

Primjena blisko infracrvene spektroskopije u analizi patvorenja meda

Longin, Lucija

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:752849>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-16**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO – BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj 2019.

Lucija Longin
1135/USH

**PRIMJENA BLISKO
INFRACRVE NE SPEKTROSKOPIJE
U ANALIZI PATVORENJA MEDA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za mjerenje, regulaciju i automatizaciju, Zavoda za procesno inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom doc.dr.sc. Ane Jurinjak Tušek.

ZAHVALA

Posebna zahvala mentorici doc.dr.sc. Ani Jurinjak Tušek na prijateljskom pristupu, posvećenom vremenu i bezbrojnom izlaženju u susret, bez nje ovo ne bi bilo moguće. Zahvaljujem se svojoj obitelji što je proživjela sve moje uspone i padove kao da su njihovi, ali napokon smo došli do cilja zajedno. Hvala svim osobama koje su bile na ovom putu sa mnom, svim osobama koje i dalje proživljavaju ovo sa mnom, bez vas bi ovaj put bio mnogo drugačiji, možda lakši, možda teži, ali putu je došao kraj, tako da veliko hvala svima.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za procesno inženjerstvo
Laboratorij za mjerenje, regulaciju i automatizaciju

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Primjena blisko infracrvene spektroskopije u analizi patvorenja meda

Lucija Longin, 1135/USH

Sažetak: Med je visokovrijedna namirnica, koja zbog svog sastava i cijene sve češće postaje meta patvorenja. U okviru ovog rada provedena je analiza fizikalno-kemijskih svojstava 15 uzoraka izvornih medova te patvorina meda s različitim udjelima komponenata za patvorenje (glukozni i kukuruzni sirup) te su razvijeni kemometrijski modeli (PLS i ANN) za opis i predikciju udjela dodane patvorine i fizikalno-kemijskih svojstva meda na temelju NIR spektara. Dobiveni rezultati fizikalno-kemijskih svojstva pokazuju da su analizirani uzorci izvornih medova u skladu s Pravilnikom o medu te da se dodatak patvorine jednostavno može detektirati na osnovu električne vodljivosti. Na temelju koeficijenta determinacije za validaciju, RMSEP vrijednosti, SEP i RPD vrijednosti za razvijene PLS modele za predikciju udjela patvorina u medu može se zaključiti da su razvijeni modeli robusni i pouzdani za primjenu na uzorcima koji nisu uključeni u model. Rezultati također upućuju da razvijene neuronske mreže osiguravaju dobro slaganje između eksperimentalnih vrijednosti i modelom previđenih vrijednosti na razini učenja, testiranja i validacije jer su za svih 15 uzoraka koeficijenti determinacije na sve tri razine (učenje, testiranje i validacija) viši od 0,9 a pogreške modela niske ($RMSE < 0,01$) te se mogu koristiti za predikciju udjela patvorine i opis fizikalno-kemijskih svojstava patvorina meda na temelju NIR spektra.

Ključne riječi: med, patvorenje, NIR spektroskopija, kemometrija

Rad sadrži: 63 stranica, 12 slika, 30 tablica, 62 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: doc.dr.sc. Ana Jurinjak Tušek

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

Prof.dr.sc. Nada Vahčić
Doc.dr.sc. Ana Jurinjak Tušek
Doc.dr.sc. Davor Valinger
Doc.dr.sc. Maja Benković (zamjena)

Datum obrane: 23. srpnja 2019.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Process Engineering
Laboratory for Measurement, Control and Automatisations

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

Application of near infrared spectroscopy in analysis of adulteration in honey

Lucija Longin, 1135/USH

Abstract: *Honey is a highly valuable food, and due to its composition and price is increasingly becoming the target of adulteration. In this work, the analysis of the physicochemical properties was made for 15 samples of the original honey, and adulterated honeys with the different proportions of adulterants (glucose and corn syrup) and chemometric models (PLS and ANN) were developed for the description and prediction of the added adulterants and physicochemical properties of honey based on NIR spectra. The results of physicochemical properties indicate that the analyzed samples of original honeys in complying with the Regulations about honey and that the addition of adulterants can easily be detected based on the properties of electrical conductivity. Based on the validation determination coefficient, RMSEP values, SEP and RPD values for developed PLS models for the prediction of adulterants ratio in honey, it can be concluded that the developed models are robust and reliable for use on samples that are not included in the model. The results also indicate that developed neuronal networks ensure a good correlation between experimental values and the model of predicted values at the learning, testing and validation level. For all 15 samples the determination coefficients at all three levels (learning, validation testing) are higher than 0.9 and the model error is low ($RMSE < 0.01$) and can be used to predict the ratio of added adulterants and the description of the physicochemical properties of adulterated honey based on the NIR spectrum.*

Keywords: honey, adulteration, NIR spectroscopy, chemometrics

Thesis contains: 63 pages, 12 figures, 30 tables, 62 references,

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) **version is deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: Ana Jurinjak Tušek, PhD.

Reviewers:

PhD. Nada Vahčić, Full Professor

PhD. Ana Jurinjak Tušek, Assistant professor

PhD. Davor Valinger, Assistant professor

PhD. Maja Benković, Assistant professor (substitute)

Thesis defended: 23 July 2019

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Med	2
2.2. Vrste i podjele meda.....	2
2.3. Fizikalna svojstva meda	3
2.3.1. Viskoznost	3
2.3.2. Higroskopnost	3
2.3.3. Indeks refrakcije.....	3
2.3.4. Kristalizacija	3
2.3.5. Optička aktivnost	4
2.3.6. Električna vodljivost	4
2.4. Kemijski sastav meda.....	4
2.4.1. Ugljikohidrati	5
2.4.2. Voda.....	6
2.4.3. Proteini i aminokiseline	6
2.4.4. Organske kiseline	6
2.4.5. Vitamini i minerali	7
2.4.6. Fitokemikalije	7
2.4.7. Hidroksimetilfurfural	7
2.5. Patvorenje meda i metode detekcije patvorenja	8
2.6. Bliska infracrvena spektroskopija	10
2.6.1. Osnove karakteristike blisko infracrvene spektroskopije.....	10
2.6.2. Primjena blisko infracrvene spektroskopije u detekciji patvorenja hrane	10
2.6.3. Kemometrijske metode za analizu NIR spektara	12
2.6.3.1. Analiza glavnih komponenata (PCA)	13
2.6.3.2. Parcijalna regresija metodom najmanjih kvadrata (PLS).....	14
2.6.3.3. Umjetne neuronske mreže u analizi NIR spektra (ANN).....	14
3. EKSPERIMENTALNI DIO	16
3.1. Materijali	16
3.1.1. Uzorci meda	16
3.1.2. Komponente za patvorenje.....	16
3.2. Metode rada.....	16
3.2.1. Priprema uzoraka čistih medova i patvorina za analizu fizikalnih svojstava	16
3.2.2. Patvorenje meda.....	17

3.2.3. Određivanje udjela vode i suhe tvari (°Brix) u uzorcima izvornih medova te u pripremljenim patvorinama	18
3.2.4. Određivanje pH u uzorcima izvornih medova te u pripremljenim patvorinama	18
3.2.5. Određivanje vodljivosti i ukupnih otopljenih tvari u uzorcima izvornih medova te u pripremljenim patvorinama	18
3.2.6. Određivanje udjela pepela u uzorcima izvornih medova te u pripremljenim patvorinama	18
3.2.7. Određivanje boje uzoraka meda	18
3.2.8. NIR spektroskopija	19
3.2.9. Statistička analiza rezultata i matematičko modeliranje	20
3.2.9.1. Osnovna statistička analiza	20
3.2.9.2. Analiza glavnih komponenata NIR spektara.....	20
3.2.9.3. Parcijalna regresija metodom najmanjih kvadrata	21
3.2.9.4. Modeli neuronskih mreža za predviđanje udjela patvorine te fizikalno-kemijskih svojstava pripremljenih patvorina na temelju NIR spektara	21
4. REZULTATI I RASPRAVA	23
4.1. Fizikalno-kemijska svojstva izvornih medova	23
4.2. Fizikalno-kemijska svojstva patvorina s glukoznim i kukuruznim sirupom	25
4.3. Nir spektri medova i pripremljenih patvorina	40
4.4. Pls modeli za opis fizikalno-kemijskih svojstva medova i pripremljenih patvorina	45
4.5. Modeli neuronskih mreža za opis fizikalno-kemijskih svojstva medova i pripremljenih patvorina	48
5. ZAKLJUČCI.....	56
6. LITERATURA.....	57

1. UVOD

U današnje vrijeme prehrambeni proizvodi visoke vrijednosti kao što su med ili ekstra djevičansko maslinovo ulje sve više postaju mete patvorenja. Med je u praksi uglavnom ugrožen jeftinijim, komercijalno dostupnim šećernim sirupima sličnog sastava. Patvoreni medovi često su označeni kao prirodni i po cijeni su isti kao i čisti medovi, što je lažno i nepravedno prema potrošačima. Iako dodavanje šećernih sirupa ne predstavlja rizik za zdravlje, takvi postupci negativno utječu na rast tržišta i narušavaju povjerenje potrošača. Zbog sve veće potražnje potrošača i tržišta za boljom kvalitetom hrane, javila se potreba za brzim, jednostavnim i točnim analitičkim metodama za procjenu kvalitete i autentičnosti prehrambenih proizvoda. Kao jedna od takvih metoda pokazala se blisko infracrvena (NIR) spektroskopija. Prednosti NIR spektroskopije kao nedestruktivne metode je potreba za vrlo malom ili nikakvom prethodnom pripremom uzorka, nema potrebe za reagensima i time ne dolazi do stvaranja štetnog otpada. Zbog velike količine dobivenih podataka, te raznih preklapanja u podacima, rezultate je potrebno obraditi multivarijantnim metodama analize. NIR spektroskopija je osjetljiva na promjene u kemijskim i fizikalnim svojstvima uzorka koji se analizira, te se na taj način može koristiti za provjeru autentičnosti i podrijetla različitih proizvoda. Kako bi se na vrijeme uočile i spriječile manipulacije hranom i dovođenje u pitanje autentičnost pojedinih prehrambenih proizvoda, razne studije zaključuju kako bi bilo poželjno u budućnosti poticati razvoj brzih, jednostavnih i nedestruktivnih metoda i naglašavaju da bi se primjena NIR-a trebala još više istraživati kako bi razvili specifični modeli za detekciju patvorenja.

U okviru ovog rada provest će se analiza fizikalno-kemijskih svojstava 15 uzoraka izvornih medova te patvorina meda s različitim udjelima komponenata za patvorenje (glukozni i kukuruzni sirup) te razviti kemometrijski modeli za opis i predikciju udjela dodane patvorine i fizikalno-kemijskih svojstva meda na temelju NIR spektara.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. MED

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

2.2. VRSTE I PODJELE MEDA

Prema pravilniku med možemo podijeliti u dvije skupine prema podrijetlu i prema načinu proizvodnje i/ili prezentiranja. Na osnovu podrijetla dijelimo ga na: (i) cvjetni ili nektarni med koji je dobiven od nektara biljaka te na (ii) medljikovac ili medun, med dobiven uglavnom od izlučevina kukaca (*Hemiptera*) koji žive na živim dijelovima biljaka ili od sekreta živih dijelova biljaka.

Prema načinu proizvodnje i/ili prezentiranja med dijelimo na:

- med u saću - med kojeg skladište pčele u stanicama svježe izgrađenog saća bez legla ili u satnim osnovama izgrađenim isključivo od pčelinjeg voska, koji se prodaje u poklopljenom saću ili u sekcijama takvog saća
- med sa saćem ili med s dijelovima saća - med koji sadrži jedan ili više proizvoda iz pod točke 1. ove točke
- cijedeni med - med koji se dobiva ocjeđivanjem otklopljenog saća bez legla
- vrcani med - med dobiven vrcanjem (centrifugiranjem) otklopljenog saća bez legla
- prešani med - med dobiven prešanjem saća bez legla, sa ili bez korištenja umjerene temperature koja ne smije prijeći $T = 45\text{ }^{\circ}\text{C}$
- filtrirani med - med dobiven na način koji tijekom uklanjanja stranih anorganskih ili organskih tvari dovodi do značajnog uklanjanja peludi

Pekarski med je med koji se koristi u industriji ili kao sastojak hrane koja se potom prerađuje i može imati strani okus ili miris, ili biti u stanju vrenja ili prevrio, ili biti pregrijan (Pravilnik, 2015).

2.3. FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA

U fizikalna svojstva meda ubrajaju se viskoznost, higroskopnost, kristalizacija, električna vodljivost, optička svojstva, indeks refrakcije te specifična masa i usko su povezana sa kemijskim sastavom meda (Bogdanov i sur., 1999).

2.3.1. Viskoznost

Viskoznost je fizikalno svojstvo meda koje označava stupanj likvidnosti, odnosno tekućeg stanja. Med je viskozna tekućina, na čiju viskoznost utječu različiti čimbenici kao što su kemijski sastav meda, medonosno bilje od kojeg nektar potječe, temperatura te broj i veličina kristala u medu. Kad govorimo o utjecaju kemijskog sastava na viskoznost meda, povećanjem udjela vode dolazi do smanjenja viskoznosti. Temperatura isto tako utječe na viskoznost. Kako temperatura raste, tako se viskoznost meda smanjuje i obrnuto (Vahčić i Matković, 2009).

2.3.2. Higroskopnost

Higroskopnost je osobina meda da na sebe privlači ili otpušta vodu, u ovisnosti o relativnoj vlažnosti zraka i udjelu vode. Proces je uvjetovan velikom količinom šećera. Zbog velike viskoznosti meda gibanje apsorbirane vode s površinskih slojeva u unutrašnjost meda vrlo je sporo, tako da se promjene koje nastaju zbog higroskopnosti očituju uglavnom na površini (Vahčić i Matković, 2009).

2.3.3. Indeks refrakcije

Najčešća korištena metoda za određivanje udjela vode odnosno topljive suhe tvari je mjerenje indeksa refrakcije. Mjerenje se provodi refraktometrom, najčešće pri $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$, koji radi na principu loma svjetlosti pri prolasku kroz otopinu. Dobiveni rezultati se razlikuju ovisno o temperaturi mjerenja (Gallina i sur., 2010).

2.3.4. Kristalizacija

Kristalizacija meda ili granulacija je prirodni, spontani i složeni fizički proces. Med je prezasićena otopina glukoze, koja je manje topljiva od fruktoze. Glukoza gubi vodu i prelazi u kristalni oblik – glukoza monohidrat, a voda koja je prije bila vezana na glukozu, postaje slobodna tako da se

povećava sadržaj vode u nekristaliziranim dijelovima meda. Medovi bogati fruktozom, poput bagrema i kadulje duže ostaju u tekućem obliku. Iako med kristalizacijom ne gubi na svojoj vrijednosti, zbog odbojnosti potrošača prema kristaliziranom medu ona se nastoji izbjeći (Machado De-Melo i sur., 2017).

2.3.5. Optička aktivnost

Ugljikohidrati meda imaju sposobnost rotacije linearno polarizirane svjetlosti. Smjer i stupanj rotacije specifični su za svaki ugljikohidrat, ukupna optička rotacija meda ovisno o sadržaju različitih ugljikohidrata prisutnih u njemu. Fruktoza zakreće ravninu polarizirane svjetlosti ulijevo (pokazuje negativnu optičku aktivnost), a glukoza, svi disaharidi i viši oligosaharidi udesno (pokazuje pozitivnu optičku aktivnost). Razlike u specifičnoj rotaciji meda koje proizlaze iz različitih profila ugljikohidrata primarno se koriste za razlikovanje nektarnog meda od mediljkovca (Primorac i sur., 2011).

2.3.6. Električna vodljivost

Električna vodljivost odnosi se na sposobnost materijala da provodi električnu struju. To je izravno povezano s botaničkim porijeklom, kao i sa sadržajem minerala i anorganskih iona, i na neki način s organskim kiselinama, proteinima i drugim komponentama kao što su šećeri, poliol i peludna zrna, koji mogu djelovati kao elektroliti. Prema zakonskoj regulativi, kako hrvatskoj tako i europskoj, nektarni i miješani med moraju imati električnu vodljivost manju od $S = 0,8 \text{ mS cm}^{-1}$, a mediljkovac i med kestena veću od $S = 0,8 \text{ mS cm}^{-1}$ (Machado De-Melo, 2017). Budući da postoji linearan odnos između udjela pepela i električne vodljivosti, sve više se u rutinskoj kontroli kakvoće meda zbog jednostavnosti i brzine umjesto udjela pepela provodi mjerenje električne vodljivosti.

2.4. KEMIJSKI SASTAV MEDA

Med je namirnica koja sadrži oko 200 tvari, a sastoji se uglavnom od ugljikohidrata, vode i drugih tvari kao što su proteini (enzimi), vitamini, minerali, fenolni spojevi, hlapljivih sastojaka (da Silva i sur., 2016) (slika 1). Osnovnu karakteristiku medu daju šećeri, a ostale komponente koji se u medu nalaze u manjim količinama ($< 1 \%$) su uvelike odgovorne, kako za senzorska tako i za nutritivna svojstva meda (Singhal i sur., 1997).



Slika 1. Kemijski sastav meda (prema da Silva i sur., 2016)

2.4.1. Ugljikohidrati

Ugljikohidrati su glavni sastojak meda, od toga 75 % (w/w) predstavljaju monosaharidi, 10-15 % čine disaharidi, a ostatak čine male količine drugih šećera. Šećeri prisutni u medu odgovorni su za svojstva kao što su energetska vrijednost, viskoznost, higroskopsnost i granulacija (da Silva i sur., 2016). Najzastupljeniji šećeri u medu su fruktoza i glukoza koje čine prosječno 88-95 % ukupnih ugljikohidrata. Omjer fruktoze i glukoze (F/G) karakterističan je za pojedine vrste meda i u većini slučajeva je veći od 1,0 (Krell, 1996). Osim navedenih monosaharida u medu je identificirano 11 disaharida: saharoza, maltoza, izomaltoza, nigerioza, turanoza, kobioza, laminoriboza, α - i β -trehaloza, i gentiobioza maltuloza i izomaltuloza melibioza. Također je prisutno i 12 oligosaharida: erloza, melecitoza, α - i β - izomaltozilglukoza, maltotrioza, 1-kestoza, panoza, centoza, izopanoza i rafinoza te izomaltotetroza i izomaltopentoza (Sanz i sur., 2004).

2.4.2. Voda

Voda je drugi najzastupljeniji sastojak meda i njezin se udio kreće od 15 do 23 %. Pravilnik nalaže da med koji se stavlja na tržište ne smije imati više od 20 % vode, iznimka su pekarski med koji može sadržavati do 23 % i med od vrieska koji može sadržavati do 25 % vode (Pravilnik, 2015). Zbog higroskopnosti meda, količina vode u njemu nije stalna veličina, već se mijenja za vrijeme čuvanja u zavisnosti o vlažnosti zraka. Udio vode je najvažniji parametar kakvoće meda budući da određuje stabilnost meda i otpornost na mikrobiološko kvarenje tijekom čuvanja (Bogdanov i sur., 1999).

2.4.3. Proteini i aminokiseline

Udio proteina i aminokiselina u medu vrlo je mali i kreće se od 1-3 %. Proteini i aminokiseline u medu pripisuju se i životinjskim i biljnim izvorima, uključujući tekućinu i izlučevine nektara iz salivarnih žlijezda i ždrijela pčela, ali glavni izvor proteina je pelud. Najzastupljenija aminokiselina je prolin. Prolin uglavnom potječe iz izlučevina slina pčela (*Apis mellifera L.*) tijekom pretvorbe nektara u med. U medu, prolin predstavlja ukupno 50-85 % aminokiselina. Mali udio proteina prisutnih u medu čine enzimi kao što su invertaza, α - i β -glukozidaza, katalaza, kisela fosfataza, diastaza i glukoza oksidaza (da Silva i sur., 2016).

2.4.4. Organske kiseline

Svi medovi imaju malu kiselost, koja je rezultat 0,57 % organskih kiselina sadržanih u medu. Organske kiseline potječu od šećera djelovanjem enzima koje luče medonosne pčele pri pretvaranju nektara u med ili kada se dobivaju izravno iz nektara (da Silva i sur., 2016). Najzastupljenija je glukonska kiselina koja u medu nastaje iz glukoze djelovanjem enzima glukoza oksidaze (Karabagias i sur., 2014). Ostale zastupljene organske kiseline su : octena, maslačna, vinska, mravlja, jabučna, mliječna, limunska, benzojeva, jantarna i mnoge druge. Osim glukonske kiseline, u medu je prisutna i limunska kiselina, a koncentracija ove dvije tvari koristi se kao pouzdan parametar za razlikovanje nektarnog meda od mediljkovca (da Silva i sur., 2016)

2.4.5. Vitamini i minerali

Iako med sadrži vitamine, zbog malih količina ne smatra se značajnim izvorom za ljudski organizam. Nektar i pelud su glavni izvori vitamina u medu pa zastupljenost pojedinih vitamina ponajviše ovisi o botaničkom podrijetlu meda. Med sadrži nešto veću količinu vitamina B skupine (riboflavin, pantotenska kiselina, piridoksin, biotin, nikotinska kiselina), vitamine C i K (Balen, 2003). Komercijalna filtracija meda može uzrokovati smanjenje sadržaja vitamina zbog gotovo potpunog uklanjanja peludi. Drugi čimbenik koji uzrokuje gubitak vitamina u medu je oksidacija askorbinske kiseline vodikovim peroksidom koji proizvodi glukozu oksidazu (Ciulu i sur. 2011).

2.4.6. Fitokemikalije

Fitokemikalije su jako široki pojam koji se odnosi na veliki broj spojeva koji se prirodno javljaju u biljkama. Fitokemikalije su klasificirane u šest glavnih kategorija na temelju njihovih kemijskih struktura i karakteristika. Te kategorije uključuju ugljikohidrate, lipide, fenole, terpenoide i alkaloida te druge spojeve koji sadrže dušik (Huang i sur., 2016). Med je bogat polifenolima, među kojima su najzastupljeniji flavonoidi, tvari koje imaju antioksidativni učinak, djeluju antimikrobno, inhibiraju razne enzime, imaju citotoksični učinak te djeluju kao estrogeni. Flavonoidi koji se najčešće nalaze u medu su pinocembrin, apigenin, galangin, krisin, kamferol, kvercetin, pinobanksin, luteolin i hesperitin (Meda i sur., 2005; Alvarez-Suárez i sur., 2010).

2.4.7. Hidroksimetilfurfural

Hidroksimetilfurfural (HMF) je ciklički aldehid koji nastaje razgradnjom šećera kroz Maillardove reakcije tijekom obrade meda ili njegovog dugog skladištenja. Koncentracija HMF-a može se koristiti kao parametar koji ukazuje na svježinu meda jer je tipično odsutan (ili je prisutan u vrlo malim količinama u svježem medu), dok se njegova koncentracija povećava tijekom obrade i /ili zbog starenja (Shapla i sur., 2018). HMF može biti pokazatelj zagrijavanja i neprikladno skladištenog meda, a izrazito visoke koncentracije mogu biti pokazatelj krivotvorenja meda. Pravilnikom o medu određena je maksimalna količina hidroksimetilfurfurala od 40 mg/kg, odnosno 80mg/kg za medove s označenim podrijetlom iz regija tropske klime i mješavine takvih medova (Pravilnik, 2015).

