

Utjecaj dodatka šećera i hidrokoloida na aromatski profil pasta od maline

Kerekeš, Anita

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:502142>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Anita Kerekeš

**UTJECAJ DODATKA ŠEĆERA I HIDROKOLOIDA NA AROMATSKI
PROFIL PASTA OD MALINE**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, studeni 2015.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

diplomski rad

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za prehrambene tehnologije
Katedra za prehrambeno inženjerstvo
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij prehrambenog inženjerstva

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Procesi u prehrambenoj industriji
Tema rada je prihvaćena na I. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2015./2016. održanoj 26. listopada 2015.
Mentor: doc. dr. sc. Anita Pichler

Utjecaj dodatka šećera i hidrokoloida na aromatski profil pasta od maline

Anita Kerekeš, 234-DI

Sažetak:

Poznavanje svojstava arome od velike je važnosti kod prerade namirnica u prehrambenoj industriji. Prehrambeni proizvodi na bazi maline se dobiju od kaše koja je poluproizvod u procesu prerade maline. Poznavanje svojstva arome kaše je potrebno radi ocjenjivanja organoleptičkih svojstava gotovih proizvoda. Cilj ovog rada je istražiti zadržavanje sastojaka arome paste maline s dodatkom šećera i hidrokoloida. U tu svrhu pripravljene su paste od maline sa različitim udjelima šećera i hidrokoloida. Pripravljene paste su punjene u staklenke i pasterizirane. Udio aromatičnih sastojaka određen je u svježoj i pasteriziranoj kaši te u pripravljenim pastama od maline. Određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka pasta maline provedeno je primjenom instrumentalne plinske kromatografije. U pastama maline identificirano je osamnaest aromatičnih sastojaka koji su podijeljeni u tri skupine: terpenoidi, karbonilni spojevi i kiseline. Najveći dio svih aromatičnih sastojaka prisutan je u svježoj kaši maline, dok je u pasteriziranoj kaši kao i pripravljenim pastama došlo do većih ili manjih gubitaka aromatičnih sastojaka. Dodatkom šećera saharoze i trehaloze u kombinaciji sa dodatkom hidrokoloida karayepostignuto je najveće zadržavanje ukupne arome.

Ključne riječi: Kaša maline, šećeri, hidrokoloidi, aroma

Rad sadrži: 55 stranica
17 slika
8 tablica
1 dijagram
66 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

1.	izv. prof. dr. sc. Mirela Kopjar	Predsjednik
2.	doc. dr. sc. Anita Pichler	član-mentor
3.	izv. prof. dr. sc. Nela Nedić Tiban	Član
4.	izv. prof. dr. sc. Lidija Jakobek	zamjena člana

Datum obrane: 23.11.2015.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

graduate thesis

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Food Technologies
Subdepartment of Food Engineering
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate study of Food Engineering

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Course title: Processes in food industry

Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. I held on October 26, 2015.

Mentor: Anita Pichler, PhD, assistant prof.

Influence of sugars and hydrocolloids addition on aromatic profile of raspberry cream fillings

Anita Kerekeš, 234-DI

Summary:

Knowledge of the aroma properties has great significance for food processing in food industry. Food products on raspberry basis are obtained from puree which is semi – product in the raspberry processing. Due to evaluation of organoleptic properties of final product it is necessary to understand the properties of aroma puree. The objective of this study was to investigate the retention of aroma compounds in raspberry cream fillings with addition of sugars and hydrocolloids. For this purpose, raspberry cream fillings were made with different contents of sugars and hydrocolloids. These cream fillings were filled in jars and were pasteurized. The content of aromatic raspberry was determined in fresh, pasteurized raspberry puree and in prepared raspberry cream fillings. Determination of quantitative content of aromatic properties of raspberry pastes was carried out by implementation of instrumental gas chromatography. In raspberry pastes were identified eighteen aromatic compounds which are divided into three groups: terpenoids, carbonyl compounds and acids. The greatest part of all aromatic compounds was present in fresh raspberry puree while in pasteurized puree and created cream fillings were noticed major or minor losses of aromatic compounds. The greatest content of aroma compounds had raspberry cream filling with addition of sucrose and trehalose in combination with hydrocolloid karaya.

