97,9	32,8	138,0	27,7
875	14,4	74,3	18,8	65,8	24,1	58,7	37,5	47,8	56,6	39,4	83,3	32,7	118,0	27,7
950	12,4	73,9	16,1	65,6	20,6	58,5	32,2	47,7	48,6	39,3	71,8	32,7	102,0	27,7
1025	10,7	73,5	14,0	65,3	17,9	58,3	27,9	47,6	42,3	39,3	62,5	32,7	88,6	27,7
1100	9,4	73,1	12,2	65,0	15,6	58,1	24,4	47,5	37,0	39,2	54,9	32,6	78,0	27,6
1175	8,3	72,7	10,8	64,7	13,8	57,9	21,6	47,4	32,7	39,1	48,6	32,6	69,1	27,6
1250	7,4	72,2	9,6	64,4	12,3	57,7	19,2	47,3	29,1	39,1	43,3	32,6	61,7	27,6
1325	6,7	71,7	8,6	64,1	11,0	57,5	17,2	47,1	26,1	39,0	38,8	32,5	55,4	27,6
1400	6,0	71,3	7,8	63,8	9,9	57,3	15,5	47,0	23,5	38,9	35,0	32,5	50,0	27,6
1475	5,5	70,7	7,1	63,4	9,0	57,0	14,0	46,9	21,3	38,9	31,8	32,4	45,4	27,5
1550	5,0	70,2	6,4	63,1	8,2	56,8	12,8	46,8	19,4	38,8	28,9	32,4	41,4	27,5
1625	4,6	69,7	5,9	62,7	7,5	56,5	11,7	46,6	17,7	38,7	26,4	32,4	37,8	27,5
1700	4,2	69,1	5,4	62,3	6,9	56,3	10,7	46,5	16,3	38,7	24,3	32,3	34,8	27,5
1775	3,9	68,6	5,0	61,9	6,4	56,0	9,9	46,4	15,0	38,6	22,4	32,3	32,1	27,4
1850	3,6	68,0	4,7	61,5	5,9	55,7	9,2	46,2	13,9	38,5	20,7	32,2	29,7	27,4
1925	3,4	67,4	4,3	61,1	5,5	55,4	8,5	46,1	12,9	38,4	19,2	32,2	27,5	27,4
2000	3,2	66,8	4,1	60,7	5,1	55,1	7,9	45,9	12,0	38,3	17,8	32,1	25,6	27,4

Priloga B: Odvisnost kapacitivnosti, C_s in upornosti, R_s raztopin kostanjevega medu za raztopine s koncentracijo suhe snovi 200 g/L, od frekvence in temperature

f (kHz)	Kostanjev med (T4)													
	Cs·10 ⁸ (F)	Rs (Ω)	Cs·10 ⁸ (F)	Rs (Ω)	Cs·10 ⁸ (F)	Rs (Ω)	Cs·10 ⁸ (F)	Rs (Ω)	Cs·10 ⁸ (F)	Rs (Ω)	Cs·10 ⁸ (F)	Rs (Ω)	Cs·10 ⁸ (F)	Rs (Ω)
	T = 20 °C		T = 25 °C		T = 30 °C		T = 40 °C		T = 50 °C		T = 60 °C		T = 70 °C	
500	98,6	9,9	122,2	8,8	145,0	7,9	192,3	6,4	248,2	5,4	309,7	4,6	374,6	4,0
575	83,4	9,9	103,3	8,8	123,2	7,9	164,6	6,4	213,8	5,4	268,3	4,6	326,3	4,0
650	71,6	9,9	88,7	8,8	106,1	7,8	143,0	6,4	186,7	5,4	235,4	4,6	287,8	4,0
725	62,2	9,9	77,1	8,8	92,5	7,8	125,5	6,4	164,6	5,4	208,5	4,6	256,1	4,0
800	54,5	9,9	67,6	8,8	81,4	7,8	111,1	6,4	146,4	5,4	186,1	4,6	229,6	4,0
875	48,2	9,9	59,8	8,8	72,3	7,8	99,3	6,4	131,2	5,4	167,6	4,6	207,6	4,0
950	42,9	9,9	53,4	8,8	64,6	7,8	89,2	6,4	118,4	5,4	151,9	4,6	188,6	4,0
1025	38,5	9,8	47,9	8,7	58,1	7,8	80,6	6,4	107,5	5,4	138,1	4,6	172,2	4,0
1100	34,7	9,8	43,2	8,7	52,6	7,8	73,2	6,4	98,0	5,4	126,4	4,6	157,9	4,0
1175	31,4	9,8	39,2	8,7	47,8	7,8	66,8	6,4	89,7	5,4	116,0	4,6	145,3	4,0
1250	28,6	9,8	35,7	8,7	43,6	7,8	61,2	6,4	82,4	5,4	107,0	4,6	134,2	4,0
1325	26,1	9,8	32,6	8,7	40,0	7,8	56,3	6,4	76,1	5,4	98,9	4,6	124,6	4,0
1400	23,9	9,8	29,9	8,7	36,7	7,8	52,0	6,4	70,4	5,4	91,9	4,6	115,9	4,0
1475	22,0	9,8	27,6	8,7	33,9	7,8	48,2	6,4	65,5	5,4	85,6	4,6	108,2	4,0
1550	20,3	9,8	25,5	8,7	31,4	7,8	44,7	6,4	61,0	5,4	79,9	4,6	101,2	4,0
1625	18,8	9,8	23,7	8,7	29,2	7,8	41,7	6,4	57,0	5,4	74,9	4,6	95,3	4,0
1700	17,5	9,8	22,0	8,7	27,2	7,8	38,9	6,4	53,4	5,4	70,2	4,6	89,4	4,0
1775	16,3	9,8	20,5	8,7	25,4	7,8	36,4	6,4	50,1	5,3	66,2	4,6	84,2	4,0
1850	15,2	9,8	19,2	8,7	23,7	7,8	34,2	6,4	47,1	5,3	62,3	4,6	79,6	4,0
1925	14,2	9,8	17,9	8,7	22,2	7,8	32,1	6,4	44,3	5,3	58,8	4,6	75,2	4,0
2000	13,3	9,8	16,8	8,7	20,9	7,8	30,2	6,4	41,8	5,3	55,5	4,6	71,2	4,0