2.5. PATVORENJE MEDA I METODE DETEKCIJE PATVORENJA

Prema međunarodnim standardima za med, med ne bi trebao sadržavati nikakve druge sastojke, osim meda, niti bi bilo koja komponenta smjela biti uklonjena iz njega (Kumaravelu i Gopal, 2015). Med je prehrambeni proizvod visoke vrijednosti i zbog tog sve više postaje meta patvorenja. Šećer i voda predstavljaju glavne komponente meda dok proteini, pigmenti, vitamini, slobodne aminokiseline i brojni hlapljivi spojevi čine manje komponente. S obzirom na njegov sastav med je u praksi ugrožen jeftinijim, komercijalno dostupnim šećernim sirupima sličnog sastava (Rios-Corripio i sur., 2012). Patvoreni medovi često su označeni kao prirodni i po cijeni su isti kao i čisti medovi, što je lažno i nepravedno prema potrošačima. Općenito, dodavanje šećernih sirupa ne predstavlja rizik za zdravlje, ali to negativno utječe na rast tržišta, narušavajući povjerenje potrošača (Bázár i sur., 2016).

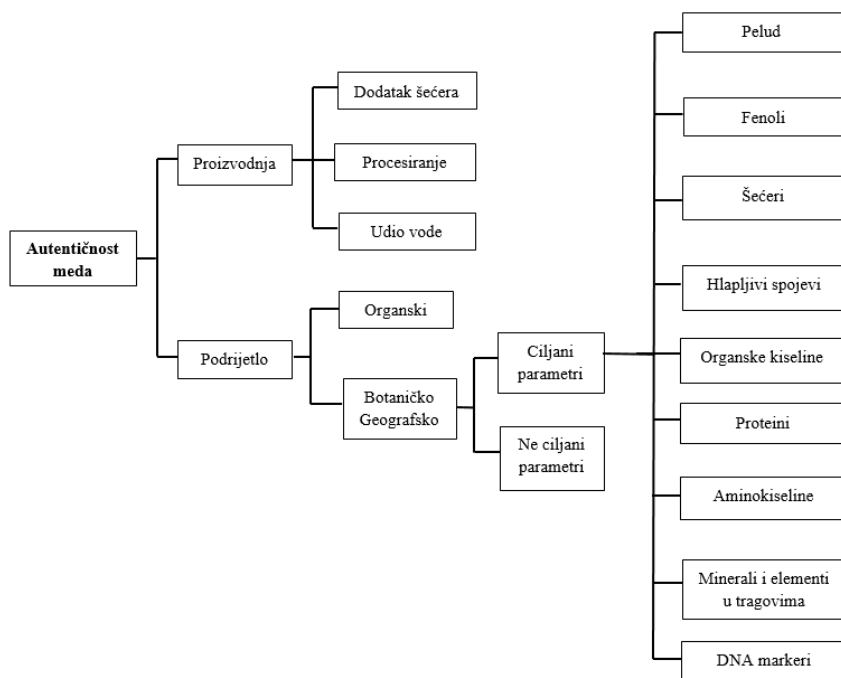
Na globalnoj razini za autentičnost meda ključna su dva faktora: proizvodnja i podrijetlo (slika 2). Glavni problemi proizvodnje su kontakt pčela s kontaminiranom vodom, zrakom i biljkama te neadekvatna pčelarska praksa, kao što su pregrijavanje, hranjenje pčela tijekom proizvodnje meda, a za koju su odgovorni pčelari (Soares i sur., 2017). Ovaj način patvorenja može se smatrati indirektnim načinom. Ovakvim pristupom negativno se utječe na sadržaj prolina, sadržaj šećera i sadržaj minerala u medu (Guler, 2007). Direktno patvorenje je kad direktno u med dodajemo jeftina sladila kao što su kukuruzni sirup, invertni šećerni sirup i visoko fruktozni kukuruzni sirup. U posljednje vrijeme za patvorenje se počeo koristiti rižin sirup. Patvorenje s tim sirupom vrlo je teško identificirati pomoću postojećih analitičkih metoda (Siddiqui, 2016).

Metode koje se koriste za detekciju direktnog i indirektnog patvorenje su :

- Plinska i tekućinska kromatografija – istovremeno se koriste za analizu šećera. Ove metoda se koristi kao zamjena za izotopsku analizu, koja ima neka ograničenja.
- Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti potpomognuta spektrometrijom masa kojom se određuje udio izotopa – novi postupak analize razvijen je za poboljšanje izotopnih metoda. Ima prednosti u odnosu na postojeće metode u smislu vremena analize, smanjene potrošnje reagensa i jednostavnosti postupka. To je prva razvijena izotopska metoda koja omogućuje detekciju dodavanja sirupa šećerne repe.

- Bliska infracrvena spektroskopija - brza, nedestruktivna i relativno jeftina metoda koja može biti prikladna za uporabu kao tehnika provjere u kontroli kvalitete meda. Može prepoznati dodanu komponentu za patvorenje pri minimalnim koncentracijama.
- Visokoučinkovita anionsko-izmjenjivačka kromatografija s impulsnom amperometrijskom detekcijom - jednostavna metoda koja se temelji na tretiranju aktivnim ugljenom za frakcioniranje ugljikohidrata meda praćena analizom frakcije oligosaharida. Metoda je razvijena za otkrivanje dodataka kukuruznih sirupa, visoko fruktoznih kukuruznih sirupa u izvornim uzorcima meda i komponenta za patvorenje kojima se hrane pčele. Brza, jednostavna i jeftina metoda (Mehryar i Esmaili, 2011).

Zbog sve veće pojave patvorenja medova javljaju se nove metode za detekciju patvorenih medova. Dramićanin i sur.(2018) predlažu fluorescentnu pobudnu emisijsku spektroskopiju kao novu, nedestruktivnu i brzu metodu za detekciju. Kvantificiranjem odgovora fluorescencije i podvrgavanjem ih statističkoj klasifikacijskoj tehnici, moguće je otkriti patvoreni med sa 100% točnosti.



Slika 2. Shematski prikaz glavnih problema vezanih uz autentičnost meda (prema Soares i sur. 2017)

2.6. BLISKA INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA

2.6.1. Osnove karakteristike blisko infracrvene spektroskopije

Blisko infracrvena - NIR (eng. *Near Infrared*) spektroskopija je tehnika analiziranja uzorka koja se temelji na apsorpciji elektromagnetskog zračenja valne duljine u rasponu $\lambda = 800 - 2500$ nm, odnosno od $12,500$ do 4000 cm^{-1} (Ozaki i sur., 2017). Glavna prednost NIR spektroskopije je što ne zahtjeva (pred)pripremu uzorka i sama analiza je vrlo brza i jednostavna (Nicolai i sur., 2007). Primjenom ove tehnike mogu se istražiti overtoni, kombinacijski modusi, anharmoničnost i vibracijski potencijali. NIR spektroskopija je jedinstveni alat za proučavanje vodikovih veza, inter- i intramolekularnih interakcija, hidracije i također daje informacije o d-d prijelazima i CT prijelazima. NIR spektroskopija pogodna je za nerazornu i *in situ* analizu (Ozaki i sur. 2017) to nam može koristiti ukoliko je potrebno provesti snimanje u realnom vremenu uz smanjenu mogućnost kontaminacije odnosno uništavanja uzorka (Findlay i Bugay, 1998). Moguće je izvršiti i nedestruktivnu analizu pomoću IR spektroskopije, ali ako se koristi atenuirana totalna refleksija ili fotoakustička spektroskopija, nema drugog izbora osim NIR spektroskopije ako se želi mjeriti na nedestruktivan način. NIR spektroskopija omogućuje beskontaktnu analizu i analizu pomoću sonde optičkih svjetlosnih vlakana, zbog čega se može koristiti u opasnoj okolini i daljinski manipulirati sondom. To je jedan od razloga zašto je NIR spektroskopija prikladna za on-line analizu (Ozaki i sur., 2017). NIR spektroskopija se uspješno primjenjuje za kvalitativnu i kvantitativnu analizu. NIR-spektri odlikuju se velikim omjerom signala i šuma, a položaj i intenzitet vrpce može se vrlo točno odrediti što je vrlo bitno u kvantitativnoj analizi. Vrpce u NIR-spektrima manje su informativne, a u mnogim slučajevima može doći i do njihova preklapanja. Stoga je dobivene podatke potrebno obraditi multivarijantnim metodama analize (Jednačak i Novak, 2013).

2.6.2. Primjena blisko infracrvene spektroskopije u detekciji patvorenja hrane

Autentičnost hrane i poljoprivrednih proizvoda od primarne je važnosti kako bi se zadržali zahtjevi potrošača i kako bi se izbjegla nepoštena konkurencija na tržištu (Downey, 2013). Autentičnost hrane je dobro utemeljeno područje istraživanja koje uključuje upotrebu različitih analitičkih metoda kao što su plinska kromatografija (GC), masena spektrometrija (MS), nuklearna magnetska rezonanca (NMR), DNA otisak prsta (fingerprinting) i vibracijska spektroskopija (NIR) (Downey,

2013). Iako metode poput GC, MS mogu točno detektirati dodatak patvorine medu, one imaju brojne nedostatke kao metode za detekciju patvorina. Zahtijevaju visokokvalificiranu radnu snagu, dugotrajnu i opsežnu instrumentalna analiza te visoki stupanj čistoće pripreme uzoraka. Prema tome, postoji očita potreba za razvojem jednostavnih, brzih, nedestruktivnih i jeftinih analitičkih metoda za otkrivanje i kvantificiranje patvorina u medu. NIR spektroskopija je brza, vrlo precizna, multi-analitička metoda koja se temelji na elektromagnetskoj apsorpciji organskih spojeva u kratkom valnom području infracrvenog spektra. Primjenjuje se za kvalitativne ili kvantitativne analize višestrukih komponenti uzorka jednim mjerenjem. Također, nisu joj potrebni reagensi i ne stvara se opasan otpad (Bazar i sur. 2016).

Zbog sve većeg problema s patvorenjem hrane, NIR kao jednostavna, nedestruktivna metoda sve veću primjenu ima u kemijskoj i prehrambenoj industriji. Basri i sur. (2017) u svojoj studiji koristili su MicroNIR (uređaj veličine dlana) za pronalaženje svinjske masti kao komponente za patvorenje u palminom ulju. Rezultati su bili konzistentni sa srednjom kvadratnom pogreškom manjom od 1, što je pokazalo da uređaj ima dobru ponovljivost.

Vanstone i sur. (2018) u svom istraživanju koristili su ekstra djevičansko maslinovo ulje koje su patvorili s raznim biljnim uljima, a za metodu detekcije patvorenje koristili su NIR i njemu srodne metode. „Lažni“ proizvođači uglavnom koriste kukuruzno ulje, suncokretovo ulje i soja ulja, jer su ona najdostupnija i najekonomičnija. Mogu se koristiti ulja poput palminog, ali takvu vrstu patvorine je puno lakše detektirati. Pokazali su da NIR može razlikovati vrste jestivog ulja koje su korištene za patvorenje te otkriti patvorenje u bilo kojem uzorku s niskom granicom detekcije.

Mendes i sur. (2015) opisali su korištenje triju različitih metoda za dokazivanje patvorenja ekstra djevičanskog maslinovog ulja sa sojinim uljem. Ovaj rad pokazao je da NIR u kombinaciji s određenim kemometrijskim metoda može biti koristan u industriji i nadzornim tijelima kao alternativna tehnika za utvrđivanje mogućih prijevara u prehrambenim proizvodima, jer je jednostavan za primjenu i ne zahtijeva specifična kemijska znanja za izvođenje mjerenja.

Radman i sur. (2018) primijenili su NIR spektroskopiju za otkrivanje glutena kao kontaminanta u hrani. Određivanje glutena u hrani je vrlo bitno zbog osoba koje su intolerantne i alergične na njega. U simulaciji unakrsne kontaminacije korištena su dva tipa pšeničnog brašna. Dodani su u rižu, rižino brašno, kukuruzno brašno i kukuruzni griz u rasponu od 5 % do 30 %. Zbog jako

zadovoljavajućih rezultata studije razvijeni modeli mogli bi se u budućnosti koristiti za predviđanje moguće unakrsne kontaminacije s glutenom.

Mabood i sur. (2016) u svojoj studiji pokušali su detektirati patvorenje devinog mlijeka s kozjim mlijekom uz pomoć NIR-a. Devino mlijeko je u pustinjским zemljama od velike važnosti jer sadrži veliki udio vitamina C, čak do šest puta više nego kravljе mlijeko, te patvorenje takvog mlijeka može dovesti u pitanje zdravlje ljudi. Po njima novorazvijena NIR spektroskopska metoda u kombinaciji s multivarijatnom analizom je prikladna metoda za provjeru otkrivanja i kvantifikacije patvorenja u devinom mlijeku.

Iz navedenih studija može se zaključiti da je NIR jednostavna metoda u kojoj nema potrebe za dugotrajnu pripremu uzorka i koja ima odličnu osjetljivost i ponovljivost. Kako bi se na vrijeme uočile i spriječile manipulacije hranom i dovođenje u pitanje autentičnost pojedinih prehrambenih proizvoda, sve spomenute studije zaključuju kako bi bilo poželjno u budućnosti poticati razvoj brzih, jednostavnih i nedestruktivnih metoda. Naglašavaju da bi se NIR kao jedna od takvih metoda trebala još više istraživati kako bi došlo do razvoja što specifičnijih modela otkrivanja patvorenja uz pomoć NIR-a, kao i razvoj metoda za prijenosne spektrometre, koji bi uvelike pomogli i olakšali detekciju patvorenja u svim vrstama prehrambenih proizvoda.

2.6.3. Kemometrijske metode za analizu NIR spektara

Kemometrija se definira kao kemijska disciplina koja koristi matematičke i statističke metode da oblikuje ili odabire optimalan mjeriteljski postupak ili eksperiment i omogući dobivanje maksimalnog broja informacija analizom dobivenih podataka. Rezultati spektroskopskih mjerenja kod složenih sustava kao što je hrana često puta nisu jasni. Kvalitativna i kvantitativna analiza u tako složenim sustavima može biti problematična, dugotrajna i komplicirana zbog preklapanja spektralnih odgovora, a rješenja prije same pojave kemometrije su bila prethodna separacija sastojaka ili povećanje razlučivosti spektra. Pojavom kemometrijskih tehnika olakšan je i ubrzan put kvantitativne i kvalitativne analize. Spektroskopske tehnike u kombinaciji sa kemometrijskim metodama koriste se za praćenje procesa i u upravljanju kontrolom kvalitete (Matijević i Blažić, 2008). Statističke metode koje se koriste u analizi podataka istraživanja su: analiza glavnih komponenata (eng. *Principal Components Analysis*, PCA), kanonička korelacijska analiza (eng. *Canonical Correlation Analysis*, CCA), faktorska diskriminativna analiza (eng. *Factorial*

Discriminant Analysis, FDA), regresija glavnih komponentata (eng. *Principal Component Regression*, PCR), analiza zajedničkih komponentata i određene težine (eng. *Common Components and Specific Weight Analysis*, CCSWA), metoda parcijalnih najmanjih kvadrata (eng. *Partial Least Squares*, PLS) i metoda umjetnih neuronskih mreža (eng. *Artificial Neural Networks*, ANN) (Karoui i sur., 2003).

2.6.3.1. Analiza glavnih komponentata (PCA)

Analiza glavnih komponentata (PCA) je vjerojatno najraširenija multivarijatna statistička metoda koja se koristi u kemometriji, a zbog važnosti multivarijantnih mjerenja u kemiji mnogi je smatraju tehnikom koja je najznačajnije promijenila pogled na analizu podataka (Brereton, 2007). Analiza glavnih komponentata omogućava kvalitativnu analizu i grupiranje podataka bez postavljenog fizičkog modela. Koristi se i za brzu procjenu strukture podataka prije detaljne analize ili kvantifikacije fizičkog ili kemijskog procesa (Jednačak i Novak, 2013). PCA obrađuje serije podataka koji predstavljaju neke uzorke opisane s nekoliko zavisnih varijabli, koje su u većini slučajeva međusobno korelirane. Ova metoda temelji se na određivanju korelacija između pojedinih varijabli pri čemu grupira uzorke u glavne komponente i opisuje odnos između pojedinih varijabli te omogućuje vizualizaciju njihovog odnosa, tj. da li su one slične ili različite. Slični jedan drugome grupirat će se zajedno, dok će oni različiti biti udaljeniji (Abdi i Williams, 2010). Vizualizacija podataka se često izvodi pomoću tzv. faktorskih komponentata (eng. *score plots*). Vrijednosti faktorskih komponentata za spektre koji se razlikuju su odvojeni, dok se vrijednosti faktorskih komponentata za slične spektre nalaze vrlo blizu što omogućava i njihovo grupiranje (Jednačak i Novak, 2013).

Ciljevi PCA su:

1. Izvlačenje najvažnijih informacija iz serije podataka
2. Redukcija dimenzionalnosti podataka - uvođenjem glavnih komponenti (eng. *principal components*, PC) smanjuje se dimenzionalnost prostora, što pojednostavljuje interpretaciju podataka. Prva glavna komponenta (PC1) opisuje najveću varijaciju u podacima, dok preostalu varijaciju opisuju ostale glavne komponente (PC2, PC3,...) (Jednačak i Novak, 2013).

2.6.3.2. *Parcijalna regresija metodom najmanjih kvadrata (PLS)*

Parcijalna regresija metodom najmanjih kvadrata (eng. Partial Least Squares, PLS) je multivarijatna tehnika koja se koristi za razvoj modela latentnih varijabli ili čimbenika (Djuris i sur., 2013). Podaci se metodom PLS opisuju pomoću modela u kojemu broj varijabli treba biti što manji. Za razliku od PCA gdje su glavne komponente određene samo varijancom mjerenih varijabli i neovisne su o njihovom slaganju s traženim svojstvom, u PLS-u latentne varijable se odabiru tako da se dobije najbolje slaganje proučavanog svojstva i mjerene varijable. PLS se može smatrati regresijskim oblikom PCA koji linearnim multivarijantnim modelom povezuje podatke smještene u dvije matrice, X i Y. (Jednaček i Novak, 2013). X i Y blokovi (skupovi podataka) su modelirani kako bi se pronašle varijable u X matrici koje će najbolje opisati Y matricu. Informacije u izvornim X podacima projiciraju na mali broj temeljnih ("latentnih") varijabli kako bi se osiguralo da su prve komponente one koje su najrelevantnije za predviđanje Y varijabli. Svrha analize PLS je opisati odnos između objekata u x-prostoru i njihovog položaja u odgovarajućem y-prostoru uz minimalna odstupanja. (Héberger, 2008,; Jednaček i Novak, 2013).

2.6.3.3. *Umjetne neuronske mreže u analizi NIR spektra (ANN)*

Umjetne neuronske mreže u širem je smislu riječi umjetna replika ljudskog mozga kojom se nastoji simulirati postupak učenja, te uloga i funkcija samog mozga. Umjetne neuronske mreže sastoje se od skupina međusobno povezanih elemenata koji se nazivaju neuroni. Neuroni su organizirani u slojevima koji čine tzv. mrežnu "arhitekturu". Prvi sloj se naziva „ulazni sloj“, a svaki od njegovih neurona prima informacije izvana (općenito nezavisne varijable se koriste kao ulazi). Zadnji sloj je „izlazni sloj“ koji sadrži čvorove s odgovorom ili odgovorima - ovisno o tome je li jedan ili više parametara kvantificiran. Slojevi neurona između ulaznih i izlaznih slojeva nazivaju se „skriveni slojevi“. Ulazni i izlazni podaci (X i Y matrice) koriste se za osposobljavanje mreža, npr. mijenjaju težine za svaku vezu; zbroj svih ulaza za pojedini neuron prenosi informaciju pomoću odgovarajuće prijenosne funkcije (npr. sigmoidalna funkcija, tanges hiperbolni...) i prosljeđuje rezultate naprijed (Héberger, 2008). Višeslojne perceptronske neuronske mreže izgrađene su od perceptron neurona organiziranih u serijski povezane slojeve. Slojevi se najčešće opisuju brojevima od 0 do N, pri čemu nulti sloj samo prosljeđuje vektor ulaznih veličina u mrežu, dok je N-ti sloj ujedno i izlazni sloj mreže. Slojevi između nultog i N-tog nazivaju se unutarnjim

ili skrivenim slojevima. Višeslojni perceptroni imaju sposobnost učenja i algoritmom „povratnog prostiranja izlazne pogreške“ (eng. *Back Propagation Algorithm*). Sposobnosti ovog algoritma su: inicijaliziranje težine mreže, prikazivanje prvog ulaznog vektora, propagiranje ulaznog vektora kroz mrežu da bi se dobio izlaz, izračunavanje signala pogreške uspoređujući stvarni izlaz s željenim (ciljnim) izlazom, propagiranje signala pogreške kroz mrežu, prilagođavanje težine kako bi se smanjila ukupna pogreška, ponavljanje svih koraka sa sljedećim ulaznim vektorom, dok ukupna pogreška nije zadovoljavajuće mala. Višeslojni perceptroni primjenjuju se na širok raspon zadataka, koji se mogu kategorizirati kao predviđanje, aproksimacija funkcija ili klasifikacija uzoraka. Predviđanje uključuje predviđanje budućih trendova u vremenskoj seriji podataka s obzirom na trenutne i prethodne uvjete. Aproksimacija funkcija se bavi modeliranjem odnosa između varijabli. Klasifikacija uzorka uključuje klasificiranje podataka u diskretne razrede. Sve ove aplikacije su usko povezane i mogu se tretirati kao modifikacije sljedećeg generičkog modela (Gardner i Dorling, 1998).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Uzorci meda

U ovom radu ispitivano je 15 uzoraka bagremovog med s područja Hrvatskog Zagorja doniranih od strane članova Pčelarske udruge Krapina (slika 3). Svi uzorci su iz 2018. godine. Uzorci su do analiza čuvani u staklenim bočicama na tamnom mjestu pri sobnoj temperaturi.



Slika 3. Vlastita fotografija uzoraka meda

3.1.2. Komponente za patvorenje

Za pripremu patvorina meda korišten je glukozni sirup (Food Colours, Pitrkow Trybunalski, Poljska) koji sadrži 83 % suhe tvari te kukuruzni sirup (Country Life, Nenačovice, Češka) koji sadrži 79 % suhe tvari.