Key words: Raspberry puree, sugars, hydrocolloids, aroma

Thesis contains: 55 pages
17 figures
8 tables
1 diagram
66 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | | |
|----|--|--------------|
| 1. | <i>Mirela Kopjar</i> , PhD, associate prof. | chair person |
| 2. | <i>Anita Pichler</i> , PhD, assistant prof. | Supervisor |
| 3. | <i>Nela Nedić Tiban</i> , PhD, associate prof. | Member |
| 4. | <i>Lidija Jakobek</i> , PhD, associate prof. | stand-in |

Defense date: November 23, 2015.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

Zahvaljujem se doc. dr. sc. Aniti Pichler na predloženoj temi diplomskog rada te na stručnoj pomoći i savjetima tijekom izrade rada.

Veliko hvala obitelji i Damiru na potpori i razumijevanju tijekom mog studiranja.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. MALINE.....	4
2.1.1. Kemijski sastav maline	5
2.2. VOĆNE KAŠE.....	10
2.3. SREDSTVA ZA ZASLAĐIVANJE	11
2.3.1. Saharoza	12
2.3.2. Fruktoza	13
2.3.3. Trehaloza	14
2.4. HIDROKOLOIDI	15
2.4.1. Guar guma	16
2.4.2. Guma karaya.....	17
2.5. TVARI AROME.....	18
2.5.1. Nositelji arome u pojedinom voću	18
2.5.2. Podjela aromatičnih sastojaka voća	19
2.5.3. Biosinteza aromatičnih sastojaka voća	19
2.5.4. Promjena aromatičnih sastojaka tijekom procesa prerade	20
2.5.5. Tvari arome maline.....	21
2.5.6. Promjene u sastavu arome tijekom branja.....	23
2.5.7. Biosinteza arome maline	24
2.6. ODREĐIVANJE SASTOJAKA AROME	25
2.6.1. Plinska kromatografija	25
2.6.2. Spektrofotometrija masa.....	30
3. EKSPERIMENTALNI DIO	35
3.1. ZADATAK.....	35
3.2. MATERIJAL I METODE	35
3.2.1. Priprema kaše i paste maline.....	35
3.2.2. Analiza spojeva arome.....	36
4. REZULTATI I RASPRAVA	39
4.1. TABLIČNI PRIKAZI ANALIZOM DOBIVENIH REZULTATA	39
4.2. REZULTATI	44
5. ZAKLJUČCI	47
6. LITERATURA	49

Popis oznaka, kratica i simbola

SPME	Solid Phase Microextraction (mikroekstrakcija na čvrstoj fazi)
GC	Plinska kromatografija
SBSE	Stir Bar Sorptive Extraction
GC/MS	Plinska kromatografija sa maseno-selektivnim detektorom
S	Saharoza
F	Fruktoza
T	Trehaloza
K	Karaya
G	Guar

1. UVOD

Ljudi stoljećima cijene izvanrednu hranjivost svježih malina. Europljani su u 17. stoljeću koristili malinu za odstranjivanje zubnog kamenca, a u 18. stoljeću kao ljekovito sredstvo kod različitih srčanih bolesti (Opačak, 2006).

Maline, a osobito vrsta *Rubus idaeus*, poznatije kao crvene maline, od davnina su omiljeno voće koje ima veliku nutritivnu vrijednost. Pridavanjem veće važnosti zdravoj prehrani i njenom utjecaju na zdravlje, maline postaju predmet istraživanja brojnih znanstvenika.

Malina je izvor životno važnih vitamina, optimalno djeluje na probavni sustav, smanjuje koncentraciju glukoze u krvi pa je pogodna za prehranu dijabetičara, a veoma je ukusna (Ergović, 2007.).

Zbog male energetske i velike biološke vrijednosti te ugodne arome i okusa, malina ima široku primjenu u ljudskoj prehrani, a posjeduje i određena ljekovita svojstva. Plodovi se mogu koristiti u svježem, smrznutom ili prerađenom stanju. Kaša maline, kao poluproizvod, ima široku primjenu u proizvodnji voćnih jogurta, sladoleda i krema, u proizvodnji dječje hrane, pudinga i instant napitaka (Čović, 2010.).

Najnoviji testovi upućuju na to da bobičasto voće, uključujući i malinu, smanjuju LDL – „loš“ kolesterol, što je važno ako uzmemo u obzir da je upravo LDL kolesterol zaslužan za razvoj srčane bolesti, steroškleroze te moždanog i srčanog udara.

Rao M.A. i suradnici došli su 1999. godine do zaključka da dodatak šećera igra važnu ulogu u povećanju viskoznosti voćnih sokova, između ostalih i soka maline (Nindo i sur., 2005.).