Priloga C: Odvisnost kapacitivnosti, C_s in upornosti, R_s raztopin cvetličnega, gozdnega in lipovega medu za raztopine s koncentracijo suhe snovi 200 g/L, od frekvence in temperature

f (kHz)	Cvetlični med (T2)				Gozdni med (T3)				Lipov med (T5)			
	$C_s \cdot 10^8$ (F)	R_s (Ω)	$C_s \cdot 10^8$ (F)	R_s (Ω)	$C_s \cdot 10^8$ (F)	R_s (Ω)	$C_s \cdot 10^8$ (F)	R_s (Ω)	$C_s \cdot 10^8$ (F)	R_s (Ω)	$C_s \cdot 10^8$ (F)	R_s (Ω)
	T = 20 °C		T = 25 °C		T = 20 °C		T = 25 °C		T = 20 °C		T = 25 °C	
500	11,0	43,6	13,8	38,7	38,0	19,9	47,0	17,6	24,4	26,1	29,8	23,2
575	8,7	43,6	10,9	38,6	31,1	19,9	38,7	17,6	19,9	26,1	24,5	23,1
650	7,0	43,5	8,9	38,6	25,9	19,9	32,4	17,6	16,5	26,1	20,4	23,1
725	5,8	43,4	7,3	38,5	21,9	19,8	27,5	17,5	13,9	26,0	17,3	23,1
800	4,8	43,3	6,2	38,4	18,8	19,8	23,6	17,5	11,8	26,0	14,8	23,1
875	4,1	43,2	5,2	38,4	16,3	19,8	20,5	17,5	10,2	26,0	12,8	23,0
950	3,5	43,2	4,5	38,3	14,2	19,8	17,9	17,5	8,9	25,9	11,2	23,0
1025	3,1	43,1	3,9	38,3	12,5	19,8	15,8	17,5	7,8	25,9	9,8	23,0
1100	2,7	43,0	3,4	38,2	11,1	19,7	14,1	17,5	6,9	25,9	8,7	23,0
1175	2,4	42,9	3,1	38,1	9,9	19,7	12,6	17,4	6,1	25,9	7,7	22,9
1250	2,1	42,8	2,7	38,1	8,9	19,7	11,3	17,4	5,5	25,8	7,0	22,9
1325	1,9	42,7	2,4	38,0	8,0	19,7	10,3	17,4	4,9	25,8	6,3	22,9
1400	1,7	42,6	2,2	37,9	7,3	19,7	9,3	17,4	4,5	25,8	5,7	22,9
1475	1,6	42,5	2,0	37,8	6,7	19,6	8,5	17,4	4,1	25,7	5,2	22,9
1550	1,4	42,3	1,8	37,8	6,1	19,6	7,8	17,4	3,7	25,7	4,7	22,8
1625	1,3	42,2	1,7	37,7	5,6	19,6	7,2	17,4	3,4	25,7	4,3	22,8
1700	1,2	42,1	1,5	37,6	5,2	19,6	6,6	17,3	3,1	25,6	4,0	22,8
1775	1,1	42,0	1,4	37,5	4,8	19,6	6,1	17,3	2,9	25,6	3,7	22,8
1850	1,0	41,8	1,3	37,4	4,4	19,6	5,7	17,3	2,7	25,6	3,4	22,7
1925	0,9	41,7	1,2	37,3	4,1	19,5	5,3	17,3	2,5	25,6	3,2	22,7
2000	0,9	41,6	1,1	37,2	3,8	19,5	4,9	17,3	2,3	25,5	3,0	22,7