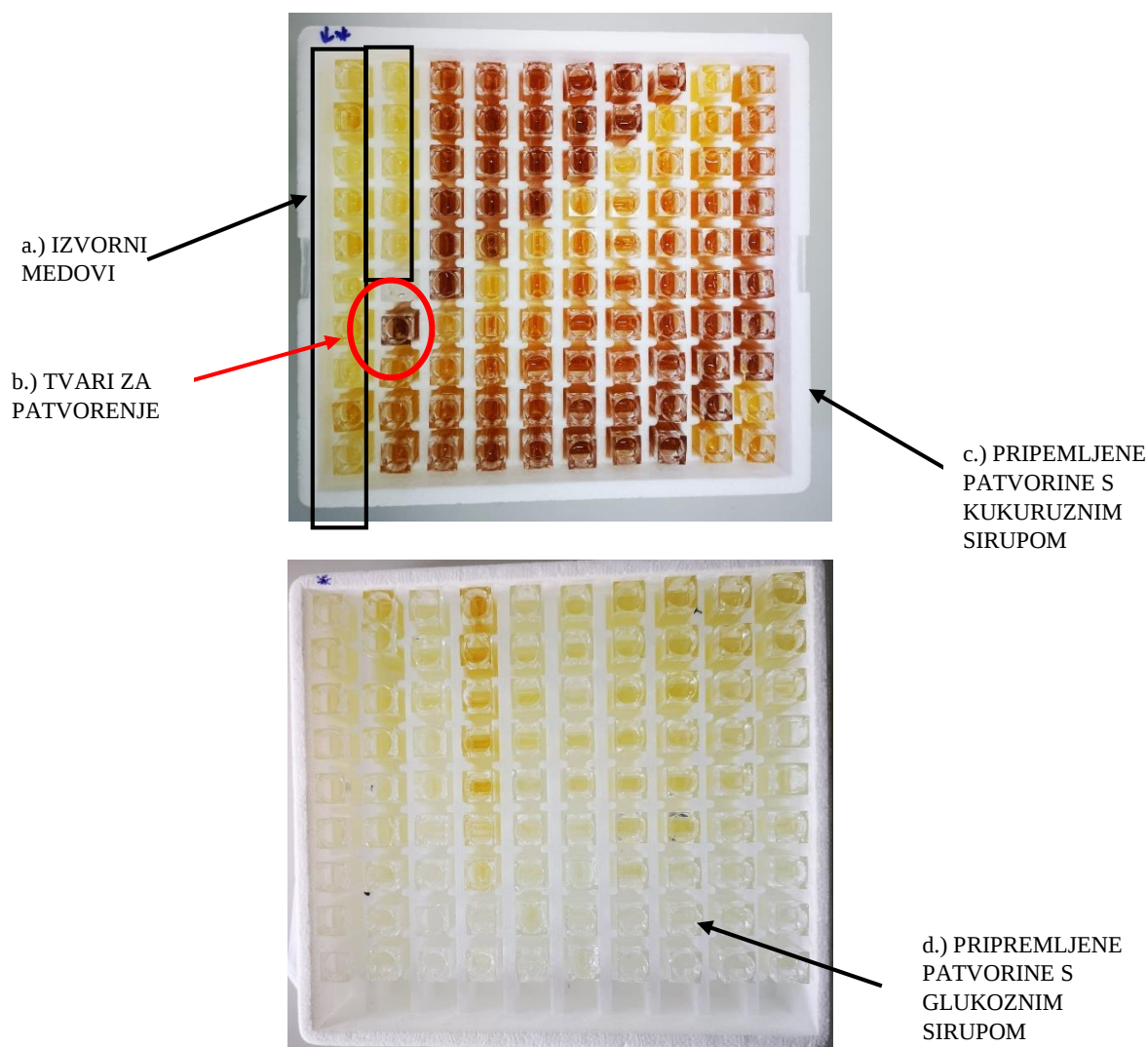
3.2. METODE RADA

3.2.1. Priprema uzoraka čistih medova i patvorina za analizu fizikalnih svojstava

Uzorci čistih medova i patvorine medova za analizu fizikalnih svojstava pripremaju se otapanjem $m = 2$ g uzorka u $V = 8$ mL destilirane vode pri sobnoj temperaturi.

3.2.2. Patvorenje meda

Patvorine meda pripremljene su miješanjem uzoraka meda s odabranom patvorinom (glukozni sirup i kukuruzni sirup) u masenim udjelima od 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 i 100 % (0 % čisti uzorak meda, a 100 % čista komponenta za patvorenje) (slika 4). Nakon dodatka komponente za patvorenje, uzorci su čuvani na temperaturi od $T = 35\text{ }^{\circ}\text{C}$ tijekom $t = 24\text{ h}$ te su povremeno ručno miješani kako bi se osigurala homogenost prije analiza.



Slika 4. Vlastita fotografija uzoraka (a) izvornih medova, (b) tvari za patvorenje, (c) pripremljenih patvorina s kukuruznim sirupom i (d) pripremljenih patvorina s glukoznim sirupom

3.2.3. Određivanje udjela vode i suhe tvari (°Brix) u uzorcima izvornih medova te u pripremljenim patvorinama

Određivanje sadržaja vode u medu obavlja se refraktrometrijski (ATC, Eustisa, SAD). Refraktometar radi na principu loma zraka svjetlosti koja prolazi kroz otopinu. Nekoliko kapi uzorka meda (izvornih medova i pripremljenih patvorina) nakapa se na predviđeno mjesto na refraktometru te se očita udio vode s jedne skale, a s druge se očitaju stupnjevi Brixa (dio suhe tvari).

3.2.4. Određivanje pH u uzorcima izvornih medova te u pripremljenim patvorinama

pH vrijednosti pripremljenih vodenih otopina izvornih medova i pripremljenih patvorina izmjerene su pH metrom (Jenco 601A, SAD) u dvije paralele.

3.2.5. Određivanje vodljivosti i ukupnih otopljenih tvari u uzorcima izvornih medova te u pripremljenim patvorinama

Vodljivosti i ukupne otopljene suhe tvari pripremljenih vodenih otopina izvornih medova i pripremljenih patvorina izmjerene su konduktometrom (SevenCompact, MettlerToledo, Švicarska) u dvije paralele.

3.2.6. Određivanje udjela pepela u uzorcima izvornih medova te u pripremljenim patvorinama

Sadržaj pepela se određuje pomoću rezultata električne vodljivosti. Električna vodljivost je fizikalno svojstvo koje uvelike ovisi o udjelu mineralnih tvari i kiselina u medu (Bogdanov i sur.,1999). Udio pepela izračunava se prema formuli (jednadžba 1):

$$\%pepela = \frac{vodljivost \cdot 0,14}{1,74} \quad [1]$$

3.2.7. Određivanje boje uzoraka meda

Boja svih uzoraka izvornih medova te pripremljenih patvorina određena je kolorimetrom PCE-CSM3 (PCE Instruments, Njemačka). Primjenom Hunterovih koordinata za boje određuje se L^* što predstavlja svjetlost, a^* što predstavlja raspon od zelene do crvene boje, te b^* što predstavlja

raspon od plave do žute boje. Vrijednosti koordinata a^* i b^* koriste se za izračunavanje Hue kuta te kroma vrijednosti.

Hue kut računa se prema izrazu (jednadžba 2):

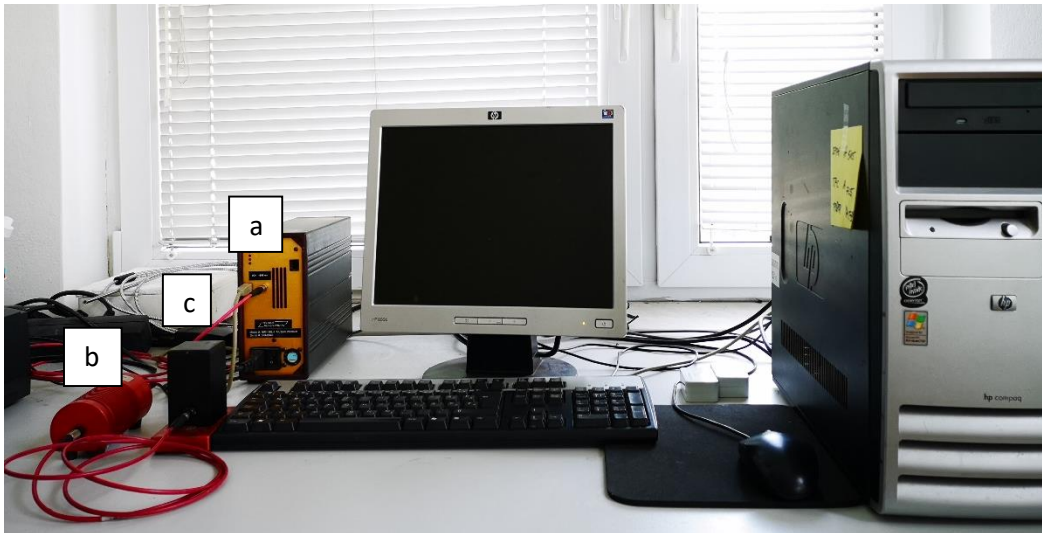
$$H = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad [2]$$

Kroma vrijednosti računa se prema izrazu (jednadžba 3):

$$C = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})} \quad [3]$$

3.2.8. NIR spektroskopija

Kontinuirani NIR spektri izvornih medova te pripremljenih patvorina snimani su rasponu valnih duljina $\lambda = 904 - 1699$ nm primjenom NIR spektrometara (NIR-128-1.7-USB/6.25/50 μm Control Development inc., SAD) povezanog s računalom (slika 4). Promjena apsorbancije pri valnim duljinama od $\lambda = 904 - 1699$ nm analizira se primjenom programskog paketa Control Development Spec 32 (Control Development inc., SAD).



Slika 5. Vlastita fotografija NIR instrumenta spojenog na računalu sa instaliranim programom SPEC-32 (a), izvor zračenja (b) i kućište s kivetom (c)

3.2.9. Statistička analiza rezultata i matematičko modeliranje

3.2.9.1. Osnovna statistička analiza

Sva mjerenja fizikalno-kemijskih svojstava uzoraka u ovome radu provedena su u dvije paralele te je za njih provedena osnovna statistička analiza (srednja vrijednost, standardna devijacija, standardna pogreška) u programskom paketu Statistica 13.0 (Dell Inc., SAD). Međusobni odnosi ili povezanosti između fizikalnih svojstava izvornih medova te pripremljenih patvorina analizirani su na temelju korelacijske matrice u programskom paketu Statistica 13.0 (Dell Inc., SAD).

3.2.9.2. Analiza glavnih komponenata NIR spektara

Prikupljeni NIR spektri izvornih medova te pripremljenih patvorina analizirani su metodom glavnih komponenata (eng. *Principle Component Analysis*, PCA) u programskom paketu Statistica 13.0 (Dell Inc., SAD). Metoda glavnih komponenata je najjednostavnija metoda multivarijante statistike koju možemo definirati kao alat za pronalaženje sličnosti i različitosti između podataka. Cilj PCA je konstrukcija novog koordinatnog sustava s manjim brojem dimenzija od izvornog koji naglašava glavne uzroke varijacija podataka.

PCA se primjenjuje za:

- redukciju dimenzionalnosti podataka (reducira broj izvornih varijabli na mali broj indeksa koji su linearna kombinacija izvornih varijabli i zovu se glavne komponente analizira korelacije unutar jednog skupa varijabli i pojedinačne redukcije dimenzionalnog prostora, kako bi se što veći broj varijabli objasnio pomoću što manjeg broja varijabli)
- interpretaciju podataka (glavne komponente objašnjavaju varijabilnost podataka na najkoncizniji način, na taj način pokazuje skrivene povezanosti i međuodnose podataka. Podaci se prikazuju na način koji nije uobičajen, ali sadrži mnogo bitnih informacija o skupu izvornih podataka)

Ako su $X_1, X_2, \dots, X_p$ svojstva varijabli mjerenih na n objekata (sva mjerenja se prikazuju $n \times p$ matricom) tada primjenom PCA analize treba naći $Y_1, Y_2, \dots, Y_p$ tako da su nekorelirani i da vrijedi $\text{Var}(Y_1) \geq \text{Var}(Y_2) \geq \dots \geq \text{Var}(Y_p)$ gdje su Y_i glavne komponente.

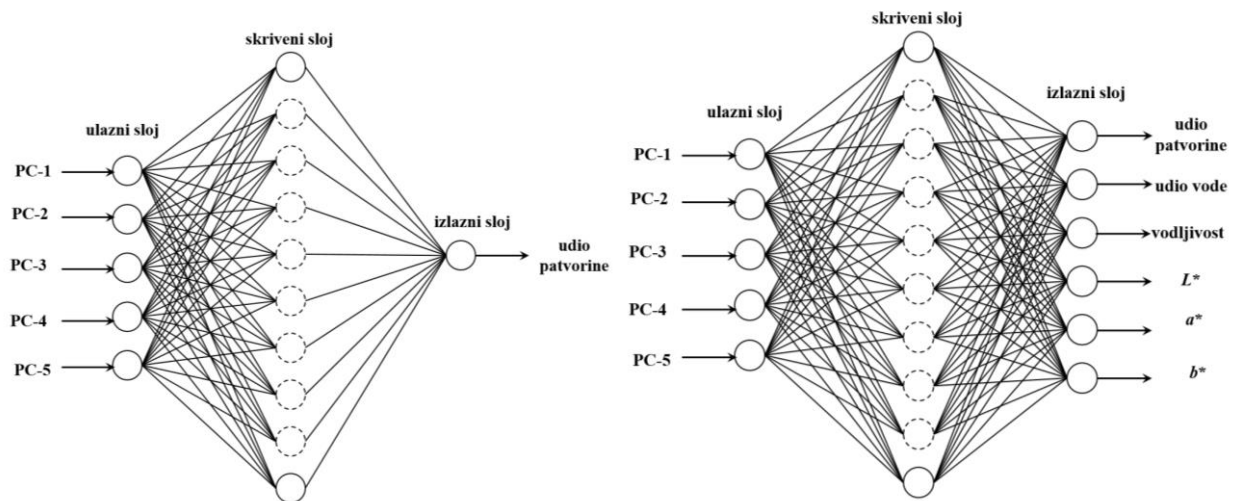
3.2.9.3. *Parcijalna regresija metodom najmanjih kvadrata*

Parcijalna regresija metodom najmanjih kvadrata (eng. *Partial Least Squares*, PLS) primijenjena je na NIR spektrima bez prethodnog procesiranja korištenjem programskog paketa Unscrambler X 10.4 (CAMO Software AS, Norveška) u svrhu dobivanja modela koji bi omogućio predikciju udjela dodane patvorine na temelju NIR spektara uzoraka meda. Za razvoj i validaciju modela korištene su valne duljine NIR spektara u rasponu od $\lambda = 904 - 1699$ nm. Reprezentativnost korištenih modela ocjenjena je koeficijentom determinacije (R^2). Što je koeficijent bliži jedinici, model je reprezentativniji i odnos među promatranim varijablama se procjenjuje prema Chadockovoj ljestvici.

3.2.9.4. *Modeli neuronskih mreža za predviđanje udjela patvorine te fizikalno-kemijskih svojstava pripremljenih patvorina na temelju NIR spektara*

U svrhu predikcije udjela dodanih patvorina u uzorcima meda razvijene su višeslojne perceptronske neuronske mreže (eng. *multiple layer perceptron*, MLP) u programskom paketu Statistica 13.0 (Dell Inc., SAD). Višeslojne perceptronske neuronske mreže izgrađene su od perceptron neurona organiziranih u serijski povezan slojeve. Slojevi se najčešće opisuju brojevima od 0 do N , pri čemu nulti sloj samo prosljeđuje vektor ulaznih veličina u mrežu, dok je N -ti sloj ujedno i izlazni sloj mreže. Slojevi između nultog i N -tog nazivaju se unutarnjim ili skrivenim slojevima.

U ovom radu kao ulazne veličine za razvoj neuronskih mreža odabrane su koordinate prvih pet faktora iz PCA analize, dok su izlazne veličine bile (i) udio dodane patvorine te (ii) udio dodane patvorine, dio vode, vodljivost, koordinate boje (L^* , a^* , b^*) (slika 6). Eksperimentalni podaci su podijeljeni u omjeru 70:15:15 za učenje, testiranje i validaciju predloženog modela. Kao algoritam učenja upotrijebljen je algoritam povratnog prostiranja izlazne pogreške (eng. *Back - Propagation Algorithm*) implementiran u korištenom programskom paketu Statistica 13.0 (Dell Inc., SAD). Odabir optimalne neuronske mreže proveden je na temelju srednjeg kvadratnog odstupanja (RMSE) i linearnog korelacijskog koeficijenta (R^2) određenih između eksperimentom izmjerenih vrijednosti te modelom predviđenih vrijednosti.



Slika 6. Arhitektura neuronskih mreža za opis (a) udjela dodane patvorine, (b) udjela dodane patvorine, udjela vode, vodljivost te koordinate boje uzorka meda na temelju koordinata prvih pet faktora analize osnovnih komponenata NIR spektara

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. FIZIKALNO-KEMIJSKA SVOJSTVA IZVORNIH MEDOVA

U okviru ovoga rada provedena je analiza fizikalno-kemijskih svojstava (udio vode, električna vodljivost, ukupne otopljene tvari, pH, boja i udio pepela) uzoraka meda bagrema s područja Hrvatskog zagorja (tablica 1). Poznato je da su fizikalno-kemijski parametri meda, kao što su pH, udio vode, sastav šećera, boja, kiselost i električna provodljivost, strogo definirani i predstavljaju pokazatelje kvalitete koji karakteriziraju svaku pojedinu sortu meda (Boussaid i sur., 2014).

Prema pravilniku o medu udio vode ne smije biti viši od 20 % i na temelju rezultata osnovne statističke analize (tablica 2) može su uočiti da je za analizirane uzroke izmjeren udio vode u rasponu od 15,5 % (za uzorak 2) do 18 % (za uzorak 10) te udio šećera u rasponu od 79 °Brix (za uzorak 10) do 83 °Brix (za uzorak 2) što je u skladu s pravilnikom (Pravilnik, 2015).

Može se također uočiti da je za analizirane uzorke izmjerena vodljivost u rasponu od $S = 150 \mu\text{S cm}^{-1}$ do $S = 190 \mu\text{S cm}^{-1}$ što je u skladu su pravilnikom o medu koji nalaže da vodljivost mora biti manja od $S = 800 \mu\text{S cm}^{-1}$ (Pravilnik, 2015). Jedino se uzorak 11 ističe svojom niskom vrijednošću vodljivosti ($S = 135,2 \mu\text{S cm}^{-1}$) i ukupnih otopljenih tvari. Električna vodljivost meda usko je povezana s koncentracijom mineralnih soli, organskih kiselina i proteina. Ovaj parametar uvelike varira prema cvjetnom podrijetlu te se smatra jednim od najboljih parametara za klasificiranje meda s obzirom na njegovo cvjetno podrijetlo (Bettar i sur., 2015). Prema Etzold i Lichtenberg-Kraag (2008) električna vodljivosti u kombinaciji s infracrvena (FT-IR) spektrometrija primjenjuje se za detektiranje razlika između mediljkovca i cvjetnog meda pomiješanog s mediljkovcem. Najveća vrijednost vodljivosti izmjerena je za uzorak 7 ($S = 19,8 \mu\text{S cm}^{-1}$), a sukladno tome i najveći postotak pepela za navedeni uzroka. Također pH vrijednosti analiziranih uzroka izvornih medova bile su u rasponu od $\text{pH} = 4,23$ do $\text{pH} = 4,53$.

Prema González-Miret i sur. (2013) uzorci meda koji imaju L^* vrijednost > 50 su svijetli medovi, dok uzorci koji imaju L^* vrijednost < 50 su tamni medovi. Analizom rezultata mjerenja boje izvornih medova (tablica 1 i tablica 2) možemo uočiti da je za analizirane medove izmjerena vrijednost L^* koordinate boje u rasponu od 50,040 do 55,780. Prema tome analizirani medovi spadaju u svijetle medove što je i karakteristično za med bagrema.

Analiza odnosa između fizikalno-kemijskih svojstava medova provedena je primjenom korelacijske matrice (tablica 3).

Uočena je signifikantna negativna korelacije između udjela vode i udjela šećera prema °Brix ($p = -0,921$), između L^* koordinate boje i a^* koordinate boje ($p = -0,595$), između a^* koordinate boje i Hue vrijednosti ($p = -0,976$), između b^* koordinate boje i Hue vrijednosti ($p = -0,682$) i između Hue vrijednosti i Chroma vrijednosti ($p = -0,688$). S druge pak strane signifikantna pozitivna korelacija uočena je između vodljivosti i ukupnih otopljenih tvari ($p = 0,724$), između vodljivosti i b^* koordinate boje ($p = 0,533$), između vodljivosti i Chroma vrijednosti ($p = 0,532$), između ukupnih otopljenih tvari i pepela ($p = 0,724$), između ukupnih otopljenih tvari i a^* koordinate boje ($p = 0,551$), između ukupnih otopljenih tvari i b^* koordinate boje ($p = 0,793$), između ukupnih otopljenih tvari i Chroma vrijednosti ($p = 0,738$), između udjela pepela i b^* koordinate boje ($p = 0,533$), između udjela pepela i Chroma vrijednosti ($p = 0,532$), između L^* koordinate boje i Hue vrijednosti ($p = 0,737$), između a^* koordinate boje i b^* koordinate boje ($p = 0,799$), između a^* koordinate boje i Chroma vrijednosti ($p = 0,806$) i između b^* koordinate boje i Chroma vrijednosti ($p = 0,999$).

Tablica 1. Fizikalno - kemijska svojstva izvornih medova

Uzorak	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S \text{ cm}^{-1}$	TDS /mg L ⁻¹	pepeo / %	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
1	17,5	80,5	4,44	171,1	90,1	0,0138	55,47	0,16	4,18	1,533	4,183
2	15,5	83,0	4,53	164,4	82,5	0,0132	50,94	0,43	5,07	1,486	5,088
3	17,0	80,5	4,38	164,9	81,5	0,0133	55,68	0,07	3,56	1,551	3,561
4	17,5	79,5	4,34	180,8	96,5	0,0145	50,87	0,25	4,74	1,518	4,747
5	16,0	82,5	4,44	189,4	93,0	0,0152	50,96	0,32	5,00	1,507	5,010
6	17,0	80,0	4,32	157,3	80,3	0,0127	54,89	0,12	3,60	1,537	3,602
7	17,0	80,0	4,30	191,8	96,4	0,0154	51,97	0,22	4,66	1,524	4,665
8	17,0	80,5	4,23	175,0	72,8	0,0141	54,04	0,08	3,46	1,548	3,461
9	17,5	80,0	4,38	180,0	98,9	0,0145	50,04	0,59	5,11	1,456	5,144
10	18,0	79,0	4,48	170,7	86,3	0,0137	51,53	0,21	3,85	1,516	3,856
11	16,0	82,5	4,33	135,2	71,3	0,0109	55,78	0,13	3,5	1,534	3,502
12	16,5	82,0	4,40	148,0	74,6	0,0119	50,31	0,25	3,92	1,507	3,928
13	17,0	80,0	4,32	182,2	90,3	0,0147	54,02	0,30	3,97	1,495	3,981
14	17,0	80,	4,30	177,7	89,3	0,0143	50,22	0,30	4,06	1,497	4,071
15	17,5	80,5	4,32	162,3	79,7	0,0131	50,19	0,27	3,94	1,502	3,949

Tablica 2. Deskriptiva statistička analiza rezultata fizikalno-kemijskih svojstava izvornih medova

	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S \text{ cm}^{-1}$	$TDS / \text{mg L}^{-1}$	$pepeo / \%$	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
srednja vrijednost	16,933	80,700	4,367	168,647	85,566	0,014	52,460	0,247	4,175	1,514	4,183
minimum	15,500	79,000	4,230	135,200	71,300	0,011	50,040	0,070	3,460	1,456	3,461
maksimum	18,000	83,000	4,530	191,800	98,900	0,015	55,780	0,590	5,110	1,551	5,144
varijanca	0,456	1,457	0,006	260,527	78,732	0	5,009	0,018	0,347	0,001	0,355
standardna devijacija	0,678	1,207	0,079	16,141	8,873	0,001	2,238	0,137	0,589	0,025	0,596

Tablica 3. Korelacijska matrica fizikalno-kemijskih svojstava izvornih medova

	udio vode	°Brix	pH	S	TDS	$pepeo$	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
udio vode	1,000										
°Brix	-0,921	1,000									
pH	-0,236	0,368	1,000								
S	0,200	-0,385	-0,157	1,000							
TDS	0,346	-0,423	0,154	0,724	1,000						
$pepeo$	0,200	-0,385	-0,157	1,000	0,724	1,000					
L^*	-0,161	0,163	0,168	-0,160	-0,123	-0,160	1,000				
a^*	-0,098	0,121	0,361	0,373	0,551	0,373	-0,595	1,000			
b^*	-0,188	0,182	0,452	0,533	0,739	0,533	-0,120	0,799	1,000		
Hue	0,048	-0,075	-0,306	-0,314	-0,478	-0,315	0,737	-0,976	-0,682	1,000	
Chroma	-0,187	0,184	0,452	0,532	0,738	0,532	-0,127	0,806	0,999	-0,688	1,000

4.2. FIZIKALNO-KEMIJSKA SVOJSTVA PATVORINA S GLUKOZNIM I KUKURUZNIM SIRUPOM

Rezultati analiza fizikalno-kemijskih svojstava izvornih medova i patvorina s glukoznim i kukuruznim sirupom prikazani su u tablicama 4 - 19. Za provedbu te analize bilo je potrebno pripremiti patvorine meda na način da se uzorak meda miješa s odabranom patvorinom (glukozni sirup i kukuruzni sirup) u masenim udjelima od 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 i 100 % (0 % čisti uzorak meda, a 100 % čista komponenta za patvorenje). Potom su uzorci čuvani na temperaturi od $T = 35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ tijekom $t = 24 \text{ h}$ te su povremeno ručno miješani kako bi se osigurala homogenost prije analiza.