Predmet istraživanja ovog rada je poluproizvod maline – kaša, koja je osnova u proizvodnji mnogih gotovih proizvoda na bazi maline kao što su preljevi, sokovi i dr., te pasta, odnosno pasterizirana kaša maline s dodatkom šećera (saharoze, fruktoze i trehaloze) i hidrokoloida (guar guma i guma karaya).

Cilj ovog rada je istražiti utjecaj dodataka šećera i hidrokolida na aromatski profil paste maline.

Rezultati istraživanja su pokazali da dodani šećeri i hidrokoloidi imaju značajan utjecaj na aromatski profil paste maline.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. MALINE

Malina pripada porodici *Rosaceae*, rodu *Rubus*, podroda *Idaeobatus*, a obuhvaća preko 200 vrsta. Najčešće vrste koje se danas koriste u komercijalne svrhe su:

- Europska crvena malina (*Rubus idaeus* subsp. *Vulgaris* Arrhen) – u Europi i Aziji,
- Crvena malina (*Rubus idaeus* subsp. *Strigosus* Mch.) – u sjevernoj Americi i Aziji,
- Crna malina (*Rubus occidentalis* L.) – u sjevernoj Americi,
- Ljubičasta malina (*Rubus idaeus* subsp. *Neglectus* Peck) – u sjevernoj Americi (Pichler, 2011.).

Malina je višegodišnja grmolika biljka koja potječe iz jugoistočne Europe, raste uz živice, rubove putova i šumarak, a sve se češće uzgaja i u vrtovima. Za uzgoj joj nabolje pogoduju sunce, brdsko – planinska područja s oborinama od 700 do 900 mm te rastresita polupropusna i slabo kisela tla. Kultivirana malina brzo i lako raste, te ima tendenciju širenja ako se ne podrezuje. Sazrijevanje počinje krajem lipnja i traje do kolovoza (Web 1).

Plodovi maline su intenzivno obojeni, jagodasti, nježne strukture, slatko- kiselkastog okusa i ugodne arome. Svježe maline su zdrave i vrlo hranjive, a sušene također. Antioksidativna aktivnost maline za 50% je veća od antioksidativne aktivnosti jagode. Plod je zbirna koštunica crvene boje, poznata po jedinstvenoj aromi koju duguje posebnoj mješavini aromatičnih tvari, koja se teško imitira, čuva i konzervira te profinjenom delikatno-kiselkastom okusu. Od ploda maline se priprema ocat, sirup, sok, vino, džem, marmelada, žele i kompot, a od lišća ljekoviti čaj koji ima široku primjenu u narodnoj medicini. Sušene maline se također koriste u pripravi voćnih čajeva (Čović, 2010.).



Slika 1 Malina (*Rubus idaeus*) (Web 2)

2.1.1. Kemijski sastav maline

Kemijski sastav se izražava kao udio sadržaja suhe tvari i vode. U sastav suhe tvari ulaze ugljikohidrati (škrob, šećeri, celuloza, itd.), masti, bjelančevine, mineralne tvari, vitamini, pektinske tvari, organske i mineralne kiseline, taninske tvari, tvari arome i boje.

Pomoću kemijskog sastava dobivamo predodžbu o energetske i prehranbenoj vrijednosti namirnice te organoleptičkim svojstvima. Na osnovu kemijskog sastava određuje se koji će se tehnološki postupci upotrebljavati pri preradi i konzerviranju.

Maline, zbog velikog sadržaja vode, imaju malu energetske vrijednost, ali veliku osvježavajuću moć jer uz vodu sadrže i znatne količine limunske i jabučne kiseline. Također sadrže i pojedine fitokemikalije koje usporavaju proces starenja, jačaju imunitet i potpomažu u borbi protiv kroničnih bolesti.

Znanstvenici tvrde da maline sadrže puno više zdravih tvari od bilo koje druge hrane kao npr. brokule, kivi i rajčica. Maline sadrže deset puta više antioksidanasa od rajčice zbog čega se preporučuje razvijanje novih kultiviranih sorti toga voća. Smrznuta malina ili u obliku džema, ne gubi svoja antioksidativna svojstva (Ergović, 2007.).

Tablica 1 Kemijski sastav malina (%) (Stanković, 1973)

Voda	Bjelančevine	Masti	Ugljikohidrati	Celuloza	Mineralne tvari	Ukupne kiseline
84,50	1,30	0,30	8,70	5,33	0,51	2,00

Šećeri

Šećeri čine najveći dio topljive suhe tvari. Zajedno s kiselinama oni predstavljaju osnovnu komponentu u formiranju okusa proizvoda. Sadržaj ukupnih šećera kod jagodastog voća ovisi o vrsti, sorti, stupnju zrelosti i o uvjetima uzgoja, a količina varira od 2,5 – 15%.