Priloga D: Odvisnost kapacitivnosti, C_s in upornosti, R_s vseh petih nerazredčenih vzorcev medu, od frekvence in temperature

f (kHz)	Akacijev med		Cvetlični med		Gozdni med		Kostanjev med		Lipov med	
	$C_s \cdot 10^{11}$ (F)	R_s (Ω)	$C_s \cdot 10^{11}$ (F)	R_s (Ω)	$C_s \cdot 10^{11}$ (F)	R_s (Ω)	$C_s \cdot 10^{11}$ (F)	R_s (Ω)	$C_s \cdot 10^{11}$ (F)	R_s (Ω)
	T = 25 °C		T = 25 °C		T = 25 °C		T = 25 °C		T = 25 °C	
100	30,5	2491,8	33,6	2927,3	119,4	2585,7	176,1	2213,5	49,2	3358,8
200	26,3	813,0	26,8	1048,3	51,0	1662,1	67,3	1586,7	30,6	1503,0
275	25,5	490,0	25,4	647,8	39,0	1208,6	48,7	1231,9	27,3	964,5
350	25,1	341,3	24,7	456,9	33,5	908,8	40,1	975,5	25,7	683,3
425	24,8	260,1	24,3	350,1	30,4	707,5	35,3	791,1	24,7	518,9
500	24,6	210,2	23,9	283,5	28,6	568,1	32,3	656,3	24,0	414,1
575	24,4	177,0	23,6	238,5	27,3	468,3	30,2	555,3	23,5	342,7
650	24,2	153,6	23,4	206,5	26,3	394,6	28,7	478,1	23,1	291,6
725	24,1	136,2	23,2	182,5	25,6	338,7	27,6	417,7	22,8	253,5
800	23,9	122,9	23,0	164,0	25,1	295,3	26,7	369,5	22,6	224,3
875	23,8	112,3	22,8	149,3	24,6	260,9	26,0	330,5	22,3	201,2
950	23,7	103,7	22,7	137,4	24,3	233,1	25,3	298,3	22,1	182,5
1025	23,6	96,6	22,5	127,4	24,0	210,2	24,8	271,5	21,9	167,2
1100	23,5	90,6	22,4	119,1	23,7	191,2	24,4	248,8	21,8	154,4
1175	23,4	85,5	22,3	112,0	23,4	175,2	24,0	229,5	21,6	143,5
1250	23,3	81,1	22,2	105,8	23,2	161,6	23,7	212,9	21,5	134,2
1325	23,2	77,2	22,1	100,4	23,0	149,9	23,4	198,4	21,4	126,2
1400	23,1	73,8	22,0	95,7	22,9	139,7	23,1	185,7	21,2	119,1
1475	23,0	70,7	21,9	91,5	22,7	130,8	22,9	174,6	21,1	112,9
1550	23,0	68,0	21,8	87,7	22,6	123,0	22,6	164,6	21,0	107,4
1625	22,9	65,5	21,7	84,3	22,4	116,1	22,4	155,8	20,9	102,5
1700	22,8	63,3	21,6	81,2	22,3	109,9	22,2	147,9	20,8	98,1
1775	22,7	61,3	21,5	78,4	22,2	104,3	22,1	140,7	20,7	94,1
1850	22,7	59,4	21,4	75,8	22,1	99,3	21,9	134,2	20,6	90,5
1925	22,6	57,7	21,3	73,5	22,0	94,8	21,7	128,3	20,6	87,2
2000	22,5	56,1	21,3	71,3	21,9	90,7	21,6	123,0	20,5	84,1