Kod svih uzoraka može se primijetiti da se udio vode smanjuje dodatkom jedne i druge komponente za patvorenje, a udio šećera (°Brix) povećava. Kod patvorina s glukoznim sirupom izmjerene su vrijednosti udjela vode u rasponu od 12,5 % (npr. uzorak 4, tablica 7), kao najniža izmjerena vrijednost, do 17 % (uzorak 10, tablica 13) kao najviša izmjerena vrijednost te udjeli šećera od 82 °Brix (npr. uzorak 1, tablica 4) do 86 °Brix (npr. uzorak 6, tablica 9).

Kod patvorina s kukuruznim sirupom izmjerene su vrijednosti udjela vode u rasponu od 13,5 % (npr. uzorak 9, tablica 12) do 18 % (uzorak 1, tablica 4) te udjeli šećera od 79 °Brix (uzorak 10, tablica 13) do 85 °Brix (uzorak 2, tablica 5). Zanimljivo je također da dodatak patvorina ima drugačiji utjecaj na pH. Dodatkom glukoznog sirupa smanjuje se pH, dok dodatkom kukuruznog sirupa raste pH.

Kao najvažniji rezultat u ovom dijelu istraživanja može se izdvojiti linearna zavisnost između udjela dodane patvorine i električne vodljivosti uzoraka. Jasno je vidljivo da se dodatkom glukoznog sirupa smanjuje električna vodljivost, a dodatkom kukuruznog sirupa se povećava (slika 7 i 8). Analizom rezultata može se uočiti linearna zavisnost između dodanog udjela patvorine i vodljivosti pripremljenih uzoraka s visokom koeficijentom determinacije ($R^2 > 0,9$). U slučaju patvorina s glukoznim sirupom samo su za uzorke 2 i 11 dobiveni koeficijenti determinacije niži od 0,9, dok su kod patvorina s kukuruznim sirupom za uzorke 1 (tablica 4), 11 (tablica 14) i 14 (tablica 17) dobiveni koeficijenti determinacije niži od 0,9. Dobivene korekcije upućuju na moguću primjenu jednostavne metode za detekciju patvorenja. Dodatak patvorina ima također utjecaj na boju uzoraka; dodatak glukoznog sirupa posvjetljuje uzorke, dok ih dodatak kukuruznog sirupa potamnjuje.

Analiza korelacijskih matrica fizikalno-kemijskih svojstava patvorina s glukoznim i kukuruznim sirupom (tablica 20 i tablica 22) pokazuje veliki broj signifikantnih korelacija, posebno u slučaju patvorina s kukuruznim sirupom. Također Wilcoxon test ekvivalentnih parova za usporedbu razlika između uzoraka pokazuje da u slučaju usporedbe izvornih medova i medova patvorenih s glukoznim sirupom postoje signifikantne razlike u dijelu vode, udjelu šećera, vodljivosti, udjelu pepela, L^* koordinati boje te b^* koordinati boje. Kod usporedbe izvornih medova i patvorina s kukuruznim sirupom te kod usporedbe patvorina s glukoznim sirupom i patvorina s kukuruznim sirupom Wilcoxon test ekvivalentnih parova pokazuje da su razlike za sva mjerena svojstva signifikantne. Ropciuc i sur. (2017) u svojoj studiji istražili su kako utječu pojedine komponente

za patvorenje (glukoza, fruktoza i hidrolizirani inulinski sirup) na fizikalno-kemijske parametre (boja (L^* , a^* , b^* , C^* , Hue), pH, udio vode i električnu vodljivost) tri vrste medova. Eksperimentalni podaci podvrgnuti su analizi varijance (ANOVA-i) kako bi se utvrdilo utječe li tip meda, komponenta za patvorenje ili postotak dodane komponente značajno na fizikalno-kemijske parametre i mogu li se ti parametri upotrijebiti za identifikaciji patvorenja meda. Prema ANOVA-i uočeno je da u slučaju L^* , pH i električne vodljivosti postoji dobra korelacija ($R^2 > 0.90$) između parametara i botaničkog porijekla meda, komponente za patvorenje i postotaka dodatne komponente za patvorenje.

Tablica 4. Fizikalno-kemijska svojstva 1. uzorka meda i pripremljenih patvorina s glukoznim i kukuruznim sirupom

Uzorak 1	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S$ cm^{-1}	TDS /mg L^{-1}	pepeo / %	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
1	17,5	80,5	4,44	171,1	90,1	0,0138	55,57	0,16	4,18	1,533	4,183
1-G-10%	16,5	82,0	4,26	171,7	54,0	0,0138	55,15	0,17	4,02	1,529	4,024
1-G-20%	16,0	82,5	4,32	132,0	65,9	0,0106	55,07	0,16	3,86	1,529	3,863
1-G-30%	15,0	83,5	4,47	137,7	68,8	0,0111	55,11	0,13	3,73	1,536	3,732
1-G-40%	16,0	82,5	4,17	118,9	59,9	0,0096	55,31	0,19	3,83	1,521	3,835
1-G-50%	15,0	83,5	4,08	103,7	151,5	0,0083	55,05	0,12	3,33	1,535	3,332
1-G-60%	14,5	84,0	4,46	91,7	46,4	0,0074	55,22	0,08	3,14	1,545	3,141
1-G-70%	15,0	84,5	4,13	80,1	40,0	0,0064	56,08	0,04	2,42	1,554	2,420
1-G-80%	14,5	84,0	4,52	72,2	36,1	0,0058	56,13	0,04	2,23	1,553	2,230
1-G-90%	14,5	84,0	4,29	66,0	36,0	0,0053	56,22	0,06	2,08	1,542	2,081
G	14,0	83,0	7,42	17,8	8,9	0,0014	55,05	0,02	2,03	1,561	2,030
1-K-10%	17,5	80,5	4,17	258,0	129,0	0,0208	53,22	0,88	5,54	1,413	5,609
1-K-20%	17,5	80,5	4,31	472,0	236,0	0,0380	52,38	1,26	5,48	1,345	5,623
1-K-30%	17,0	80,5	4,41	645,0	322,0	0,0519	52,28	1,54	5,34	1,290	5,558
1-K-40%	17,0	80,5	4,67	540,0	270,0	0,0434	51,66	1,84	5,08	1,223	5,403
1-K-50%	16,5	81,0	4,57	665,0	333,0	0,0535	51,09	1,97	4,94	1,191	5,318
1-K-60%	16,5	81,0	4,62	833,0	408,0	0,0670	50,97	1,93	4,58	1,172	4,970
1-K-70%	16,0	81,5	4,83	740,0	370,0	0,0595	51,05	1,91	4,18	1,142	4,596
1-K-80%	16,0	81,5	4,84	796,0	398,0	0,0640	50,56	2,01	4,12	1,117	4,584
1-K-90%	15,5	82,0	4,92	1241,0	621,0	0,0999	50,25	1,93	3,93	1,114	4,378
K	15,0	79,0	5,12	1187,0	594,0	0,0955	50,50	1,70	3,41	1,108	3,810

Tablica 5. Fizikalno-kemijska svojstva 2. uzorka meda i pripremljenih patvorina s glukoznim i kukuruznim sirupom

Uzorak 2	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S$ cm^{-1}	TDS /mg L^{-1}	pepeo / %	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
2	15,5	83,0	4,53	164,4	82,5	0,0132	55,95	0,43	5,07	1,486	5,088
2-G-10%	14,0	84,0	4,08	91,1	182,1	0,0073	55,91	0,37	4,83	1,494	4,844
2-G-20%	14,0	84,5	4,08	84,1	168,1	0,0068	55,15	0,58	5,06	1,457	5,093
2-G-30%	14,0	84,5	4,33	69,3	138,9	0,0056	55,06	0,47	4,89	1,475	4,913
2-G-40%	13,5	85,0	4,30	65,8	130,4	0,0053	58,38	0,06	3,32	1,553	3,321
2-G-50%	14,0	85,0	4,30	64,6	130,0	0,0052	55,25	0,19	3,69	1,519	3,695
2-G-60%	14,0	84,0	4,35	49,3	98,5	0,0040	55,09	0,15	3,65	1,530	3,653
2-G-70%	13,5	84,5	4,22	44,0	84,5	0,0035	55,52	0,18	3,37	1,517	3,375
2-G-80%	14,0	85,0	4,64	32,2	62,3	0,0026	55,05	0,09	3,12	1,542	3,121
2-G-90%	13,5	84,5	4,22	24,0	53,0	0,0019	55,69	0,08	2,59	1,540	2,591
G	14,0	83,0	7,42	17,8	8,9	0,0014	55,05	0,02	2,03	1,561	2,030
2-K-10%	14,5	84,5	4,20	332,0	165,8	0,0267	52,7	0,92	5,42	1,403	5,498
2-K-20%	14,5	84,5	4,28	371,0	185,4	0,0299	52,51	1,42	6,09	1,342	6,253
2-K-30%	14,5	84,0	4,45	522,0	261,0	0,0420	51,65	1,64	5,63	1,287	5,864
2-K-40%	14,5	84,0	4,51	594,0	297,0	0,0478	51,59	1,82	5,17	1,232	5,481
2-K-50%	14,0	84,0	4,61	663,0	331,0	0,0533	50,92	1,93	4,90	1,196	5,266
2-K-60%	14,0	84,5	4,80	726,0	363,0	0,0584	50,69	1,95	4,56	1,167	4,959
2-K-70%	14,0	85,0	4,74	803,0	417,0	0,0646	50,72	1,97	4,42	1,152	4,839
2-K-80%	13,5	85,0	4,98	893,0	446,0	0,0719	50,53	1,97	4,14	1,127	4,585
2-K-90%	13,5	85,0	5,02	1066,0	526,0	0,0858	50,56	1,90	3,79	1,106	4,240
K	15,0	79,0	5,12	1187,0	594,0	0,0955	50,50	1,70	3,41	1,108	3,810

Tablica 6. Fizikalno-kemijska svojstva 3. uzorka meda i pripremljenih patvorina s glukoznim i kukuruznim sirupom

Uzorak 3	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S$ cm^{-1}	TDS /mg L^{-1}	pepeo / %	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
3	17,0	80,5	4,38	164,9	81,5	0,0133	55,68	0,07	3,56	1,551	3,561
3-G-10%	15,5	83,0	4,00	162,1	81,3	0,0130	55,26	0,10	3,62	1,543	3,621
3-G-20%	16,0	82,5	4,02	136,4	67,8	0,0110	55,51	0,11	3,52	1,540	3,522
3-G-30%	14,5	83,5	4,12	130,2	64,2	0,0105	55,38	0,14	3,44	1,530	3,443
3-G-40%	14,5	84,0	4,08	121,4	61,0	0,0098	56,81	-0,01	3,07	-1,568	3,070
3-G-50%	15,5	83,0	4,66	108,7	55,6	0,0087	55,75	-0,03	2,88	-1,560	2,880
3-G-60%	15,0	83,0	4,43	210,0	109,3	0,0169	55,68	-0,06	2,84	-1,550	2,841
3-G-70%	14,0	85,0	4,48	78,7	40,0	0,0063	55,53	-0,03	2,55	-1,559	2,550
3-G-80%	13,5	84,5	4,72	64,1	32,0	0,0052	56,59	0,02	2,45	1,563	2,450
3-G-90%	13,5	85,0	4,34	46,8	23,6	0,0038	56,25	-0,05	2,41	-1,550	2,411
G	14,0	83,0	7,42	17,8	8,9	0,0014	55,05	0,02	2,03	1,561	2,030
3-K-10%	17,0	80,0	4,52	283,0	141,4	0,0228	53,03	0,69	5,54	1,447	5,583
3-K-20%	17,0	80,5	4,32	387,0	193,5	0,0311	51,8	1,20	5,64	1,361	5,766
3-K-30%	16,5	80,5	4,41	438,0	219,0	0,0352	51,6	1,37	4,71	1,288	4,905
3-K-40%	16,5	80,5	4,67	590,0	295,0	0,0475	51,09	1,59	4,61	1,239	4,876
3-K-50%	16,5	81,0	4,68	623,0	311,0	0,0501	50,81	1,75	4,45	1,196	4,782
3-K-60%	16,0	81,0	4,81	736,0	368,0	0,0592	50,80	1,74	4,19	1,177	4,537
3-K-70%	16,0	81,5	4,95	864,0	432,0	0,0695	50,83	1,65	3,86	1,167	4,198
3-K-80%	15,5	81,5	5,08	999,0	499,0	0,0804	50,85	1,64	3,61	1,144	3,965
3-K-90%	15,5	82,0	5,09	1033,0	517,0	0,0831	50,57	1,66	3,52	1,130	3,892
K	15,0	79,0	5,12	1187,0	594,0	0,0955	50,50	1,70	3,41	1,108	3,810

Tablica 7. Fizikalno-kemijska svojstva 4. uzorka meda i pripremljenih patvorina s glukoznim i kukuruznim sirupom

Uzorak 4	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S cm^{-1}$	TDS /mg L ⁻¹	pepeo / %	L*	a*	b*	Hue	Chroma
4	17,5	79,5	4,34	180,8	96,5	0,0145	55,87	0,25	4,74	1,518	4,747
4-G-10%	16,5	82,0	4,02	205,0	102,5	0,0165	55,21	0,16	4,41	1,535	4,413
4-G-20%	16,0	82,5	4,03	170,2	86,0	0,0137	55,55	0,11	3,78	1,542	3,782
4-G-30%	14,5	84,0	4,03	153,3	77,9	0,0123	55,63	0,09	3,88	1,548	3,881
4-G-40%	15,5	83,0	4,13	149,9	76,0	0,0121	55,33	0,07	3,96	1,553	3,961
4-G-50%	15,5	83,0	4,36	128,6	64,9	0,0103	55,55	0,04	3,63	1,560	3,630
4-G-60%	15,0	83,0	4,14	106,4	53,0	0,0086	55,62	-0,02	3,32	-1,565	3,320
4-G-70%	14,0	84,5	4,56	92,3	46,1	0,0074	55,5	-0,02	3,21	-1,565	3,210
4-G-80%	12,5	86,0	4,24	68,5	34,3	0,0055	55,58	-0,03	2,57	-1,559	2,570
4-G-90%	14,5	84,0	4,36	55,6	28,2	0,0045	55,75	-0,01	2,59	-1,567	2,590
G	14,0	83,0	7,42	17,8	8,9	0,0014	55,05	0,02	2,03	1,561	2,030
4-K-10%	17,5	80,0	4,50	332,0	161,3	0,0267	51,98	1,00	5,33	1,385	5,423
4-K-20%	17,5	80,5	4,48	689,0	345,0	0,0554	50,99	1,37	5,56	1,329	5,726
4-K-30%	17,0	80,5	4,47	523,0	261,0	0,0421	51,07	1,53	5,28	1,289	5,497
4-K-40%	17,0	80,5	4,67	632,0	316,0	0,0509	50,66	1,69	5,00	1,245	5,278
4-K-50%	16,5	81,0	4,74	668,0	334,0	0,0537	50,33	1,93	4,86	1,193	5,229
4-K-60%	16,5	81,0	4,57	760,0	380,0	0,0611	50,65	1,76	4,5	1,198	4,832
4-K-70%	16,0	81,5	4,93	882,0	441,0	0,0710	51,38	1,37	3,76	1,221	4,002
4-K-80%	16,0	81,5	4,95	948,0	474,0	0,0763	51,15	1,53	3,75	1,183	4,050
4-K-90%	15,5	82,0	5,04	1016,0	508,0	0,0817	39,73	1,78	3,97	1,149	4,351
K	15,0	79,0	5,12	1187,0	594,0	0,0955	50,50	1,70	3,41	1,108	3,810

Tablica 8. Fizikalno-kemijska svojstva 5. uzorka meda i pripremljenih patvorina s glukoznim i kukuruznim sirupom

Uzorak 5	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S cm^{-1}$	TDS /mg L ⁻¹	pepeo / %	L*	a*	b*	Hue	Chroma
5	16,0	82,5	4,44	189,4	93,0	0,0152	55,96	0,32	5,00	1,507	5,010
5-G-10%	14,5	84,0	4,06	192,5	96,2	0,0155	55	0,26	4,42	1,512	4,428
5-G-20%	14,5	84,0	4,08	185,5	92,0	0,0149	55,06	0,24	4,38	1,516	4,387
5-G-30%	14,5	84,0	4,11	160,8	80,8	0,0129	55,08	0,23	4,40	1,519	4,406
5-G-40%	13,5	85,0	4,67	136,2	68,0	0,0110	57,39	-0,05	2,93	-1,554	2,930
5-G-50%	13,0	85,5	4,60	123,6	62,1	0,0099	55,50	0,30	4,43	1,503	4,440
5-G-60%	13,5	85,0	4,63	129,5	64,7	0,0104	55,35	0,06	3,55	1,554	3,551
5-G-70%	13,5	85,0	4,47	91,7	45,9	0,0074	55,71	0,12	3,59	1,537	3,592
5-G-80%	13,0	85,0	4,58	67,1	33,7	0,0054	55,52	0,10	2,85	1,536	2,852
5-G-90%	13,0	85,0	4,72	56,9	28,3	0,0046	56,51	0,01	2,39	1,567	2,390
G	14,0	83,0	7,42	17,8	8,9	0,0014	55,05	0,02	2,03	1,561	2,030
5-K-10%	16,0	82,5	4,20	292,0	146,0	0,0235	52,1	1,01	6,21	1,410	6,292
5-K-20%	16,0	82,5	4,45	417,0	209,0	0,0336	51,5	1,40	6,19	1,348	6,346
5-K-30%	15,5	83,0	4,74	467,0	233,0	0,0376	50,69	1,58	5,44	1,288	5,665
5-K-40%	15,5	83,0	4,67	628,0	314,0	0,0505	41,57	1,76	5,34	1,252	5,623
5-K-50%	15,5	83,5	4,67	685,0	343,0	0,0551	39,87	1,87	5,06	1,217	5,394
5-K-60%	15,0	83,5	4,73	736,0	368,0	0,0592	40,63	1,67	4,25	1,196	4,566
5-K-70%	15,0	84,0	4,76	866,0	433,0	0,0697	40,00	1,66	3,69	1,148	4,046
5-K-80%	15,0	84,0	4,90	893,0	447,0	0,0719	39,50	1,84	3,83	1,123	4,249
5-K-90%	14,5	84,0	5,21	1008,0	504,0	0,0811	38,99	1,91	3,8	1,105	4,253
K	15,0	79,0	5,12	1187,0	594,0	0,0955	50,50	1,70	3,41	1,108	3,810

Tablica 9. Fizikalno-kemijska svojstva 6. uzorka meda i pripremljenih patvorina s glukoznim i kukuruznim sirupom

Uzorak 6	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S$ cm^{-1}	TDS /mg L^{-1}	pepeo / %	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
6	17,0	80,0	4,32	157,3	80,3	0,0127	55,89	0,12	3,6	1,537	3,602
6-G-10%	14,5	84,0	4,39	152,7	79,8	0,0123	55,89	0,51	3,72	1,435	3,755
6-G-20%	14,0	84,5	4,14	144,0	69,4	0,0116	55,85	0,45	3,59	1,445	3,621
6-G-30%	14,0	84,0	4,09	124,1	63,5	0,0100	56,16	0,49	3,88	1,446	3,910
6-G-40%	14,0	84,5	4,13	119,5	60,1	0,0096	53,89	0,43	3,38	1,444	3,412
6-G-50%	13,5	85,0	4,21	88,8	45,7	0,0071	55,79	0,45	3,56	1,444	3,589
6-G-60%	13,5	85,0	4,38	83,2	40,4	0,0067	55,28	0,50	3,83	1,441	3,864
6-G-70%	13,0	85,0	4,12	65,6	33,4	0,0053	56,53	0,56	3,72	1,423	3,761
6-G-80%	12,5	86,0	4,59	62,7	30,8	0,0050	56,60	0,53	3,67	1,427	3,711
6-G-90%	13,0	85,5	4,40	47,7	25,1	0,0038	56,57	0,51	3,48	1,425	3,518
G	14,0	83,0	7,42	17,8	8,9	0,0014	55,05	0,02	2,03	1,561	2,030
6-K-10%	17,0	80,0	4,25	282,0	141,0	0,0227	51,55	0,91	4,61	1,376	4,699
6-K-20%	17,0	80,5	4,34	362,0	180,9	0,0291	51,23	1,16	4,66	1,327	4,802
6-K-30%	16,5	80,5	4,48	475,0	237,0	0,0382	50,23	1,52	5,13	1,283	5,350
6-K-40%	16,5	80,5	4,62	598,0	299,0	0,0481	50,52	1,47	4,44	1,251	4,677
6-K-50%	16,5	81,0	4,86	695,0	348,0	0,0559	39,77	1,94	4,96	1,198	5,326
6-K-60%	16,0	81,0	4,69	757,0	378,0	0,0609	39,58	2,07	4,97	1,176	5,384
6-K-70%	16,0	81,5	4,81	1263,0	632,0	0,1016	39,50	1,89	4,23	1,151	4,633
6-K-80%	15,5	81,5	5,04	958,0	479,0	0,0771	38,97	2,02	4,13	1,116	4,598
6-K-90%	15,5	82,0	5,03	1072,0	536,0	0,0863	39,32	1,95	3,84	1,101	4,307
K	15,0	79,0	5,12	1187,0	594,0	0,0955	40,50	1,70	3,41	1,108	3,810

Tablica 10. Fizikalno-kemijska svojstva 7. uzorka meda i pripremljenih patvorina s glukoznim i kukuruznim sirupom

Uzorak 7	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S$ cm^{-1}	TDS /mg L^{-1}	pepeo / %	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
7	17,0	80,0	4,30	191,8	96,4	0,0154	55,97	0,22	4,66	1,524	4,665
7-G-10%	15,0	83,5	4,14	203,0	99,4	0,0163	55,01	0,30	3,99	1,496	4,001
7-G-20%	14,5	84,0	4,06	183,8	94,6	0,0148	56,15	0,48	3,75	1,444	3,779
7-G-30%	14,0	84,5	3,95	162,7	80,2	0,0131	56,35	0,48	3,79	1,446	3,823
7-G-40%	13,5	85,0	4,01	147,5	75,3	0,0119	57,58	0,52	3,95	1,440	3,987
7-G-50%	13,5	85,0	4,05	144,1	71,6	0,0116	55,85	0,50	3,66	1,435	3,696
7-G-60%	13,0	85,0	3,95	104,3	52,5	0,0084	57,62	0,51	3,76	1,436	3,798
7-G-70%	13,0	85,5	4,19	96,1	47,1	0,0077	56,95	0,53	3,71	1,428	3,743
7-G-80%	13,0	85,5	4,00	65,2	33,5	0,0052	56,85	0,48	3,44	1,433	3,477
7-G-90%	12,5	85,5	4,15	61,8	30,4	0,0050	56,75	0,44	3,41	1,441	3,444
G	14,0	83,0	7,42	17,8	8,9	0,0014	55,05	0,02	2,03	1,561	2,030
7-K-10%	17,0	80,0	4,02	309,0	154,6	0,0249	51,33	0,98	5,55	1,396	5,636
7-K-20%	17,0	80,5	4,23	400,0	200,0	0,0322	50,71	1,45	5,79	1,325	5,969
7-K-30%	17,0	80,5	4,26	513,0	257,0	0,0413	50,26	1,62	5,31	1,275	5,552
7-K-40%	16,5	81,0	4,43	882,0	441,0	0,0710	50,02	1,90	5,03	1,210	5,377
7-K-50%	16,5	81,0	4,27	623,0	312,0	0,0501	39,67	1,98	4,82	1,181	5,211
7-K-60%	16,5	81,0	4,29	810,0	405,0	0,0652	39,6	1,92	4,41	1,160	4,810
7-K-70%	16,0	81,5	4,63	885,0	427,0	0,0712	39,86	1,95	4,02	1,119	4,468
7-K-80%	16,0	81,5	4,69	951,0	475,0	0,0765	50,18	1,74	3,74	1,135	4,125
7-K-90%	15,5	82,0	4,52	1088,0	544,0	0,0875	39,25	1,98	3,88	1,099	4,356
K	15,0	79,0	5,12	1187,0	594,0	0,0955	40,50	1,70	3,41	1,108	3,810