Odnos invertnog šećera i saharoze varira ovisno o vrsti i sorti voća. Malina sadrži veći dio invertnog šećera od čega 80% čini fruktoza, a samo 20% glukoza dok je saharoza u neznatnim količinama (Niketić – Aleksić, 1982.).

Tablica 2 Sadržaj šećera u malinama (%) (Niketić - Aleksić, 1982)

Invertni šećer	Saharoza	Ukupno
4,5	0,2	4,7 – 9,5

Kiseline

Kiseline su važni prirodni sastojci voća, budući da se upravo zbog njihove prisutnosti odlikuje kiselim okusom. Sadržaj kiselina u voću se kreće od 0,2 do 1,2%, a kiselost izražena preko pH vrijednosti iznosi 3,5.

Prema pH vrijednosti voće se dijeli na slabo kiselo (pH > 5), srednje kiselo (pH od 5 – 4,5), kiselo (pH od 4 – 3,5) te jako kiselo (pH < 3,5). Kiselost voća potječe od organskih kiselina i njihovih soli.

U malinama su u najvećoj mjeri zastupljene limunska i salicilna kiselina. U manjim količinama se nalazi još niz drugih kiselina kao što su oksalna, jabučna i mravlja, koje zajedno s osnovnim kiselinama povećavaju kiselost, a mogu uzrokovati i fotokemijske reakcije te promjenu boje. Kiselost proizvoda predstavlja osnovnu komponentu okusa. Odnos sadržaja šećera i kiselina naziva se koeficijent ili indeks slasti, a u malini iznosi od 3 – 5 (Niketić – Aleksić, 1982.).

Tablica 3 Sadržaj organskih kiselina u malinama (%) (Niketić - Aleksić, 1982)

Ukupna kiselost	Limunska kiselina	Jabučna kiselina	Oksalna kiselina	Salicilna kiselina	Mravlja kiselina
0,8 – 2,0	1,07 – 1,94	0,05	0,05	0,11	0,002

Prehrambena vlakna

Prehrambena vlakna su ugljikohidratne komponente (oligosaharidi, polisaharidi i njihovi hidrofilni derivati) koje ljudski probavni enzimi ne mogu razgraditi do apsorpcijskih komponentata u gornjem probavnom traktu te lignin koji nije ugljikohidrat (Trajković i sur., 1983.). Prema sposobnosti topljenja u vodi, vlakna se dijele na topljiva i netopljiva. Većina hrane sadrži kombinaciju topljivih i netopljivih vlakana.

U topljiva vlakna pripadaju gume, sluzi i pektini, a u netopljiva hemiceluloza, celuloza i lignin. Prehrambena vlakna jako bubre i izazivaju brz osjećaj sitosti u želucu, povećavaju volumen sadržaja u crijevima, ubrzavaju peristaltiku, usporavaju hidrolizu polisaharida do glukoze. Preporučeni dnevni unos vlakana je 21 – 38 g/danu, te nije preporučljivo unositi veće količine jer mogu smanjiti apsorpciju važnih vitamina i minerala (Web 3).

Maline su dobar izvor vlakana jer sadrže 0,5 – 1,05 % vlakana te su neizostavni dio prehrane. Malina je odličan izvor dijetalnih ugljikohidratnih vlakana, koja pomažu u pravilnoj funkciji crijeva i na taj način sudjeluju u sprječavanju razvoja raka debelog crijeva. Održavaju zdravlje srca jer vežu žučne soli u debelom crijevu i izlučuju ih iz tijela. Zbog visokog kapaciteta vezanja vode, bubrenja i usporavanja probave, preporučuje se uzimanje iz hrane bogatim dijetetskim vlaknima tijekom redukcijskih dijeta (Ivković-Balja, 2000.).

Mineralne tvari

Mineralne tvari su prirodni sastojci koje u biljke dospijevaju iz zemljišta. Sadržaj mineralnih tvari u svježem voću se kreće od 0,3 – 0,8%. Određuje se potpunim spaljivanjem namirnice pri čemu se dobije pepeo s odgovarajućim sadržajem mineralnih tvari. U pepelu malina se nalazi kalij, kalcij, magnezij, željezo, natrij, cink, bakar, mangan, fosfor i selen. Kalij zauzima 50% ukupne količine pepela dok je udio natrija nizak tako da je odnos natrija i kalija vrlo povoljan (Čović, 2010.).