Tablica 11. Fizikalno-kemijska svojstva 8. uzorka meda i pripremljenih patvorina s glukoznim i kukuruznim sirupom

Uzorak 8	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S \text{ cm}^{-1}$	TDS /mg L ⁻¹	pepeo / %	L*	a*	b*	Hue	Chroma
8	17,0	80,5	4,23	175,0	72,8	0,0141	55,05	0,08	3,46	1,548	3,461
8-G-10%	15,0	83,5	3,92	134,6	69,2	0,0108	55,59	0,22	3,71	1,512	3,717
8-G-20%	15,0	83,5	3,92	130,4	64,8	0,0105	56,65	0,53	3,95	1,437	3,983
8-G-30%	14,5	84,0	3,98	139,4	71,0	0,0112	57,16	0,56	3,95	1,431	3,986
8-G-40%	13,5	85,0	3,96	104,5	50,4	0,0084	56,17	0,53	3,70	1,428	3,743
8-G-50%	13,5	85,0	3,89	94,1	48,1	0,0076	56,70	0,59	3,86	1,419	3,901
8-G-60%	13,0	85,5	3,89	80,1	39,6	0,0064	56,57	0,54	3,67	1,424	3,715
8-G-70%	13,0	85,5	2,89	70,8	65,7	0,0057	56,55	0,56	3,63	1,419	3,672
8-G-80%	13,5	85,0	4,13	65,6	33,5	0,0053	57,90	0,56	3,60	1,417	3,642
8-G-90%	12,5	86,0	4,14	64,6	31,8	0,0052	56,63	0,50	3,48	1,428	3,514
G	14,0	83,0	7,42	17,8	8,9	0,0014	55,05	0,02	2,03	1,561	2,030
8-K-10%	17,0	80,5	3,88	251,0	125,3	0,0202	51,58	0,86	5,26	1,409	5,330
8-K-20%	17,0	80,5	4,03	327,0	163,7	0,0263	50,89	1,26	5,43	1,343	5,574
8-K-30%	16,5	80,5	4,30	474,0	235,0	0,0381	50,57	1,57	5,54	1,295	5,758
8-K-40%	16,5	81,0	4,26	519,0	259,0	0,0418	50,02	1,80	4,82	1,213	5,145
8-K-50%	16,5	81,5	4,32	587,0	294,0	0,0472	39,62	1,98	5,02	1,195	5,396
8-K-60%	16,0	81,0	4,43	740,0	370,0	0,0595	39,69	1,90	4,63	1,181	5,005
8-K-70%	16,0	81,5	5,00	844,0	422,0	0,0679	39,39	1,96	4,49	1,159	4,899
8-K-80%	16,0	81,5	4,52	921,0	460,0	0,0741	39,52	1,86	4,09	1,144	4,493
8-K-90%	16,5	81,0	5,13	1013,0	516,0	0,0815	39,21	1,86	3,84	1,120	4,267
K	15,0	79,0	5,12	1187,0	594,0	0,0955	50,50	1,70	3,41	1,108	3,810

Tablica 12. Fizikalno-kemijska svojstva 9. uzorka meda i pripremljenih patvorina s glukoznim i kukuruznim sirupom

Uzorak 9	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S \text{ cm}^{-1}$	TDS /mg L ⁻¹	pepeo / %	L*	a*	b*	Hue	Chroma
9	17,5	80,0	4,38	180,0	98,9	0,0145	55,05	0,59	5,11	1,456	5,144
9-G-10%	15,5	82,0	4,04	175,5	88,3	0,0141	55,90	0,59	4,72	1,446	4,757
9-G-20%	15,0	83,0	4,07	173,0	88,1	0,0139	58,13	0,59	4,20	1,431	4,243
9-G-30%	14,5	84,0	4,07	152,0	75,2	0,0122	57,81	0,53	3,73	1,429	3,770
9-G-40%	13,5	85,0	4,21	164,0	83,1	0,0132	57,77	0,52	4,43	1,454	4,461
9-G-50%	13,0	85,0	4,39	121,1	59,9	0,0097	55,23	0,53	3,77	1,430	3,806
9-G-60%	13,0	85,5	4,11	99,9	51,4	0,0080	56,79	0,52	4,05	1,443	4,079
9-G-70%	13,0	85,5	4,16	84,0	42,9	0,0068	56,98	0,48	3,43	1,433	3,464
9-G-80%	13,0	85,0	4,16	69,6	34,0	0,0056	56,53	0,52	3,36	1,417	3,399
9-G-90%	12,5	86,0	4,13	50,3	24,8	0,0040	56,32	0,51	3,23	1,414	3,266
G	14,0	83,0	7,42	17,8	8,9	0,0014	55,05	0,02	2,03	1,561	2,030
9-K-10%	17,5	80,0	4,17	283,0	141,7	0,0228	51,23	1,16	5,46	1,361	5,582
9-K-20%	17,5	80,0	4,09	334,0	166,8,0	0,0269	50,7	1,45	5,28	1,303	5,475
9-K-30%	17,0	81,0	4,37	437,0	219,0	0,0352	50,51	1,53	4,94	1,270	5,172
9-K-40%	17,0	81,0	4,41	601,0	301,0	0,0484	39,93	1,78	4,90	1,222	5,213
9-K-50%	17,0	81,5	4,53	707,0	354,0	0,0569	39,82	1,74	4,35	1,190	4,685
9-K-60%	16,5	81,5	5,23	1041,0	520,0	0,0838	39,76	1,89	4,40	1,165	4,789
9-K-70%	16,5	82,0	4,57	833,0	416,0	0,0670	39,72	1,82	3,94	1,138	4,340
9-K-80%	16,0	82,0	4,94	965,0	482,0	0,0776	39,51	2,00	3,66	1,071	4,171
9-K-90%	16,0	82,0	5,07	960,0	480,0	0,0772	39,59	1,75	3,55	1,113	3,958
K	15,0	79,0	5,12	1187,0	594,0	0,0955	50,50	1,70	3,41	1,108	3,810

Tablica 13. Fizikalno-kemijska svojstva 10. uzorka meda i pripremljenih patvorina s glukoznim i kukuruznim sirupom

Uzorak 10	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S \text{ cm}^{-1}$	$TDS / \text{mg L}^{-1}$	pepeo / %	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
10	18,0	79,0	4,48	170,7	86,3	0,0137	55,53	0,21	3,85	1,516	3,856
10-G-10%	17,0	82,0	4,15	155,3	78,1	0,0125	55,19	0,61	3,99	1,419	4,036
10-G-20%	16,5	82,0	4,05	144,1	69,8	0,0116	55,36	0,60	4,20	1,428	4,245
10-G-30%	16,0	83,0	3,96	121,6	62,7	0,0098	55,60	0,55	3,73	1,424	3,773
10-G-40%	16,0	83,5	4,13	125,0	61,3	0,0101	55,91	0,58	4,43	1,440	4,468
10-G-50%	15,0	83,5	4,67	146,0	74,0	0,0117	55,79	0,55	3,77	1,425	3,808
10-G-60%	15,0	84,0	4,07	83,5	40,2	0,0067	56,00	0,54	4,05	1,438	4,081
10-G-70%	15,0	84,5	4,26	75,9	38,2	0,0061	56,05	0,53	3,43	1,417	3,472
10-G-80%	14,5	84,0	4,22	53,8	27,5	0,0043	55,89	0,51	3,36	1,420	3,397
10-G-90%	14,5	84,0	4,11	48,1	23,7	0,0039	55,75	0,51	3,23	1,414	3,266
G	14,0	83,0	7,42	17,8	8,9	0,0014	55,05	0,02	2,03	1,561	2,030
10-K-10%	18,0	79,0	5,10	560,0	280,0	0,0451	55,53	0,79	5,57	1,430	5,626
10-K-20%	17,5	80,0	4,43	366,0	182,9	0,0294	53,85	1,22	5,59	1,356	5,722
10-K-30%	17,5	80,0	4,53	457,0	228,0	0,0368	53,2	1,43	5,08	1,296	5,277
10-K-40%	17,5	80,0	4,98	553,0	277,0	0,0445	53,25	1,47	4,50	1,255	4,734
10-K-50%	17,0	80,5	4,45	685,0	342,0	0,0551	52,50	1,80	4,42	1,184	4,772
10-K-60%	17,0	81,0	4,56	752,0	376,0	0,0605	52,78	1,65	3,95	1,175	4,281
10-K-70%	16,5	81,0	4,92	843,0	421,0	0,0678	51,88	1,93	3,9	1,111	4,351
10-K-80%	16,5	81,0	4,88	856,0	428,0	0,0689	51,76	1,93	3,74	1,094	4,209
10-K-90%	16,0	81,5	5,02	1004,0	502,0	0,0808	51,76	1,75	3,45	1,101	3,868
K	15,0	79,0	5,12	1187,0	594,0	0,0955	50,50	1,70	3,41	1,108	3,810

Tablica 14. Fizikalno-kemijska svojstva 11. uzorka meda i pripremljenih patvorina s glukoznim i kukuruznim sirupom

Uzorak 11	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S \text{ cm}^{-1}$	$TDS / \text{mg L}^{-1}$	pepeo / %	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
11	16,0	82,5	4,33	135,2	71,3	0,0109	55,78	0,13	3,5	1,534	3,502
11-G-10%	15,0	83,0	4,1	157,8	80,3	0,0127	55,23	0,31	3,41	1,480	3,424
11-G-20%	15,0	83,0	4,12	127,7	64,8	0,0103	55,95	0,49	3,47	1,430	3,502
11-G-30%	14,5	84,0	4,15	117,6	58,2	0,0095	56,27	0,47	3,85	1,451	3,880
11-G-40%	13,5	85,0	4,18	100,0	50,5	0,0080	58,87	0,49	3,28	1,422	3,318
11-G-50%	13,5	85,0	4,20	90,0	48,1	0,0072	58,55	0,50	3,24	1,417	3,276
11-G-60%	13,0	85,5	4,21	86,6	43,2	0,0070	57,65	0,52	3,06	1,403	3,105
11-G-70%	13,0	85,5	4,32	83,0	46,2	0,0067	58,39	0,51	3,05	1,405	3,093
11-G-80%	13,5	85,0	4,36	78,8	41,8	0,0063	58,62	0,47	3,07	1,418	3,109
11-G-90%	13,0	86,0	4,42	78,0	38,2	0,0063	58,66	0,49	2,90	1,403	2,938
G	14,0	83	7,42	17,8	8,9	0,0014	55,05	0,02	2,03	1,561	2,030
11-K-10%	16,5	82,5	4,14	305,0	149,7	0,0245	55,68	0,54	5,06	1,464	5,089
11-K-20%	16,5	83,0	4,19	333,0	164,80,	0,0268	53,86	1,01	5,59	1,392	5,681
11-K-30%	16,0	83,0	4,50	521,0	267,0,	0,0419	53,28	1,41	5,38	1,314	5,562
11-K-40%	16,0	83,0	4,45	550,0	273,0,	0,0443	52,57	1,79	4,95	1,224	5,264
11-K-50%	15,5	83,5	6,14	1027,0	517,0	0,0826	52,53	1,84	4,57	1,188	4,927
11-K-60%	15,5	83,5	4,78	742,0	359,0	0,0597	52,65	1,68	4,01	1,174	4,348
11-K-70%	15,0	83,5	4,78	818,0	415,0	0,0658	53,52	1,75	3,85	1,144	4,229
11-K-80%	15,0	84,0	4,88	944,0	460,0	0,0760	51,81	1,93	3,78	1,099	4,244
11-K-90%	14,5	84,0	4,96	1020,0	517,0,	0,0821	52,15	1,75	3,44	1,100	3,860
K	15,0	79,0	5,12	1187,0	594,0	0,0955	50,5	1,70	3,41	1,108	3,810

Tablica 15. Fizikalno-kemijska svojstva 12. uzorka meda i pripremljenih patvorina s glukoznim i kukuruznim sirupom

Uzorak 12	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S cm^{-1}$	$TDS / mg L^{-1}$	pepeo / %	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
12	16,5	82,0	4,40	148	74,6	0,0119	55,31	0,25	3,92	1,507	3,928
12-G-10%	15,5	83,0	4,17	155,2	79,8	0,0125	55,11	0,40	3,77	1,495	3,981
12-G-20%	15,0	83,5	4,17	139,6	68,5	0,0112	55,68	0,48	3,75	1,497	4,071
12-G-30%	14,0	84,0	4,19	129,0	64,1	0,0104	56,05	0,48	3,83	1,502	3,949
12-G-40%	13,0	84,5	4,21	105,6	53,2	0,0085	56,15	0,48	3,82	1,447	3,851
12-G-50%	13,5	85,0	4,23	93,9	47,0	0,0076	55,97	0,46	3,54	1,441	3,569
12-G-60%	13,0	85,0	4,27	86,2	43,1	0,0069	56,19	0,46	3,47	1,439	3,502
12-G-70%	13,0	85,5	4,32	77,5	38,8	0,0062	55,99	0,46	3,20	1,428	3,233
12-G-80%	13,5	85,0	4,44	66,9	33,4	0,0054	56,08	0,46	3,11	1,424	3,143
12-G-90%	13,0	86,0	5,06	57,6	29,0	0,0046	56,35	0,46	2,93	1,415	2,965
G	14,0	83,0	7,42	17,8	8,9	0,0014	55,05	0,02	2,03	1,561	2,030
12-K-10%	16,5	82,0	4,18	262,0	130,6	0,0211	55,35	0,69	5,41	1,444	5,454
12-K-20%	16,5	82,5	4,20	306,0	153,5	0,0246	53,97	1,02	5,73	1,395	5,820
12-K-30%	16,0	82,5	6,03	2009,0	1011,0	0,1616	53,35	1,41	5,14	1,303	5,330
12-K-40%	16,0	82,5	4,45	1470,0	605,0	0,1183	52,76	1,78	5,05	1,232	5,355
12-K-50%	15,5	82,0	4,64	639,0	317,0	0,0514	52,56	1,88	4,78	1,196	5,136
12-K-60%	15,5	83,0	4,98	877,0	437,0	0,0706	52,21	2,01	4,39	1,141	4,828
12-K-70%	15,0	83,0	4,92	1022,0	495,0	0,0822	52,10	1,86	4,07	1,142	4,475
12-K-80%	15,0	83,0	5,37	1116,0	563,0	0,0898	51,88	1,99	3,9	1,099	4,378
12-K-90%	15,0	83,0	5,24	1089,0	543,0	0,0876	51,35	1,39	3,36	1,179	3,636
K	15,0	79,0	5,12	1187,0	594,0	0,0955	50,50	1,70	3,41	1,108	3,810

Tablica 16. Fizikalno-kemijska svojstva 13. uzorka meda i pripremljenih patvorina s glukoznim i kukuruznim sirupom

Uzorak 13	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S cm^{-1}$	$TDS / mg L^{-1}$	pepeo / %	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
13	17,0	80,0	4,32	182,2	90,3	0,0147	55,02	0,30	3,97	1,495	3,981
13-G-10%	15,5	83,0	4,16	163,8	82,1	0,0132	55,27	0,50	3,65	1,435	3,684
13-G-20%	15,0	83,0	4,03	158,8	78,3	0,0128	55,75	0,58	3,66	1,413	3,708
13-G-30%	14,5	83,5	4,03	143,7	72,0	0,0116	55,12	0,51	3,50	1,426	3,539
13-G-40%	14,5	84,0	4,00	123,4	59,8	0,0099	55,30	0,55	3,49	1,416	3,530
13-G-50%	14,5	83,0	4,13	105,2	52,9	0,0085	56,06	0,55	3,50	1,416	3,544
13-G-60%	14,0	83,0	4,17	103,2	51,6	0,0083	55,39	0,49	3,30	1,424	3,334
13-G-70%	14,0	84,0	4,20	94,9	47,8	0,0076	56,27	0,55	3,52	1,417	3,559
13-G-80%	13,5	84,5	4,22	81,0	40,2	0,0065	55,07	0,49	3,12	1,416	3,162
13-G-90%	13,5	85,0	4,28	48,4	25,7	0,0039	55,98	0,52	3,30	1,414	3,340
G	14,0	83,0	7,42	17,8	8,9	0,0014	55,05	0,02	2,03	1,561	2,030
13-K-10%	16,5	80,0	3,94	286,0	143,0	0,0230	55,11	0,92	5,11	1,393	5,192
13-K-20%	16,5	80,0	4,14	397,0	197,0	0,0319	53,32	1,51	5,53	1,304	5,732
13-K-30%	16,5	80,0	7,31	453,0	213,0	0,0364	52,93	1,55	5,05	1,273	5,283
13-K-40%	16,0	80,5	4,41	619,0	287,0	0,0498	52,86	1,78	5,09	1,234	5,392
13-K-50%	16,5	80,5	4,61	693,0	342,0	0,0558	52,52	1,95	4,59	1,169	4,987
13-K-60%	16,0	81,0	4,57	741,0	372,0	0,0596	52,29	1,96	4,28	1,141	4,707
13-K-70%	15,5	81,0	4,71	862,0	426,0	0,0694	52,05	1,99	4,02	1,111	4,486
13-K-80%	15,5	82,0	6,07	2070,0	1031,0	0,1666	51,85	2,05	3,84	1,080	4,353
13-K-90%	15,5	81,5	5,03	1069,0	538,0	0,0860	51,70	2,01	3,63	1,065	4,149
K	15,0	79,0	5,12	1187,0	594,0	0,0955	50,50	1,70	3,41	1,108	3,810

Tablica 17. Fizikalno-kemijska svojstva 14. uzorka meda i pripremljenih patvorina s glukoznim i kukuruznim sirupom

Uzorak 14	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S cm^{-1}$	$TDS / mg L^{-1}$	pepeo / %	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
14	17,0	80,0	4,30	177,7	89,3	0,0143	55,22	0,30	4,06	1,497	4,071
14-G-10%	16,0	82,5	4,01	183,5	90,6	0,0148	55,90	0,52	3,12	1,406	3,163
14-G-20%	15,5	82,5	4,04	152,4	75,8	0,0123	56,08	0,53	3,58	1,423	3,618
14-G-30%	15,5	83,0	4,12	137,4	68,7	0,0111	55,28	0,45	3,49	1,444	3,523
14-G-40%	15,0	83,5	4,22	123,0	60,3	0,0099	55,22	0,43	3,37	1,445	3,394
14-G-50%	15,0	83,0	4,19	121,6	61,5	0,0098	55,65	0,47	3,38	1,433	3,414
14-G-60%	14,5	83,0	4,28	91,0	45,5	0,0073	56,81	0,50	3,52	1,430	3,558
14-G-70%	14,5	84,0	4,32	93,2	44,2	0,0075	56,58	0,52	3,28	1,414	3,324
14-G-80%	14,0	84,5	4,46	100,5	50,3	0,0081	56,37	0,48	3,35	1,429	3,388
14-G-90%	14,0	85,0	4,48	66,3	37,5	0,0053	56,75	0,51	3,37	1,421	3,406
G	14,0	83,0	7,42	17,8	8,9	0,0014	55,05	0,02	2,03	1,561	2,030
14-K-10%	17,0	80,5	4,04	146,1	291,0	0,0118	55,26	0,85	5,61	1,420	5,674
14-K-20%	17,0	80,0	4,29	215,0	433,0	0,0173	53,27	1,43	5,56	1,319	5,741
14-K-30%	17,5	80,5	4,34	238,0	470,0	0,0191	53,12	1,69	5,38	1,266	5,639
14-K-40%	17,0	81,0	6,58	868,0	1690,0	0,0698	52,75	1,85	4,96	1,214	5,294
14-K-50%	17,5	80,0	4,56	336,0	673,0	0,0270	52,55	1,95	4,65	1,174	5,042
14-K-60%	17,0	81,0	4,65	373,0	763,0	0,0300	52,55	1,84	4,27	1,164	4,650
14-K-70%	16,5	81,5	4,76	439,0	857,0	0,0353	52,11	1,99	4,04	1,113	4,504
14-K-80%	16,0	81,0	4,78	775,0	1542,0	0,0624	51,95	1,99	3,86	1,095	4,343
14-K-90%	16,0	81,0	4,6,0	521,0	1052,0	0,0419	51,75	1,87	3,56	1,087	4,021
K	15,0	79,0	5,12	1187,0	594,0	0,0955	50,50	1,70	3,41	1,108	3,810

Tablica 18. Fizikalno-kemijska svojstva 15. uzorka meda i pripremljenih patvorina s glukoznim i kukuruznim sirupom

Uzorak 15	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S cm^{-1}$	$TDS / mg L^{-1}$	pepeo / %	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
15	17,5	80,5	4,32	162,3	79,7	0,0131	55,19	0,27	3,94	1,502	3,949
15-G-10%	15,5	83,0	4,22	172,2	85,8	0,0139	55,25	0,36	3,62	1,472	3,638
15-G-20%	15,0	83,0	4,25	164,7	81,6	0,0133	55,88	0,51	3,68	1,433	3,711
15-G-30%	15,0	83,5	4,31	132,8	66,8	0,0107	55,57	0,46	3,72	1,449	3,748
15-G-40%	14,5	83,5	4,35	127,0	63,5	0,0102	56,67	0,43	3,41	1,444	3,439
15-G-50%	14,5	84,0	4,36	116,8	58,4	0,0094	57,15	0,48	3,53	1,436	3,561
15-G-60%	14,5	84,0	4,38	105,0	53,7	0,0084	56,67	0,49	3,50	1,432	3,533
15-G-70%	14,0	84,5	4,47	84,2	42,1	0,0068	57,32	0,50	3,46	1,427	3,491
15-G-80%	13,0	84,5	4,67	74,4	38,0	0,0060	56,68	0,47	3,34	1,432	3,370
15-G-90%	13,5	85,0	4,70	70,1	35,0	0,0056	57,03	0,52	3,29	1,414	3,335
G	14,0	83,0	7,42	17,8	8,9	0,0014	55,05	0,02	2,03	1,561	2,030
15-K-10%	17,5	80,5	5,34	302,0	151,0	0,0243	55,59	0,73	5,68	1,443	5,727
15-K-20%	17,5	80,5	4,41	367,0	183,6	0,0295	53,89	1,11	5,65	1,377	5,758
15-K-30%	17,5	80,5	4,45	567,0	283,0	0,0456	53,39	1,58	5,62	1,297	5,838
15-K-40%	17,0	81,0	4,71	603,0	302,0	0,0485	53,05	1,79	5,17	1,237	5,471
15-K-50%	17,0	81,0	4,67	733,0	367,0	0,0590	52,89	1,70	5,33	1,262	5,595
15-K-60%	17,0	81,0	4,72	820,0	410,0	0,0660	52,35	2,01	4,46	1,147	4,892
15-K-70%	16,5	81,5	5,14	840,0	420,0	0,0676	52,17	2,05	4,3	1,126	4,764
15-K-80%	16,5	81,0	5,10	940,0	470,0	0,0756	51,95	2,01	3,99	1,104	4,468
15-K-90%	16,0	81,0	5,09	1123,0	562,0	0,0904	51,87	2,08	3,86	1,077	4,385
K	15,0	79,0	5,12	1187,0	594,0	0,0955	50,50	1,70	3,41	1,108	3,810

Tablica 19. Deskriptiva statistička analiza rezultata fizikalno-kemijskih svojstava medova patvorenih s glukoznim sirupom

	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S \text{ cm}^{-1}$	$TDS / \text{mg L}^{-1}$	<i>pepeo</i> / %	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
srednja vrijednost	14,226	84,174	4,225	108,757	61,496	0,008	46,073	0,375	3,529	1,236	3,559
minimum	12,500	82,000	2,890	24,000	23,600	0	43,890	-0,060	2,080	-1,567	2,081
maksimum	17,000	86,000	5,060	205,000	182,100	0,016	48,873	0,637	5,060	1,566	5,093
varijanca	1,021	1,035	0,057	1649,684	764,206	0	0,901	0,042	0,250	0,632	0,257
standardna devijacija	1,016	1,017	0,239	40,616	27,644	0,003	0,949	0,204	0,499	0,795	0,507

Tablica 20. Korelacijska matrica fizikalno-kemijskih svojstava medova patvorenih s glukoznim sirupom

	udio vode/ %	°Brix	pH	S	TDS	<i>pepeo</i>	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
udio vode	1,000										
°Brix	-0,933	1,000									
pH	-0,208	0,218	1,000								
S	0,632	-0,647	-0,307	1,000							
TDS	0,405	-0,414	-0,265	0,499	1,000						
<i>pepeo</i>	0,632	-0,647	-0,306	1,000	0,499	1,000					
L^*	-0,355	0,383	-0,301	-0,170	-0,276	-0,170	1,000				
a^*	-0,108	0,076	-0,327	0,110	-0,043	0,110	0,274	1,000			
b^*	0,264	-0,267	-0,379	0,520	0,613	0,520	-0,173	0,422	1,000		
Hue	0,403	0,067	-0,177	0,125	0,173	0,125	0,006	0,492	0,372	1,000	
Chroma	0,262	-0,266	-0,384	0,521	0,601	0,521	-0,162	0,452	0,997	0,314	1,000

Tablica 21. Deskriptiva statistička analiza rezultata fizikalno-kemijskih svojstava medova patvorenih s kukuruznim sirupom

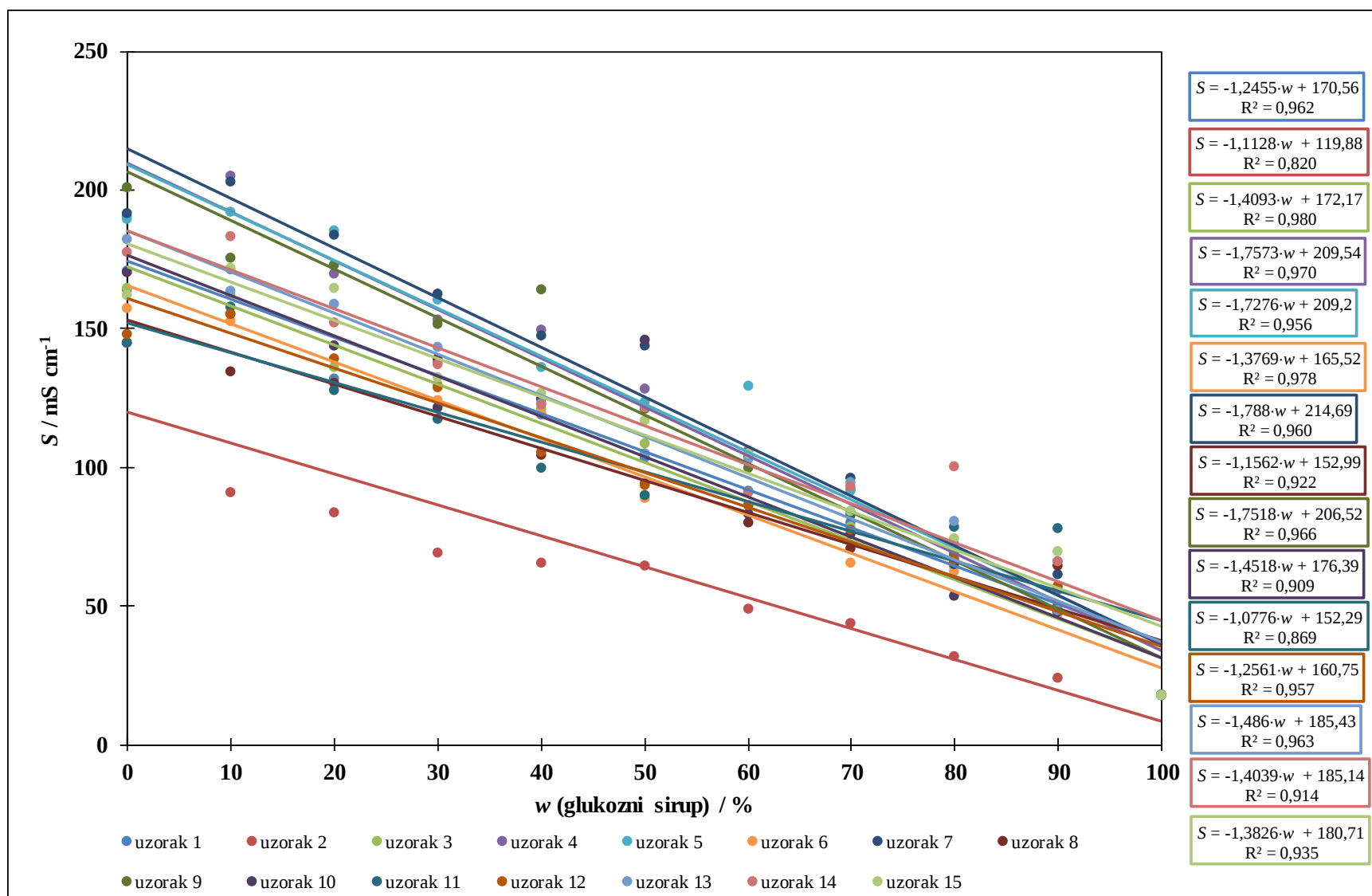
	udio vode / %	°Brix	pH /-	$S / \mu S \text{ cm}^{-1}$	$TDS / \text{mg L}^{-1}$	$pepeo / \%$	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
srednja vrijednost	16,203	81,574	4,693	695,089	389,093	0,056	41,489	1,639	4,668	1,223	4,974
minimum	13,500	79,000	3,880	146,100	125,300	0,012	38,970	0,540	3,360	1,065	3,636
maksimum	18,000	85,000	7,310	2070,000	1690,000	0,167	44,680	2,080	6,210	1,464	6,346
varijanca	0,840	1,740	0,230	99810,170	52599,850	0,000	1,970	0,130	0,500	0,010	0,370
standardna devijacija	0,919	1,319	0,475	315,927	229,346	0,025	1,402	0,365	0,708	0,103	0,608

Tablica 22. Korelacijska matrica fizikalno-kemijskih svojstava medova patvorenih s kukuruznim sirupom

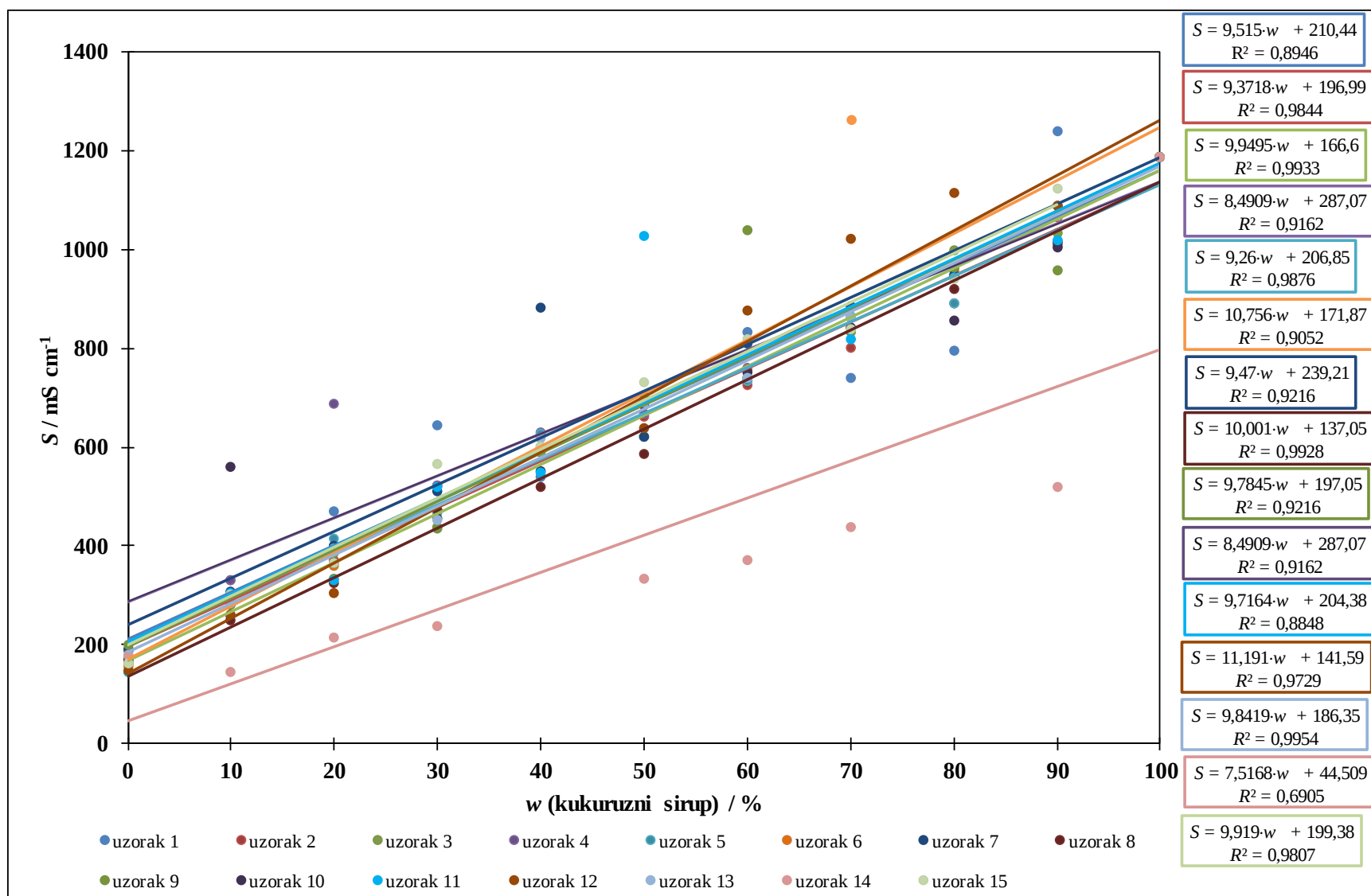
	udio vode	°Brix	pH	S	TDS	$pepeo$	L^*	a^*	b^*	Hue	Chroma
udio vode	1,000										
°Brix	-0,890	1,000									
pH	-0,310	0,210	1,000								
S	-0,530	0,380	0,580	1,000							
TDS	-0,340	0,220	0,450	0,670	1,000						
$pepeo$	-0,530	0,380	0,580	1,000	0,670	1,000					
L^*	0,310	-0,170	-0,130	-0,530	-0,330	-0,530	1,000				
a^*	-0,410	0,260	0,400	0,700	0,670	0,700	-0,560	1,000			
b^*	0,440	-0,280	-0,510	-0,800	-0,750	-0,800	0,420	-0,590	1,000		
Hue	0,490	-0,320	-0,510	-0,850	-0,800	-0,850	0,550	-0,910	0,860	1,000	
Chroma	0,410	-0,250	-0,480	-0,760	-0,700	-0,750	0,370	-0,480	0,990	0,780	1,000

Tablica 23. Wilcoxon test ekvivalentnih parova za usporedbu razlika između uzoraka

svojstvo	<i>p</i> (izvorni medovi/medovi patvoreni glukoznim sirupom)	<i>p</i> (izvorni medovi / medovi patvoreni kukuruznim sirupom)	<i>p</i> (medovi patvoreni glukoznim sirupom / medovi patvoreni kukuruznim sirupom)
udio vode	0,002	0,013	<0,001
°Brix	0,002	0,025	<0,001
pH	0,181	0,038	<0,001
<i>S</i>	0,002	0,001	<0,001
<i>TDS</i>	0,999	0,001	<0,001
<i>pepeo</i>	0,002	0,001	<0,001
<i>L*</i>	0,009	0,001	<0,001
<i>a*</i>	0,301	0,001	<0,001
<i>b*</i>	0,001	0,009	<0,001
Hue	0,301	0,001	<0,001
Chroma	0,121	0,002	<0,001



Slika 7. Linearna zavisnost udjela dodanog glukoznog sirupa i vodljivosti patvorenog meda



Slika 8. Linearna zavisnost udjela dodanog kukuruznog sirupa i vodljivosti patvorenog meda

4.3. NIR SPEKTRI MEDOVA I PRIPREMLJENIH PATVORINA

Kontinuirani NIR spektri izvornih medova te pripremljenih patvorina snimani su pri rasponu valnih duljina $\lambda = 904 - 1699$ nm primjenom NIR spektrometara. Slika 9.a prikazuje NIR spektar izvornih medova i komponenata za patvorenje – glukozni i kukuruzni sirup. Kod valnih duljine $\lambda = 1400 - 1700$ nm dolazi do najveće apsorpcije zračenje gdje se prema Osborne (2006) u tom području pojavljuju C-H kombinirane apsorpcijske vrpce. One nastaju interakcijom dvije ili više vibracija koje se odvijaju istovremeno, a frekvencija kombinacijskih vrpca je jednostavno zbroj višestrukih relevantnih temeljnih frekvencija. Svi uzorci meda jednako apsorbiraju svjetlost zato što su sličnog sastava i fizikalnih svojstava. Po samom sastavu meda mogli smo zaključiti gdje će biti najizraženija apsorpcija pošto su glavni sastojci meda šećeri, odnosno ugljikohidrati. Ako usporedimo sliku 9.a sa slikama 9.b i 9.c može se uočiti da se kod patvorina apsorpcijske vrpce nalaze na različitim apsorbancijama, ovisno o dodatku glukoznog ili kukuruznog sirupa.

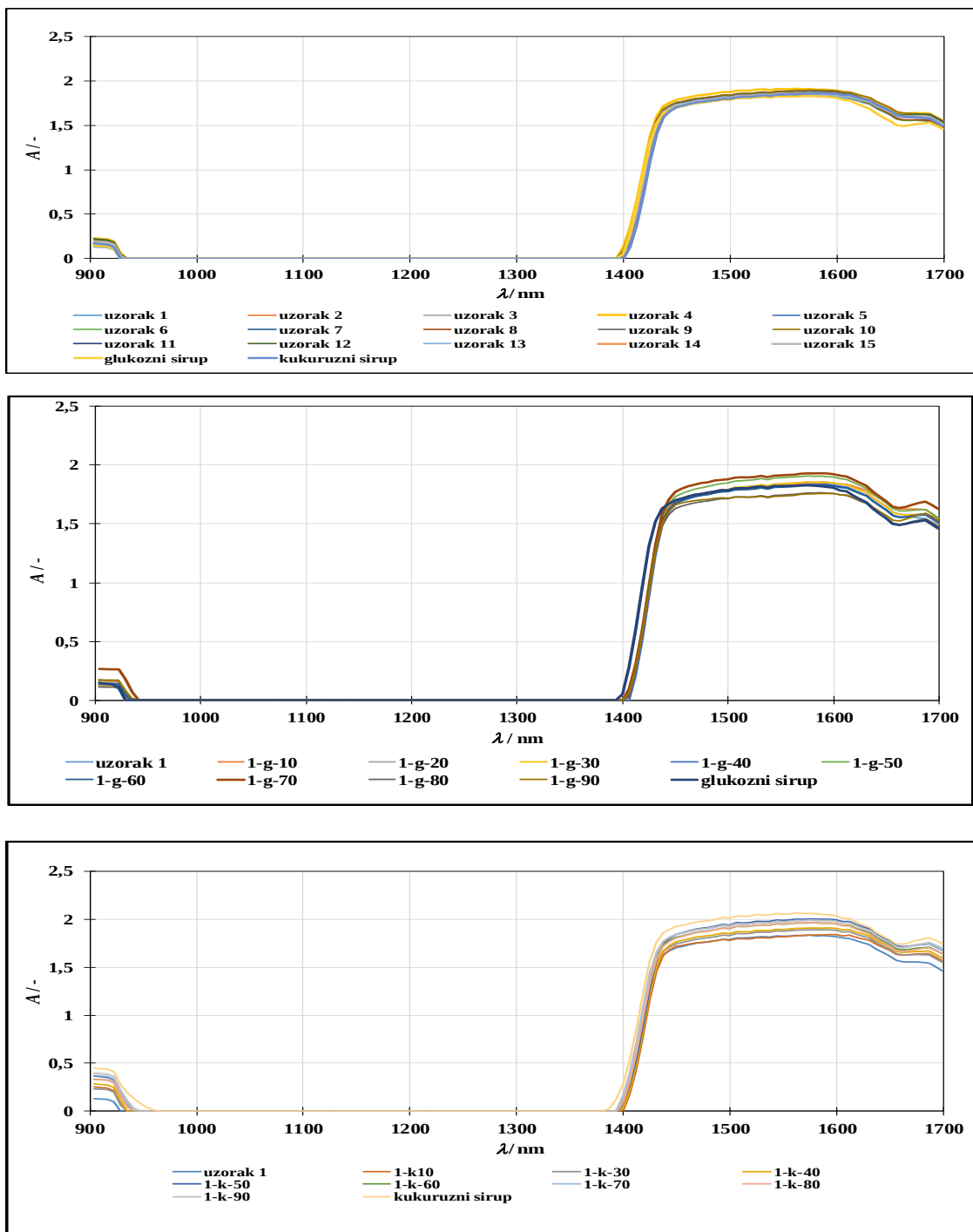
NIR apsorpcijski spektri sadrže veliki broj valnih duljina koje se na pojedinim mjestima preklapaju te radi izdvajanja korisnih informacija iz NIR spektralnih podataka, potrebni su alati za multivarijantnu analizu podataka kao što je PCA. Prikupljeni NIR spektri izvornih medova te pripremljenih patvorina analizirani su metodom glavnih komponenta (PCA). PCA metodom analizirali su se NIR spektri izvornih medova (slika 10) te iz dobivenog koordinatnog sustava možemo vidjeti da se razdvajanje uzoraka rasporedilo u dvije grupe pri čemu su one značajno odvojene. Kod NIR spektra patvorina s glukoznim sirupom (slika 11) može se uočiti grupiranje u tri grupe. Jednu čine izvorni medovi i korištene patvorine, drugo čine patvorine prvih par uzoraka medova, a treću preostali uzorci.

S druge pak strane, PCA analiza NIR spektara patvorina s kukuruznim sirupom (slika 12) nije rezultirala grupiranjem uzroka vjerojatno zbog korištenja cijelog raspona valnih duljina za analizu i to bez prethodnog procesiranja.

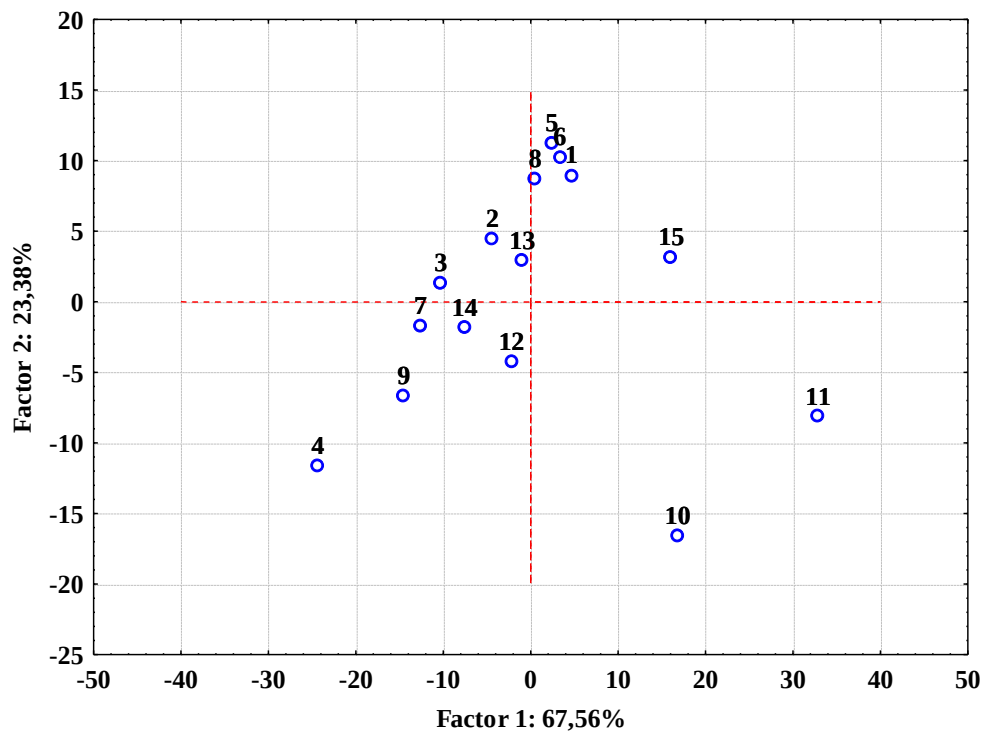
Rios-Corpio i sur. (2012) proveli su studiju u kojoj su 32 uzorka meda patvorili sa šest različitih komponenata za patvorenje. Patvorenje su detektirali pomoću infracrvene spektroskopije u srednjem infracrvenom području (*engl. Middle Infrared spectroscopy*, MIR). Uočene su razlike u spektrima patvorenih medova s obzirom na spektre izvornih meda s povećanjem udjela komponente za patvorenje. Provedena je i PCA analiza u kojoj se jako dobro vidi odvojenost

standardnih otopina glukoze, fruktoze i saharoze naspram izvornih medova u ovisnosti u udjelu dodanih standardnih otopina. Također su prikazali patvorenje s jeftinijim sirupima koja su prikazana u dvodimenzionalnom i trodimenzionalnom PCA dijagramu. U dvodimenzionalnom PCA dijagramu skoro pa se ne može uočiti razlika između dodanog sirupa invertnog šećera i sirupa šećerne trske, ali prikazom rezultata u trodimenzionalnom PCA dijagramu, bilo je vidljivo njihovo razdvajanje.

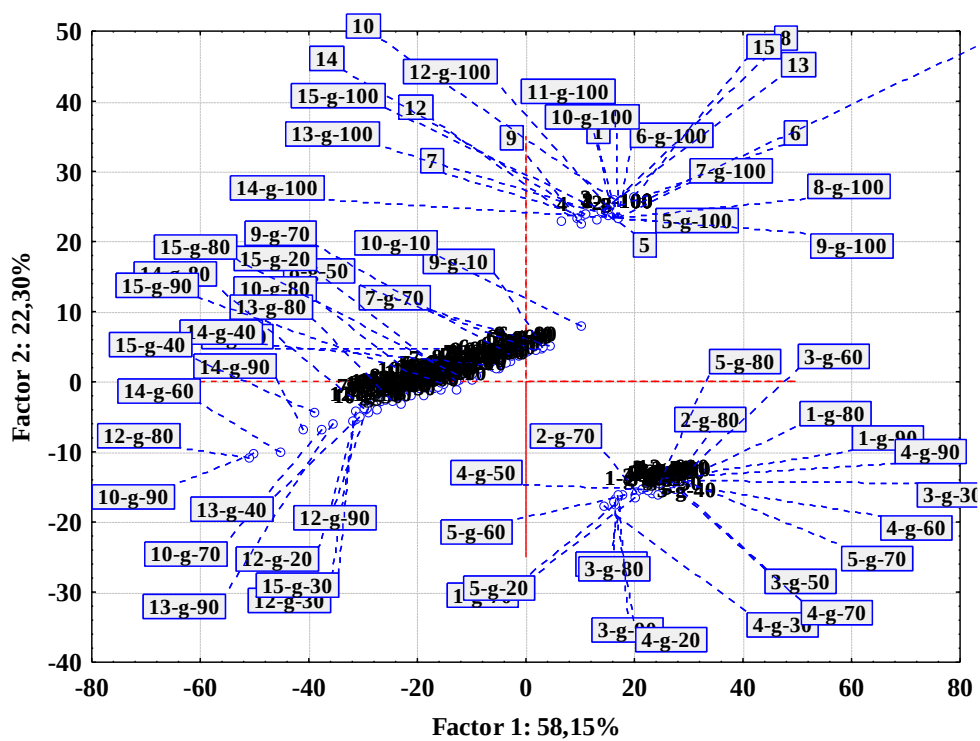
Kumaravelu i Gopal (2014) patvorili su uzorke meda s otopinom „Jaggery“ (tradicionalni indijski koncentrirani proizvod od šećerne trske) i detekciju patvorenja proveli su NIR spektroskopijom. Rezultate su prikazali u NIR spektru te su ih obradili PCA metodom. PCA metodu su proveli s prethodno procesiranim podacima s 5 glavnih komponenata. Došli su do zaključka da razvijeni model može predvidjeti koncentracije „Jaggeryja“ kvalitativno, kao i razvrstati različite uzorke meda. Također ove se tehnike mogu koristiti za praćenje kakvoće meda u smislu potvrde autentičnosti meda.