Tablica 4 Sadržaj mineralnih tvari u malinama (mg/100g) (Web 4)

K	P	Ca	Mg	Na	Fe	Mn	Zn	Cu	Se
151	29	25	22	1	0,7	0,7	0,4	0,1	0,0002

Vitamini

Vitamini su tvari koje reguliraju izmjenu tvari u živim stanicama i stvaraju imunitet protiv mnogih infektivnih bolesti. Ljudski organizam ih ne može sintetizirati, nego ih mora dobiti već gotove, sadržane u hrani. Biološka vrijednost namirnice se određuje preko sadržaja vitamina u namirnici (Opačak, 2006.). Maline su bogate vitaminima od čega je vitamin C najvažniji. Pored vitamina C, značajni su vitamini E i K, tiamin (B₁), riboflavin (B₂), niacin (B₃), pantotenska kiselina (B₅), B₆ i kolin.

Tablica 5 Sadržaj vitamina u malinama (mg/100g) (Web 5)

C	B ₁	B ₂	B ₃	B ₅	B ₆	E	K	Kolin
26,2	0,032	0,038	0,598	0,329	0,055	0,87	0,0078	12,3

Tvari boje

Tvari boje su vrlo značajna kvalitativna svojstva voća jer pruža informacije o identitetu, kvaliteti i aromi. Primarna uloga boje je određivanje zrelosti voća i mikrobiološkog kvarenja. Za boju su odgovorni pigmenti koji se nalaze u plastidima u protoplazmi stanice (Web 6). U malinama su od pigmenata najzastupljeniji antocijani, kvercetini i katehini (Čović, 2010.).

Antocijani su pigmenti topivi u vodi, a spadaju u grupu fenolnih flavonoida. Sastoje se od glikoziliranih polihidroksi i polimetoksi derivata flavilium kationa. Glavni dio molekule je aglikon flavilium kation – antocijanidin. Antocijanidin povezan s monosaharidima odgovoran je za boju antocijana (Web 7). Štite organizam od potencijalnih bolesti zbog velikog antioksidativnog djelovanja. Maline pokazuju visok sadržaj fenolnih komponenata i visoku antioksidativnu aktivnost u usporedbi sa drugim biljnim sirovinama (Pichler, 2011.).

Kvercetin pripada skupini bioflavonoida, biljnih pigmenata topivih u vodi. Smanjuje upalne i alergijske reakcije, djeluje kao snažan antioksidans sprječavajući negativan učinak slobodnih radikala (Web 8).

Katehini su reducirani derivati flavona koji potpomažu obrnuti sistem antioksidanasa. Bezbojni su, ali sa metalnim ionima daju obojenja (Čović, 2010.).

2.2. VOĆNE KAŠE

Jedan od najvažnijih parametara kod svježeg voća i povrća je kvaliteta jer o njoj ovisi i sama kvaliteta gotovog proizvoda. Kako bi se dobio što kvalitetniji proizvod na kraju prerade, na početku se moraju postaviti određeni zahtjevi kvalitete. Za izradu voćnih kaša, plod maline mora biti čvrst, srednje krupan, ujednačene veličine, fine teksture, visoko kvalitetan i treba zadržati svoj karakterističan okus i miris poslije zagrijavanja, smrzavanja ili sušenja.

Voćna kaša je poluproizvod dobiven pasiranjem svježeg voća ili pulpe, te konzerviranjem sumpornim dioksidom, pasterizacijom ili zamrzavanjem. Kaša je ujednačene konzistencije i ne smije sadržavati ostatke kore, cijele koštice ili komade koštica ili neke druge krute primjese. Prema udjelu suhe tvari ocjenjuje se kvaliteta kaše. Najčešći postupak konzerviranja kaše je pasterizacija ili zamrzavanje.