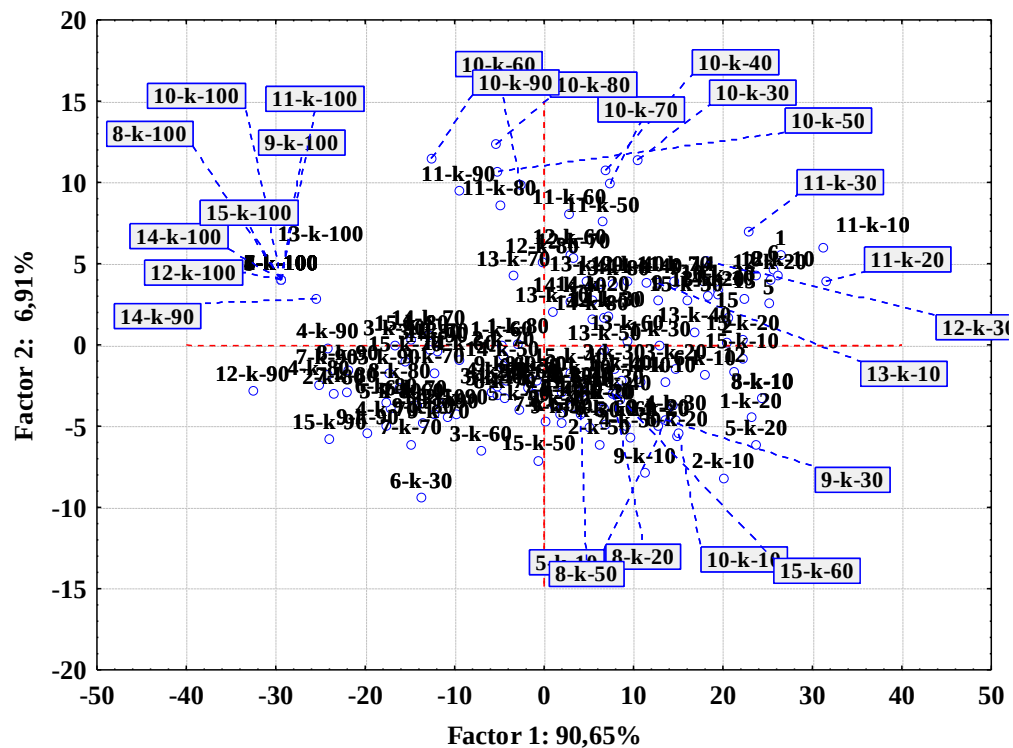
Slika 9. NIR spektri (a) analiziranih uzoraka meda te glukoznog i kukuruznog sirupa, (b) pripremljenih patvorina meda iz uzorka 1. - patvorine s glukoznim sirupom, (c) pripremljenih patvorina meda iz uzorka 1. - patvorine s kukuruznim sirupom



Slika 10. PCA analiza NIR spektra izvornih medova



Slika 11. PCA analiza NIR spektra patvorina s glukoznim sirupom



Slika 12. PCA analiza NIR spektra patvorina s kukuruznim sirupom

4.4. PLS MODELI ZA OPIS FIZIKALNO-KEMIJSKIH SVOJSTVA MEDOVA I PRIPREMLJENIH PATVORINA

U okviru ovog rada upotrijebljena je metoda parcijalne regresija metodom najmanjih kvadrata u svrhu dobivanja modela koji bi omogućio predikciju koncentracije dodane patvorine (glukoznog sirupa i kukuruznog sirupa) u medu na temelju NIR spektara uzoraka. Metodologija korištenja PLS modela na osnovu NIR spektra opisana je u literaturi na nekoliko primjera. U radu Frizon i sur., 2015 opisana je primjena NIR spektroskopije i multivarijantne analize za određivanje ukupnih polifenola u ekstraktima biljke mate, Gajdoš Kljusurić i sur., 2016. godine opisuju primjenu PLS modela korištenih su za predviđanje ukupnih polifenola i antioksidacijske aktivnosti bobičastog voća pomoću NIR spektara, dok se u radu Janči i sur., 2017. godine koriste PLS modeli za određivanje histamina u ribi na osnovu spektara dobivenih Ramanovom spektroskopijom. Korištenjem jednostavnih spektroskopskih metoda ubrzava se procesa analize uzoraka te se omogućava brzo i ponovljivo dobivanje rezultat bez predtretmana uzoraka.

U okviru ovoga rada u svrhu razvoja PLS modela korištene su valne duljine NIR spektara $\lambda = 904 - 1699$ nm bez prethodnog postupka predprocesiranja. Reprezentativnost korištenih modela ocjenjena je koeficijentom determinacije (R^2), standardnom pogreškom predikcije (SEP), korijenom standardne kvadratne pogreške predikcije (RMSEP) i omjerom standardne pogreške predikcije i standardne devijacije (RPD). Vrijednosti koeficijenta determinacije kreću se od 0 do 1, a što su bliže jedinici, to je model reprezentativniji. RMSEP mjeri prosječnu točnost predikcije, a SEP je mjera preciznosti predikcije tj. izraz pogreške koja se očekuje kada se kalibracijski model primjenjuje za predikciju novih uzoraka (Faber i Rajkó, 2007). RPD je jednostavan statistički pokazatelj koji se računa kao omjer standardne devijacije podataka iz skupa korištenog za učenje i SEP-a (Adedipe i sur., 2016). Poželjno je da RPD vrijednost bude što viša. Za modele koji se nastoje koristiti za kontrolu kvalitete, poželjno je da imaju SEP vrijednosti barem pet puta niže od standardne devijacije, odnosno da im je RPD vrijednost viša od 5. Prema Chang i sur. 2001, vrijednosti R^2 iznad 0,80 i RPD vrijednosti iznad 2 upućuju na izvrsnu predikciju modela, vrijednosti R^2 između 0,50 i 0,80 i RPD vrijednosti između 2,0 i 1,4 upućuju na model srednje kvalitete koji se može koristiti za kvantitativnu predikciju, dok se modeli vrijednosti R^2 ispod 0,50 i RPD vrijednost ispod 1,4 smatraju neupotrebljivima.

U tablici 24 prikazani su razvijeni PLS modeli za opis udjela patvorine glukoznog i kukuruznog sirupa u medu na temelju NIR spektra za svaki od 15 korištenih uzoraka meda. Razvijeni modeli za patvorine s glukoznim sirupom imali su koeficijent determinacije za kalibraciju u rasponu od 0,9572 do 0,9993, koeficijent determinacije za validaciju bio je u rasponu od 0,9264 do 0,9985, RMSEP za razvijene modele bio je u rasponu od 0,0001 % do 8,3894 %, SEP u rasponu od 0,0001 % do 8,5035 %, a RPD u rasponu od 3,6807 do 10,6255. Kod modela za opisa udjela patvorine s kukuruznim sirupom koeficijent determinacije za kalibraciju bio je u rasponu od 0,9771 do 0,9932, koeficijent determinacije za validaciju bio je u rasponu od 0,9553 do 0,9887, RMSEP za razvijene modele bio je u rasponu od 3,4974 % do 10,0621 %, SEP u rasponu od 3,5401 % do 10,2131 %, a RPD u 1,7958 do 5,4834. Analizirajući dobivene RPD vrijednosti može se uočiti da je samo za jedan model (kukuruzni sirup, uzorak 10) RPD vrijednost manja od 2,4 te bi svi ostali razvijeni modeli mogli imati primjenu u kvantitativnom probiru uzoraka meda s obzirom na udio dodane patvorine. Također niske vrijednosti pogrešaka upućuju na to da su razvijeni modeli robusni i pouzdani za primjenu na uzorcima koji nisu uključeni u model.

U literaturi postoji opis primjene PLS modela za analizu NIR spektra uzoraka meda, bilo izvornih medova bilo patvorina. Ferreira-González i sur., 2018 opisali su primjenu PLS modela za predikciju stupnja patvorenja meda iz Španjolske na temelju VIS-NIR spektra. U navedenom radu pripremljene su patvorine uzoraka meda s kukuruznim sirupom bogatim fruktozom u rasponu od 10 % do 90 % te je za razvijeni PLS model za predviđanje udjela dodane patvorine dobivena vrijednost koeficijenta determinacije za kalibraciju od 0,9990, koeficijenta determinacije za validaciju od 0,9855 te RMSEP od 4,71. Guelpa i sur., 2017 upotrijebili su PLS-DA analizu za razlikovanje izvornih medova i patvorina meda s šećernim otopinama (glukoza i fruktoza) na temelju NIR spektara te su predstavili točnost klasifikacije u rasponu od 93,3 % do 99,9 % ovisno o vrsti NIR instrumenta koji je korišten (uspoređena su tri NIR uređaja; laboratorijski uređaj, prijenosi uređaj i pokretni uređaj). Bázár i sur., 2016 također opisuju primjenu PLS modeliranja za detekciju dodataka kukuruznog sirupa u medu te navode da je model koji najbolje opisuje eksperimentalne podatke razvijen uzimajući u obzir raspon valnih duljina od $\lambda = 1300 - 1800$ nm koji sadrži adsorpcijske vrpce za vodu i ugljikohidrate. U radu Mouazen i Al-Walaan, 2014 prikazana je primjena VIS-NIR spektroskopije za detekciju koncentracije glukoze u uzorcima patvorenog meda. U svrhu razvoja modela navedeni autori opisuju pripremu patvorina meda s koncentracijama glukoze od 0, 5, 12, 19 i 33 g/100g. Za razvijeni PLS model za predviđanje udjela

dodane patvorine dobivena je vrijednost koeficijenta determinacije za kalibraciju od 0,8500, koeficijenta determinacije za validaciju od 0,780 te RMSEP od 2,06.

Tablica 24: PLS modeli za opis udjela dodane patvorine glukoznog sirupa i kukuruznog sirupa u medu na temelju NIR spektara

Patvorine s glukoznim sirupom							
uzorak	$R_{\text{kalibracija}}^2$	$R_{\text{validacija}}^2$	$RMSE_{\text{kalibracija}}$	$RMSE_{\text{validacija}}$	SEP	RMSEP	RPD
1	0,9681	0,9264	5,5032	8,1012	8,2314	8,1013	4,1162
2	0,9992	0,9985	0,0008	0,0011	0,0011	0,0011	4,6777
3	0,9975	0,9944	1,5512	2,6042	2,6315	2,6043	10,6255
4	0,9693	0,9372	5,5418	7,8509	7,9735	7,8510	4,1079
5	0,9936	0,9851	2,4275	3,9876	4,0079	3,9877	3,6807
6	0,9912	0,9843	2,9732	3,7163	3,7712	3,7163	4,9819
7	0,9956	0,9908	2,1066	2,9249	2,9695	2,9250	4,5392
8	0,9809	0,9777	4,3627	5,6152	5,6997	5,6152	4,7705
9	0,9931	0,9876	2,6252	3,7696	3,8272	3,7696	4,3865
10	0,9572	0,9404	6,5420	8,3894	8,5035	8,3894	4,7926
11	0,9745	0,9542	5,1050	7,1827	7,2866	7,1828	4,2920
12	0,9993	0,9982	0,8321	1,3051	1,3253	1,3051	4,0157
13	0,9825	0,9757	4,2239	5,2649	5,3451	5,2650	4,9256
14	0,9834	0,9751	4,0734	5,5470	5,6330	5,5470	4,6210
15	0,9834	0,9683	4,0734	5,7901	5,8730	5,7901	4,4322
Patvorine s kukuruznim sirupom							
uzorak	$R_{\text{kalibracija}}^2$	$R_{\text{validacija}}^2$	$RMSE_{\text{kalibracija}}$	$RMSE_{\text{validacija}}$	SEP	RMSEP	RPD
1	0,9870	0,9808	3,4798	4,6096	4,6758	4,6096	4,8183
2	0,9861	0,9790	3,7836	4,9131	4,9797	4,9131	4,8406
3	0,9845	0,9792	3,8270	4,2989	4,3677	4,2990	5,3231
4	0,9932	0,9868	2,5392	3,4974	3,5401	3,4974	4,6979
5	0,9891	0,9887	3,2983	3,7319	3,7898	3,7320	5,4302
6	0,9870	0,9771	3,6049	5,1728	5,2375	5,1728	4,2959
7	0,9839	0,9791	4,0089	4,9203	4,9923	4,9203	4,4422
8	0,9930	0,9858	2,6356	3,6952	3,7494	3,6952	4,9289
9	0,9842	0,9786	3,9752	4,9587	5,0344	4,9588	5,4834
10	0,9771	0,9725	4,7899	5,3028	5,3745	5,3029	1,7958
11	0,9921	0,9761	2,8682	5,1914	10,2131	10,0621	5,1545
12	0,9905	0,9851	3,0818	3,6261	3,6820	3,6261	4,0001
13	0,9830	0,9553	4,0787	6,5684	6,5999	6,5684	3,0199
14	0,9810	0,9594	4,3152	6,1756	9,2562	9,1280	2,9797
15	0,9793	0,9845	4,5408	9,6091	9,6091	9,6810	2,9342

4.5. MODELI NEURONSKIH MREŽA ZA OPIS FIZIKALNO-KEMIJSKIH SVOJSTVA MEDOVA I PRIPREMLJENIH PATVORINA

Primjena modeliranja pomoću neuronskih mreža sve se više primjenjuje u području biotehničkih znanosti. Neuronske mreže pokazale su se kao izuzetno koristan alat u kontroli kvalitete hrane i sigurnosti hrane gdje svoju primjenu pokazuju u modeliranju rasta mikrobnih populacija predviđajući na temelju toga sigurnost pojedinih skupina namirnica, te predviđajući fizikalne, kemijske te senzorske karakteristike različitih namirnica na temelju različitih procesa proizvodnje i pripreme (Delgado i sur. 2016). Razvoj neuronskih mreža obično zahtjeva veći uzorak kako bi se mogao izgraditi mrežni model, a odlikuju ih fleksibilni i jednostavni algoritmi, raznolika mrežna topologija i visoka tolerancija pogrešaka.

U okviru ovog rada, u svrhu modeliranja fizikalnih svojstava medova i pripremljenih patvorina razvijene su višeslojne perceptronske neuronske mreže. Kao ulazne veličine za razvoj neuronske mreže odabrane su koordinate prvih pet faktora analize glavnih komponenta NIR spektara koji doprinose ukupnoj varijanci s više od 99 %, dok su izlazne veličini bile (i) udio patvorine u patvorinama s glukoznim sirupom te patvorinama s kukuruznim sirupom te (ii)) udio patvorine u patvorinama s glukoznim sirupom te patvorinama s kukuruznim sirupom, udio vode, vodljivost i koordinate boje (L^* , a^* , b^*).

Karakteristike neuronskih mreža za opis udjela dodane patvorine glukoznog sirupa na temelju NIR spektara za svaki od uzorak meda prikazane su u tablici 25. Analizom rezultata može su uočiti da odabrane mreže osiguravaju dobro slaganje između eksperimentalnih vrijednosti i modelom predviđenih vrijednosti na razini učenja, testiranja i validacije jer su za svih 15 uzoraka koeficijenti determinacije na sve tri razine (učenje, testiranje validacija) viši od 0,9 a pogreške modela niske ($RMSE < 0,01$). Na temelju vrijednosti koeficijenta determinacije može se zaključiti da je najbolje slaganje između modela i eksperimenta dobiveno za opis udjela patvorine u uzorku meda 2. Na temelju preciznosti i pogreške validacije kao optimalna mreža za opis udjela patvorine u uzorku 2 izabrana je mreža MPL 5-4-1. Mrežu karakteriziraju 5 neurona u ulaznom sloju, 4 neurona u skrivenom sloju te 1 neuron u izlaznom sloju. Kao skrivena aktivacijska funkcija dolazi logistička funkcija, dok kao izlazna aktivacijska funkcija dolazi funkcija identiteta. Odabrana arhitektura

neuronske mreže osigurava slaganje između eksperimenta i modela na razini učenja u iznosu od $R^2 = 0,9950$, na razini testiranja od $R^2 = 0,9991$ te na razini validacije od $R^2 = 0,9999$ (tablica 25).

S obzirom da je u okviru ovog rada pripremljeno 135 uzoraka patvorina s glukoznim sirupom i za svakog od njih su snimljeni NIR spektri u tri paralele te određena fizikalna svojstva, razvijene su također i neuronske mreže za simultani opis udjela dodane patvorine, udjela vode, vodljivosti i koordinata boje (L^* , a^* , b^*) na temelju koordinata faktora analize osnovnih komponenata NIR spektra svih pripremljenih uzoraka patvorina s glukoznim sirupom. Karakteristike razvijenih višeslojne perceptronske neuronskih mreža prikazane su u tablici 26. Na temelju preciznosti učenja od $R^2 = 0,8647$ i pogreške validacije od $R^2 = 0,0711$ kao optimalna mreža izabrana je mreža MPL 5-5-6 (tablica 27). Mrežu karakteriziraju 5 neurona u ulaznom sloju, 5 neurona u skrivenom sloju te 6 neurona u izlaznom sloju. Kao skrivena aktivacijska funkcija i kao izlazna aktivacijska funkcija dolazi eksponencijalna funkcija. Odabrana arhitektura neuronske mreže osigurava slaganje između eksperimenta i modela za udio dodane patvorine u iznosu od $R^2 = 0,8313$, za udio vode u iznosu od $R^2 = 0,8384$, za a^* koordinatu boje u iznosu od $R^2 = 0,8594$ te za b^* koordinatu boje u iznosu od $R^2 = 0,8248$ na razini validacije. Nešto lošije slaganja na razini validacije dobiveno je za vodljivost ($R^2 = 0,7773$) i za L^* koordinatu boje ($R^2 = 0,7352$).

Karakteristike neuronskih mreža za opis udjela dodane patvorine kukuruznog sirupa na temelju NIR spektara za svaki od uzorak meda prikazane su u tablici 28. Analizom rezultata može su uočiti da odabrane mreže osiguravaju dobro slaganje između eksperimentalnih vrijednosti i modelom previđenih vrijednosti na razini učenja, testiranja i validacije jer su za svih 15 uzoraka koeficijenti determinacije na sve tri razine (učenje, testiranje validacija) viši od 0,9 a pogreške modela niske ($RMSE < 0,01$). Na temelju vrijednosti koeficijenta determinacije može se zaključiti da je najbolje slaganje između modela i eksperimenta dobiveno za opis udjela patvorine u uzorku meda 14. Na temelju preciznosti i pogreške validacije kao optimalna mreža za opis udjela patvorine u uzorku 14 izabrana je mreža MPL 5-5-1. Mrežu karakteriziraju 5 neurona u ulaznom sloju, 5 neurona u skrivenom sloju te 1 neuron u izlaznom sloju. Kao skrivena aktivacijska funkcija dolazi eksponencijalna funkcija, dok kao izlazna aktivacijska funkcija dolazi funkcija identiteta. Odabrana arhitektura neuronske mreže osigurava slaganje između eksperimenta i modela na razini učenja u iznosu od $R^2 = 0,9999$, na razini testiranja od $R^2 = 0,9999$ te na razini validacije od $R^2 = 0,9999$ (tablica 28). Usporedbom rezultata s pokaznim rezultatima za patvorine s glukoznom

sirupom (tablica 25) može se zaključiti da u slučaju patvorina s kukuruznim sirupom postoji bolje slaganje između eksperimentalnih vrijednosti i modelom predviđenih vrijednosti za udio dodane patvorine.

Kao i za uzorke s glukoznim sirupom i s kukuruznim sirupom je pripremljeno 135 uzoraka patvorina (po 9 koncentracija u rasponu od 10 % do 90 % za svaki od 15 uzoraka) i za svakog od njih su snimljeni NIR spektri u tri paralele te određena fizikalna svojstva te razvijene i neuronske mreža za simultani opis udjela dodane patvorine, udjela vode, vodljivosti i koordinata boje (L^* , a^* , b^*) na temelju koordinata faktora analize osnovnih komponenata NIR spektra svih pripremljenih uzoraka patvorina s kukuruznim sirupom. Karakteristike razvijenih višeslojne perceptronske neuronskih mreža prikazane su u tablici 29. Na temelju preciznosti učenja od $R^2 = 0,9923$ i pogreške validacije od $R^2 = 0,1137$ kao optimalna mreža izabrana je mreža MPL 5-8-6 (tablica 29). Mrežu karakteriziraju 5 neurona u ulaznom sloju, 8 neurona u skrivenom sloju te 6 neurona u izlaznom sloju. Kao skrivena aktivacijska funkcija dolazi eksponencijalna funkcija, dok kao izlazna aktivacijska funkcija dolazi funkcija identiteta. Odabrana arhitektura neuronske mreže osigurava slaganje između eksperimenta i modela za udio dodane patvorine u iznosu od $R^2 = 0,9980$, za udio vode u iznosu od $R^2 = 0,9888$, za vodljivost ($R^2 = 0,9970$), za L^* koordinatu boje ($R^2 = 0,9915$), za a^* koordinatu boje u iznosu od $R^2 = 0,9833$ te za b^* koordinatu boje u iznosu od $R^2 = 0,9811$ na razini validacije (tablica 30). U usporedbi s rezultatima dobivenim za patvorine s glukoznim sirupom, kod uzoraka s kukuruznim sirupom uočeno je bolje slaganje između modela i eksperimenta što se najvjerojatnije može objasniti homogenošću pripremljenih uzoraka. Naime zbog razlike u gustoći izvornih medova i korištenog glukoznog sirupa bilo je teško osigurati homogenost pripremljenih patvorina posebno onih s visokim udjelom dodanog glukoznog sirupa.

U literaturi su dostupni brojni primjer uporabe neuronskih mreža za analizu uzorka meda, posebno na području klasifikacije podrijetla medova. Benedetti i sur., 2004 prikazali su primjenu neuronskih mreža na podacima prikupljenim elektronskim nosom u cilju klasifikacije botaničkog i geografskog podrijetla medova. U radu Liang i sur., 2013 opisana je primjena neuronskih mreža za klasifikaciju cvjetnih vrsta medova na temelju NIR spektra. Rezultati pokazuju da za specifično područje valnih duljina model neuronskih mreža omogućava 100 % klasifikaciju medova. Minaei i sur., 2017 su također opisali učinkovitu primjenu neuronskih mreža za analizu podrijetla meda na temelju VIS-NIR spektara. Primjer razvoja nedestruktivne metode karakterizacije meda (eng.

computer vision system) na temelju boje opisan je u radu Shafiee i sur., 2014. Navodi se primjena neuronskih mreža za predikciju udjela pepela, antioksidacijske aktivnosti i ukupnih polifenola na temelju koordinata boje dobivenih analizom slika uzoraka meda.