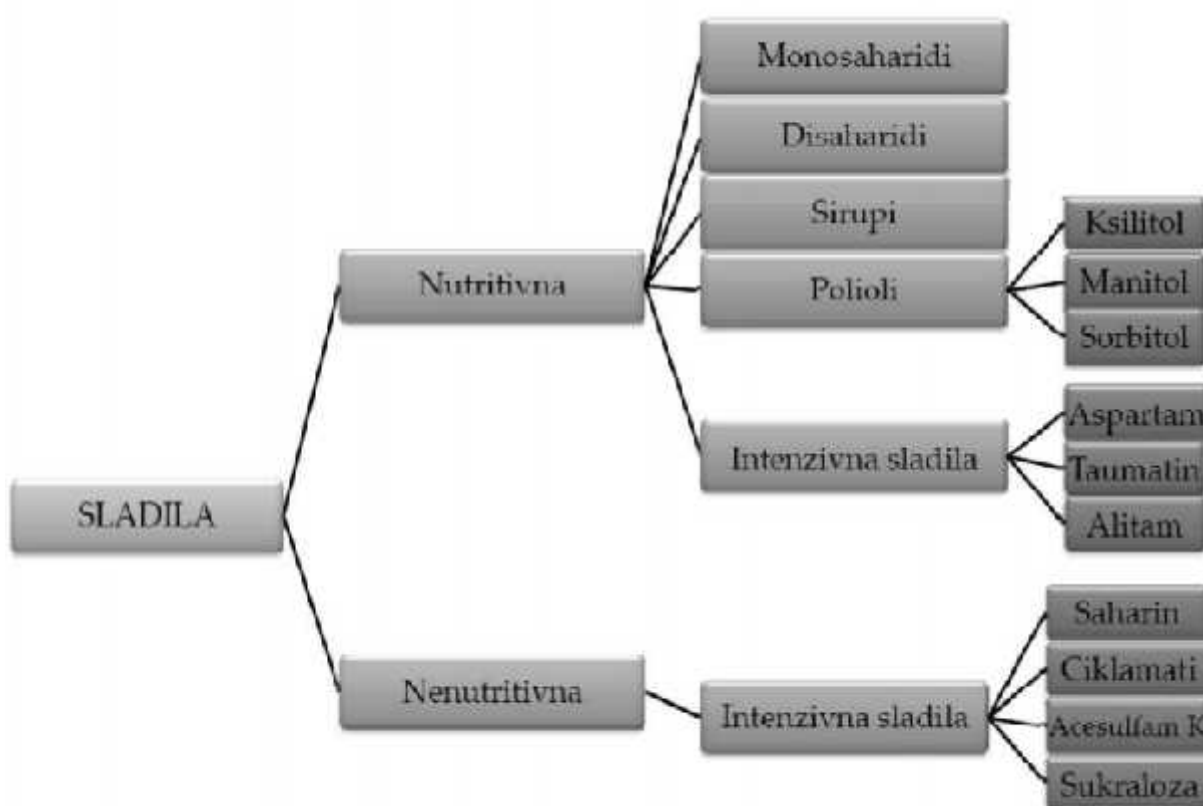
Pasterizirana kaša je poluproizvod dobiven iz svježeg voća pasiranjem. Voće se prethodno mora oprati, probrati i usitniti. Usitnjena voćna masa podvrgava se toplinskoj obradi u izmjenjivaču topline pri temperaturi od 90 – 95 °C zbog inaktivacije enzima, uništenja mikroorganizama i omekšavanja tkiva. Sve to olakšava pasiranje na pasirkama pri čemu se uklone nejestivi dijelovi voća. Dobivena kaša se puni u prethodno pasterizirane limenke ili cisterne. Ako se kaša namjerava zamrzavati, nakon toplinske obrade se mora ohladiti na 30 °C. Prije zamrzavanja u samim uređajima kaša se može tretirati otopinom limunske kiseline ili askorbinske kiseline što utječe na poboljšanje okusa i na bolje očuvanje organoleptičkih svojstava tijekom skladištenja. Kaša se zamrzava u obliku blokova, oblaže folijom od polietilena te skladišti na -18°C do daljnje prerade (Lovrić i Piližota, 1994.).

Voćne paste su skupina prirodnih voćnih poluproizvoda koji su dobiveni pasiranjem voća te dodavanjem sladila, voćnih sokova, voćnih koncentrata i konzervansa. Voćne paste se koriste u daljnjoj preradi za dobivanje drugih namirnica. Sadrže 30 do 50% voća. U proizvodnji paste koristi se najkvalitetnije voće (zamrznuto ili sušeno), čije se porijeklo i vrsta pažljivo prati i kontrolira kod ubiranja i prijema do završne obrade. Voće se ukuhava u svom vlastitom soku uz dodatak šećera, pektina, limunske kiseline, aroma i drugih dodataka do postizanja željene teksture, viskoziteta i ostalih parametara (Pichler, 2011.).

2.3. SREDSTVA ZA ZASLAĐIVANJE

Primjena sredstava za zaslađivanje u prehrambenoj industriji prilično je velika. Najčešće se upotrebljava u preradi voća, a tek u posebnim slučajevima u preradi povrća (Suman, 2005.). Sredstva za zaslađivanje se dijele na prirodna i umjetna. Prirodna sredstva za zaslađivanje su nutritivno bogata te ulaze u metabolizam čovjeka. Umjetna sredstva za zaslađivanje su nutritivno siromašna i ne ulaze u metabolizam čovjeka (Web 9).