Tablica 25. Neuronske mreže odabrane za opis udjela dodane patvorine glukoznog sirupa u medu na temelju NIR spektara

uzorak	mreža	Preciznost učenja	Preciznost testiranja	Preciznost validacije	Pogreška učenja	Pogreška testiranja	Pogreška validacije	Skrivena aktivacijska funkcija	Izlazna aktivacijska funkcija
1	MLP 5-4-1	0,9706	0,9998	0,9826	0,0024	0,0005	0,0054	Eksponecijalna funkcija	tanh
2	MLP 5-4-1	0,9950	0,9991	0,9999	0,0005	0,0003	0,0003	Logistička funkcija	Funkcija identiteta
3	MLP 5-4-1	0,9926	0,9998	0,9987	0,0007	0,0001	0,0002	Eksponecijalna funkcija	Logistička funkcija
4	MLP 5-4-1	0,9966	0,9995	0,9998	0,0003	0,0001	0,0001	tanh	Logistička funkcija
5	MLP 5-5-1	0,9998	0,9999	0,9989	0,0009	0,0001	0,0001	Eksponecijalna funkcija	Logistička funkcija
6	MLP 5-5-1	0,9906	0,9993	0,9832	0,0008	0,0021	0,0026	Logistička funkcija	Eksponecijalna funkcija
7	MLP 5-6-1	0,9981	0,9997	0,9999	0,0002	0,0001	0,0001	tanh	Funkcija identiteta
8	MLP 5-5-1	0,9970	0,9962	0,9916	0,0003	0,0012	0,0016	tanh	tanh
9	MLP 5-5-1	0,9877	0,9997	0,9839	0,0011	0,0001	0,0022	tanh	Funkcija identiteta
10	MLP 5-3-1	0,9829	0,9976	0,9923	0,0016	0,0013	0,0016	Eksponecijalna funkcija	Logistička funkcija
11	MLP 5-4-1	0,9996	0,9999	0,9955	0,0004	0,0001	0,0007	Eksponecijalna funkcija	Logistička funkcija
12	MLP 5-5-1	0,9980	0,9999	0,9989	0,0002	0,0002	0,0002	Eksponecijalna funkcija	Logistička funkcija
13	MLP 5-5-1	0,9890	0,9999	0,9931	0,0011	0,0002	0,0015	Eksponecijalna funkcija	Eksponecijalna funkcija
14	MLP 5-4-1	0,9869	0,9993	0,9856	0,0011	0,0001	0,0068	tanh	Funkcija identiteta
15	MLP 5-3-1	0,9997	0,9999	0,9999	0,0002	0,0003	0,0001	Eksponecijalna funkcija	Logistička funkcija

Tablica 26. Neuronske mreže odabrane za opis fizikalno-kemijskih svojstava patvorina meda s glukoznim sirupom na temelju NIR spektara

mreža	Preciznost učenja	Preciznost testiranja	Preciznost validacije	Pogreška učenja	Pogreška testiranja	Pogreška validacije	Skrivena aktivacijska funkcija	Izlazna aktivacijska funkcija
MLP 5-4-6	0,8551	0,8505	0,8586	0,0997	0,0761	0,0728	logistička funkcija	logistička funkcija
MLP 5-10-6	0,8845	0,8849	0,8887	0,0787	0,0683	0,0698	tanh	tanh
MLP 5-7-6	0,8497	0,8916	0,8557	0,1114	0,0794	0,0698	tanh	tanh
MLP 5-5-6	0,8647	0,8487	0,8813	0,0857	0,0736	0,0711	eksponencijalna funkcija	eksponencijalna funkcija
MLP 5-5-6	0,8112	0,8793	0,8984	0,0932	0,0776	0,0725	eksponencijalna funkcija	eksponencijalna funkcija

Tablica 27. Koeficijenti korelacije za predikciju fizikalno-kemijskih svojstava patvorina meda s glukoznim sirupom na temelju NIR spektra na osnovu neuronske mreža MLP 5-5-6

	R^2		
	učenje	testiranje	validacija
udio patvorine	0,8369	0,8097	0,8313
udio vode	0,8398	0,8317	0,8384
<i>TDS</i>	0,8086	0,7822	0,7773
<i>L*</i>	0,7929	0,8275	0,7352
<i>a*</i>	0,8714	0,8939	0,8594
<i>b*</i>	0,8173	0,7957	0,8248

Tablica 28. Neuronske mreže odabrane za opis udjela dodane patvorine kukuruznog sirupa u medu na temelju NIR spektara

uzorak	mreža	Preciznost učenja	Preciznost testiranja	Preciznost validacije	Pogreška učenja	Pogreška testiranja	Pogreška validacije	Skrivena aktivacijska funkcija	Izlazna aktivacijska funkcija
1	MLP 5-3-1	0,9914	0,9989	0,9972	0,0007	0,0004	0,0010	logistička funkcija	eksponencijalna funkcija
2	MLP 5-11-1	0,9990	0,9991	0,9975	0,0001	0,0001	0,0005	logistička funkcija	eksponencijalna funkcija
3	MLP 5-5-1	0,9994	0,9999	0,9999	0,0001	0,0001	0,0001	tanh	tanh
4	MLP 5-5-1	0,9909	0,9994	0,9952	0,0007	0,0002	0,0011	tanh	eksponencijalna funkcija
5	MLP 5-7-1	0,9985	0,9999	0,9975	0,0001	0,0001	0,0003	tanh	funkcija identiteta
6	MLP 5-6-1	0,9992	0,9995	0,9998	0,0001	0,0001	0,0001	eksponencijalna funkcija	eksponencijalna funkcija
7	MLP 5-3-1	0,9978	0,9999	0,9998	0,0002	0,0001	0,0001	logistička funkcija	tanh
8	MLP 5-8-1	0,9997	0,9998	0,9999	0,0001	0,0002	0,0007	tanh	tanh
9	MLP 5-3-1	0,9966	0,9999	0,9993	0,0003	0,0004	0,0004	tanh	logistička funkcija
10	MLP 5-8-1	0,9963	0,9999	0,9993	0,0003	0,0001	0,0002	tanh	logistička funkcija
11	MLP 5-5-1	0,9929	0,9997	0,9998	0,0007	0,0005	0,0007	tanh	funkcija identiteta
12	MLP 5-4-1	0,9960	0,9983	0,9976	0,0003	0,0003	0,0007	eksponencijalna funkcija	logistička funkcija
13	MLP 5-7-1	0,97708	0,9985	0,9620	0,0022	0,0002	0,0070	logistička funkcija	logistička funkcija
14	MLP 5-5-1	0,9999	0,9999	0,9999	0,0001	0,0001	0,0001	eksponencijalna funkcija	funkcija identiteta
15	MLP 5-6-1	0,9943	0,9985	0,9911	0,0004	0,0002	0,0023	eksponencijalna funkcija	tanh

Tablica 29. Neuronske mreže odabrane za opis fizikalno-kemijskih svojstava patvorina meda s kukuruznim sirupom na temelju NIR spektara

mreža	Preciznost učenja	Preciznost testiranja	Preciznost validacije	Pogreška učenja	Pogreška testiranja	Pogreška validacije	Skrivena aktivacijska funkcija	Izlazna aktivacijska funkcija
MLP 5-8-6	0,9804	0,9789	0,9772	0,0128	0,0047	0,1300	logistička funkcija	funkcija identiteta
MLP 5-4-6	0,9873	0,9861	0,9855	0,0080	0,0013	0,0753	tanh	funkcija identiteta
MLP 5-8-6	0,9624	0,9654	0,9552	0,0251	0,0107	0,1156	logistička funkcija	tanh
MLP 5-8-6	0,9923	0,9871	0,9751	0,0051	0,0028	0,1137	eksponencijalna funkcija	funkcija identiteta
MLP 5-5-6	0,9892	0,9788	0,9789	0,0081	0,0015	0,1696	logistička funkcija	logistička funkcija

Tablica 30. Koeficijenti korelacije za predikciju fizikalno-kemijskih svojstava patvorina meda s kukuruznim sirupom na temelju NIR spektra na osnovu neuronske mreža MLP 5-8-6

	R^2		
	učenje	testiranje	validacija
udio patvorine	0,9993	0,9985	0,9980
udio vode	0,9973	0,9898	0,9888
S	0,9989	0,9977	0,9970
L^*	0,9928	0,9911	0,9915
a^*	0,9834	0,9838	0,9833
b^*	0,9818	0,9808	0,9811

5. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultat istraživanja mogu se postaviti slijedeći zaključci:

- (1) Analiza fizikalno-kemijskih svojstava 15 uzoraka izvornih medova bagrema pokazuju da su analizirani uzorci izvornih medova u skladu s Pravilnikom o medu.
- (2) Dodatak glukoznog sirupa uzrokuje smanjenje vodljivosti uzoraka meda, dok dodatak kukuruznog sirupa ima za posljedicu porast električne vodljivosti patvorina meda.
- (3) Analizom rezultata pomoću metode parcijalne regresije metodom najmanjih kvadrata omogućena je predikcija koncentracije dodane patvorine. Iz dobivenih RPD vrijednosti može se uočiti da je samo za jedan model (kukuruzni sirup, uzorak 10) RPD vrijednost manja od 2,4 te bi svi ostali razvijeni modeli mogli imati primjenu u kvantitativnom probiru uzoraka meda s obzirom na udio dodane patvorine. Također niske vrijednosti pogrešaka upućuju na to da su razvijeni modeli robusni i pouzdani za primjenu na uzorcima koji nisu uključeni u model.
- (4) Rezultati također upućuju da razvijene neuronske mreže osiguravaju dobro slaganje između eksperimentalnih vrijednosti i modelom predviđenih vrijednosti na razini učenja, testiranja i validacije jer su za svih 15 uzoraka koeficijenti determinacije na sve tri razine (učenje, testiranje validacija) viši od 0,9 a pogreške modela niske ($RMSE < 0,01$) te se mogu koristiti za predikciju udjela patvorine i opis fizikalno-kemijskih svojstava patvorina meda na temelju NIR spektra

6. LITERATURA

Abdi, H., Williams, L.J. (2010) Principal components analysis. John Wiley & Sons, Inc. *WIREs Comp Stat.* **2**, 433-459.

Adedipe, O. E., Johanningsmeier, S. D., Truong V-D., Yencho, G. C. (2016) Development and Validation of a Near-Infrared Spectroscopy Method for Prediction of Acrylamide Content in French-Fried Potato. *J. Agr. Food Chem.* **64**, 1850-1860.

Alvarez-Suárez, J. M., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E., Battino, M. (2010) Contribution of honey in nutrition and human health, a review. *Mediterr. J Nutr. Metab.* **3**, 15–23.

Balen, A. (2003) Pčelarstvo u Petrinji: 1952-2002. Pčelarska udruga, Petrinja.

Bázár, G., Romvári, R., Szabó, A., Somogyi, T., Éles, V., Tsenkova, R. (2016). NIR detection of honey adulteration reveals differences in water spectral pattern. *Food Chem.* **194**, 873–880.

Basri, K. N., Hussain, M. N., Bakar, J., Sharif, Z., Khir, M. F. A., Zoolfakar, A. S. (2017) Classification and quantification of palm oil adulteration via portable NIR spectroscopy. *Spectrochim. Acta A*, **173**, 335–342.

Benedetti S., Mannino S., Sabatini, A.G., Marcazzan G. (2004) Electronic nose and neural network use for the classification of honey. *Apidologie*, **35**, 397-402.

Bettar, I., González-Miret, M. L., Hernanz, D., Marconi, A., Heredia, F. J., Terrab, A. (2015) Characterisation of Moroccan Spurge (*Euphorbia*) honeys by their physicochemical characteristics, mineral contents and colour. *Arab. J. Chem.* (in press)1-9.

Bogdanov, S., Lüllmann, C., Martin, P. (1999) Honey quality, methods of analysis and international regulatory standards: Review of the work of the International Commission. *Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmittel-untersuchung und Hygiene.* **90**, 108-125.

Boussaid, A., Chouaibi, M., Rezig, L., Hellal, R., Donsì, F., Ferrari, G., & Hamdi, S. (2014) Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. *Arab. J. Chem.* **11**, 265–274.

Brereton, R.G., (2007) Applied chemometrics for scientists. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, England, str.147.

Chang, C.W., Laird, D.A., Mausbach, M.J., Hurburgh, C.R. Jr. (2001) Near-Infrared Reflectance Spectroscopy - Principal Components Regression Analyses of Soil Properties. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **65**, 480–490.

Ciulu, M., Solinas, S., Floris, I., Panzanellia, A., Pilo, M. I., Piu, P. C., Spano N., Sanna G. (2011) RP-HPLC determination of water-soluble vitamins in honey. *Talanta*, **83**, 924–929.

da Silva, P.M., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Oliveira Costa, A.C., Fett, R. (2015) Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chem.* **196**, 309-323.

Delgado, A., Rauh, C., Park, J., Kim, Y., Groß, F., Diez, L. (2016) Artificial Neural Networks: Applications in Food Processing. Reference Module in Food Science. Elsevier Inc.

Djuris, J., Ibric, S., Djuric, Z., (2013) Chemometric methods application in pharmaceutical products and processes analysis and control, U: Computer-Aided Applications in Pharmaceutical Technology, (Djuris J., ured.) Woodhead Publishing, Cambridge, str. 57-90.

Downey, G. (2013) Vibrational spectroscopy in studies of food origin. U: Brereton, R.G., ur. New Analytical Approaches for Verifying the Origin of Food. Woodhead Publishing. str. 94-116.

Dramićanin, T., Lenhardt Acković, L., Zeković, I., Dramićanin, M. D. (2018) Detection of Adulterated Honey by Fluorescence Excitation-Emission Matrices. *Journal of Spectrosc.* **2018**, 1–6.

Etzold, E., Lichtenberg-Kraag, B. (2008) Determination of the botanical origin of honey by Fouriertransformed infrared spectroscopy: an approach for routine analysis. *Eur. Food Res. Technol.* **227**, 579-586.

Faber, N.M., Rajko, R. (2007) How to avoid over-fitting in multivariate calibration - The conventional validation approach and an alternative. *Anal. Chim Acta* **595**, 98–106.

Ferreiro-González, M., Espada-Bellido, E., Guillén-Cueto, L., Palma, M., Barroso, C.G., Barbero, G.F. (2018) Rapid quantification of honey adulteration by visible-near infrared spectroscopy combined with chemometrics. *Talanta*, **188**, 288-292.

Findlay, W.P., Bugay, D.E., (1998) Utilization of Fourier transform-Raman spectroscopy for the study of pharmaceutical crystal forms. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **16**, 921-930.

Frizon, C.N., Oliveira, G.A., Perussello, C.A., Peralta-Zamora, P.G., Camlofski, A.M., Rossa, Übersen B., Hoffmann-Ribani, R., (2015) Determination of total phenolic compounds in yerba mate (*Ilex paraguariensis*) combining near infrared spectroscopy (NIR) and multivariate analysis. *LWT - Food Sci. Technol.* **60**, 795-801.

Gajdoš Kljusurić, J., Mihalev, K., Bečić, I. Polović, I., Georgieva, M., Djaković, S. Kurtanek, Ž. (2016) Near-infrared spectroscopic analysis of total phenolic content and antioxidant activity of berry fruits. *Food Technol. Biotechnol.* **54**, 236-242.

Gallina, A., Stocco, N., Mutinelli, K. (2010) Karl Fischer titration to determine moisture in honey: A new simplified approach. *Food Control*, **21**, 942–944.

Gardner, M.W., Dorling, S.R., (1998) Artificial neural networks (the multilayer perceptron)—a review of applications in the atmospheric sciences, *Atmos. Environ.* **32**, 2627–2636.

González-Miret, M.L., Terrab, A., Hernanez D., Fernández-Recamales, M.A., Hereida, F.J. (2005) Multivariate correlation between colour and mineral composition of honeys and by their botanical origin. *J. Agric. Food Chem.* **53**, 2574–2580.

Guelpa, A., Marini, F., du Plessis, A., Slabbert, R., & Manley, M. (2017) Verification of authenticity and fraud detection in South African honey using NIR spectroscopy. *Food Control*, **73**, 1388-1396.

Guler, A., Bakan, A., Nisbet, C., Yavuz, O. (2007) Determination of important biochemical properties of honey to discriminate pure and adulterated honey with sucrose (*Saccharum officinarum* L.) syrup. *Food Chem.* **105**, 1119–1125.

Héberger, K. (2008) Chemoinformatics—multivariate mathematical–statistical methods for data evaluation, (Vékey, K., Telekes, A., Vertes A., ured.), *Medical Applications of Mass Spectrometry*, str. 141-169.

Huang, Y., Xiao, D., Burton-Freeman, B. M., Edirisinghe, I. (2016) Chemical Changes of Bioactive Phytochemicals during Thermal Processing. Reference Module in Food Science, Elsevier Inc.

Janči, T., Valinger, D. Gajdoš Kljusurić, J. Mikac, L. Vidaček, S. Ivanda, M. (2017) Determination of histamine in fish by Surface Enhanced Raman Spectroscopy using silver colloid SERS substrates. *Food Chem.* **224**, 48-54.

Jednačak, T., Novak, P. (2013) Procesne analitičke tehnike temeljene na vibracijskoj spektroskopiji in-line i primjena u industriji. *Kem. u Ind.* **62**, 71–80.

Karabagias, I. K., Badeka, A., Kontakos, S., Karabournioti, S., & Kontominas, M. G. (2014). Characterisation and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics. *Food Chem.* **146**, 548-557.

Karoui, R., Mazerolles, G., & Dufour, E. (2003). Spectroscopic techniques coupled with chemometric tools for structure and texture determinations in dairy products. *Int. Dairy J.* **13**, 607–620.

Liang, X. Y., Li, X. Y., Wu, W. J. (2012) Classification of floral origins of honey by NIR and chemometrics. *Adv. Mater. Res.* **605–607**, 905–909.

Krell, R. (1996) Value-added products from beekeeping. Ch. 2. FAO Agricultural Services Bulletin No. 124. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Kumaravelu, C., Gopal, A. (2015). Detection and Quantification of Adulteration in Honey through Near Infrared Spectroscopy. *Int. J. of Food Prop.* **18**, 1930–1935.

Mabood, F., Jabeen, F., Ahmed, M., Hussain, J., Al Mashaykhi, S.A.A., Al Rubaiey, Z.M.A., Farooq, S., Boqué, R., Ali, L., Hussain, Z., Al-Harrasi, A., Latif khan, A., Naureen, Z., Idrees, M., Manzoor, S., (2016) Development of new NIR-spectroscopy method combined with multivariate analysis for detection of adulteration in camel milk with goat milk, *Food Chem.* **221**, 746–750.

- Machado De-Melo, A. A., de Almeida-Muradian, L. B., Sancho, M. T., Pascual-Maté, A. (2017) Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *J Apicult. Res.* **57**, 5–37.
- Matijević, B., Blažić, M. (2008) Primjena spektroskopskih tehnika i kemometrijskih metoda u tehnologiji mlijeka. *Mljekarstvo*, **58**, 151-169.
- Meda, A., Lamien, C.E., Millogo, J., Romito, M., Nacoulma, O.G. (2005) Physicochemical analyses of Burkina Fasan honey. *Acta Vet. Brno*, **74**, 147-152.
- Mendes, T. O., da Rocha, R. A., Porto, B. L. S., de Oliveira, M. A. L., dos Anjos, V. de C., Bell, M. J. V. (2015) Quantification of Extra-virgin Olive Oil Adulteration with Soybean Oil: a Comparative Study of NIR, MIR, and Raman Spectroscopy Associated with Chemometric Approaches. *Food Anal. Method.*, **8**, 2339–2346.
- Mehryar L., Esmaili M. (2011) Honey & Honey Adulteration Detection: A Review., 11th International Congress on Engineering and Food, 1–6.
- Minaei, S., Shafiee S., Polder G., Moghadam-Charkari N., van Ruth S., Barzegar M., Zahiri, J., Alewijn M., Kuś, P.M. (2017) VIS/NIR imaging application for honey floral origin determination. *Infrared Phys. Techn.* **86**, 218-225.
- Mouazen, A.M., Al-Walaan, N. (2014) Glucose Adulteration in Saudi Honey with Visible and Near Infrared Spectroscopy. *Int. J. Food Prop.* **17**, 2263-2274.
- Nicolai, B.M., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K.I., Lammertyn, J. (2007) Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIRspectroscopy: A review. *Postharvest Biol. Tec.* **46**, 99-118.
- Osborne, B.G. (2006) Near-infrared Spectroscopy in Food Analysis, Encyclopedia of Analytical Chemistry, John Wiley & Sons, Ltd.
- Ozaki, Y., Genkawa, T., Futami, Y. (2017) Near-Infrared Spectroscopy. Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry. 40–49.
- Primorac, Lj., Flanjak, I., Kenjeric, D., Bubalo, D., Topolnjak, Z. (2011) Specific rotation and carbohydrate profile of Croatian unifloral honeys. *Czech J. Food Sci.*, **29**: 515–519.

Pravilnik o medu (2015) Narodne novine **53**, Zagreb.

Radman, M., Jurina, T., Benković, M., Jurinjak TUšek, A., Valinger, D. i Gajdoš Kljusurić, J. (2018). Application of NIR spectroscopy in gluten detection as a cross-contaminant in food. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*, **13**, 120-127.

Rios-Corripio, M.A., Rojas-López, M., Delgado-Macuil, R. (2012) Analysis of adulteration in honey with standard sugar solutions and syrups using attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectroscopy and multivariate methods. *CyTA-Journal of Food*, **10**, 119-122.

Ropciuc S., Oroian M., Olariu, V. (2017) Impact of adulteration with glucose, fructose and hydrolysed inulin syrup on honey physicochemical properties. *Food and Environment Safety*, **16**, 54– 60.

Sanz, M.L., Sanz, J., Martínez-Castro, I. (2004) Gas chromatographic-mass spectrometric method for the qualitative and quantitative determination of disaccharides and trisaccharides in honey. *J. Chromatog A*, **1059**, str. 143-148.

Shafiee, S., Minaei, S., Moghaddam-Charkari, N., Barzegar, M. (2014) Honey characterization using computer vision system and artificial neural networks. *Food Chem.* **159**, 143–150.

Shapla, U.M., Solayman, M., Alam, N., Khalil, M.I., Gan, S.H. (2018) 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: Effects on bees and human health. *Chem. Cent. J.* **12** : 35.

Siddiqui, A.J., Musharraf, S.G., Iqbal Choudhary, M., Rahman, A-u. (2016) Application of Analytical Methods in Authentication and Adulteration of Honey. *Food Chem.* **217**, 687-698.

Singhal, R.S., Kulkarni, P.R., Rege, D.V. (1997) Handbook of indices of food quality. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, str. 358-379.

Soares, S., Amaral, J. S., Oliveira, M. B. P. P., Mafra, I. (2017) A Comprehensive Review on the Main Honey Authentication Issues: Production and Origin. *Compr. Rev. Food Sci. F.* **16**, 1072–1100.

Vahčić, N., Matković, D. (2009) Kemijske, fizikalne i senzorske značajke meda, <<https://dokumen.tips/documents/kemijske-fizikalne-i-senzorske-karakteristike-meda.html>>. Pristupljeno lipanj, 2019.

Vanstone, N., Moore, A., Martos, P., Neethirajan, S. (2018). Detection of the adulteration of extra virgin olive oil by near-infrared spectroscopy and chemometric techniques. *Food Quality and Safety*, **2**, 189–198.

IZJAVA O IZVORNOSTI

Izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mog rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

A handwritten signature in blue ink, reading "Lucija Lončarić", is written over a horizontal line.

Ime i prezime studenta