Dijagram 1 Podjela sladila prema energetskej vrijednosti (Web 10)



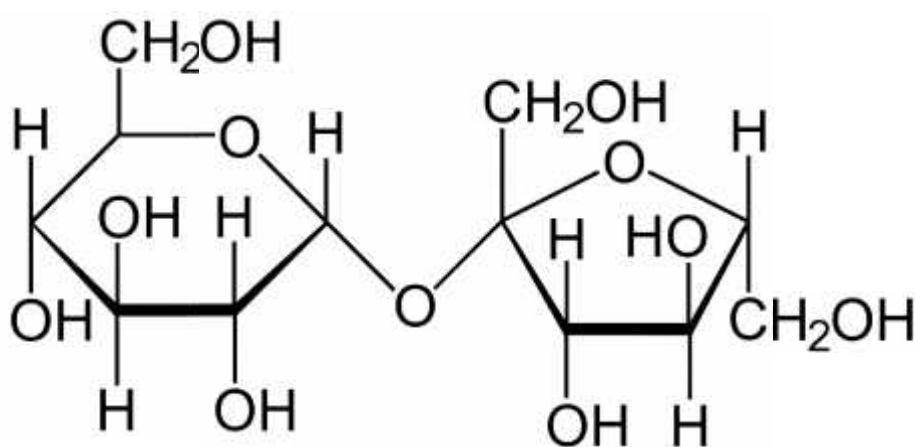
Prirodna sladila, osim energetske vrijednosti, povećavaju i sadržaj suhe tvari te se stoga najviše koriste u industriji. Pri višim koncentracijama mogu djelovati inhibitorno na neke mikroorganizme. Umjetna sladila se upotrebljavaju samo u proizvodnji niskoenergetske hrane i hrane namijenjene dijabetičarima jer nemaju značajna tehnološka i fiziološka svojstva. Sredstva za zaslađivanje pozitivno utječu na punoću, gustoću i viskoznost proizvoda (Gloc, 2002.).

2.3.1. Saharoza

Saharoza je disaharid široko rasprostranjen u biljnom svijetu. Nalazi se u staničnom soku mnogih biljaka, a uglavnom se proizvodi od šećerne repe i šećerne trske. Kristalna saharoza - konzumni šećer je najvažnije sladilo u ljudskoj prehrani. Ima vrlo visoku energetska vrijednost (4kcal / 100g), a uz masti je jedan od najjeftinijih izvora energije.

Saharoza je nereducirajući šećer, a sastoji se od α -D-glukoze i β -D-fruktoze povezanih glikozidnom vezom. Kristal saharoze je vrlo složen i predstavlja kombinaciju šest kristalografskih oblika.

Topljiva je u vodi, a netopljiva je u većini organskih otapala. Saharoza je prije svega sladilo, zatim i sredstvo za konzerviranje brojnih prehrambenih proizvoda, a podjednako se upotrebljava u prehrambeno industriji i kućanstvima. Ima ugodan sladak okus i u organizmu se brzo i potpuno resorbira (Čović, 2010.).



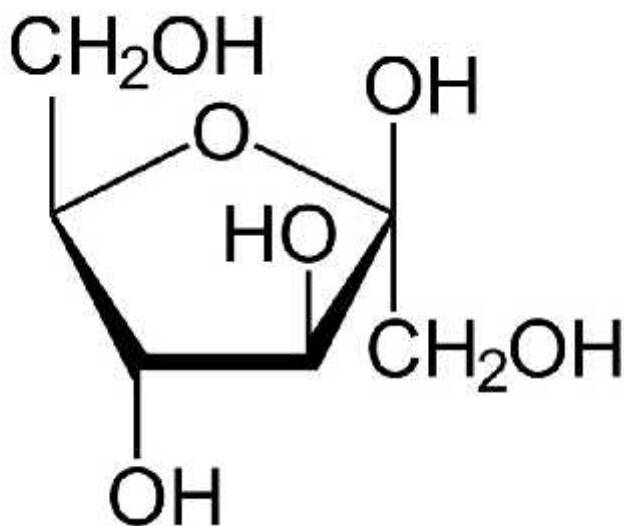
Slika 2 Molekula saharoze (Web 11)

2.3.2. Fruktoza

Fruktoza se često naziva voćni šećer ili levuloza. Nalazi se u voću, medu i invertnom šećeru te sprječava kristalizaciju meda. Oko 1,3 do 1,7 puta je slađa od saharoze, a komercijalno se najviše proizvodi izomerizacijom glukoznog sirupa koji se dobiva hidrolizom škroba (Van der Maarel i sur.,2002.).

Fruktoza je keto heksoza i ubraja se u jednostavne šećere. U usporedbi sa glukozom i saharozom više je higroskopna i lakše topljiva. Zbog cijene, slatkoće i funkcionalnih svojstava koja pozitivno utječu na aromu i stabilnost proizvoda, fruktoza se sve više upotrebljava u proizvodnji prehrambenih proizvoda, naročito napitaka. Fruktoza ima i ulogu konzervansa u različitim voćnim proizvodima.

U ljudskom organizmu resorpcija fruktoze i transport do stanice ne ovisi o inzulinu te se stoga može koristiti u proizvodnji hrane za dijabetičare.



Slika 3 Molekula fruktoze (Web 12)

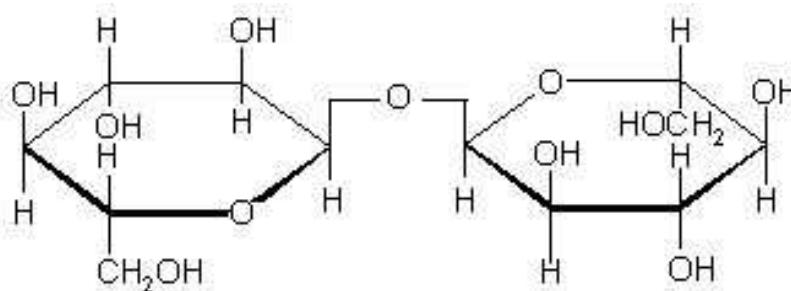
2.3.3. Trehaloza

Trehaloza je disaharid izgrađen od dvije molekule D-glukoze povezane α -1, 1 glikozidnom vezom. Trehaloza je nereducirajući šećer, budući da je reducirajući kraj glikozidnog ostatka vezan s drugim. Široko je rasprostranjena u prirodi te je jedan od glavnih izvora energije u mnogim živim organizmima (bakterijama, gljivama, insektima i biljkama). Trehaloza ima 45% slatkoće saharoze, tj. ima manju slatkoću. Izuzetno je termostabilan šećer, pokazuje stabilnost u rasponu od 3,5 do 10 pH vrijednosti (Briš, 2007.). Istraživanja hidratacijskog potencijala trehaloze su pokazala da u odnosu na ostale oligosaharide trehaloza ima veću sposobnost hidratacije.

Postoje tri mehanizma pomoću kojih se objašnjava djelovanje trehaloze:

- zamjena uklonjene vode,
- staklasti prijelaz i
- kemijska stabilnost.

Kombinacijom ova tri mehanizma može se doprinijeti stabilizirajućem efektu trehaloze (Pinto i Sur.,2006.).



Slika 4 Molekula trehaloze (Web 13)

2.4. HIDROKOLOIDI

Hidrokoloidi su dugolančani, visokomolekularni polimeri koji se koriste za ugušćivanje i želiranje, kao sredstva za stabiliziranje pjena, emulzija i disperzija, za sprječavanje rasta kristala šećera i leda, vezanje aroma i dr. Uglavnom su to polisaharidi, a mogu biti i proteini biljno i životinjskog porijekla (Pichler, 2011.).

Prema porijeklu hidrokoloide dijelimo na (Carr, 1993.):

- hidrokoloidi biljnog porijekla (više biljke i alge) kao što su eksudati (guma arabika, guma karaya, tragakant) i ekstrakti (pektin, alginati, guar, karagen, brašno sjemenke rogača),
- hidrokoloidi životinjskog porijekla (želatina),
- proizvodi mikrobne fermentacije (ksantan, dekstrani) i
- kemijski modificirani (derivati celuloze, modificirani škrobovi i dr.).

Hidrokoloidi se upotrebljavaju kao dodaci hrani kako bi poboljšali pojedina svojstva hrane (teksturu, stabilnost proizvoda, zadržavanje vode, itd.). Njihova upotreba u proizvodnji hrane je česta budući da nisu štetni za zdravlje ljudi. Koriste se u proizvodnji hrane kao sredstva za ugušćivanje (povećavaju viskoznost proizvoda) sredstva za želiranje (izazivaju promjenu strukture proizvoda) te kao sredstvo za stabiliziranje (postiže se stabilnost proizvod kroz duži period) (Gordon i Sur., 1990.).

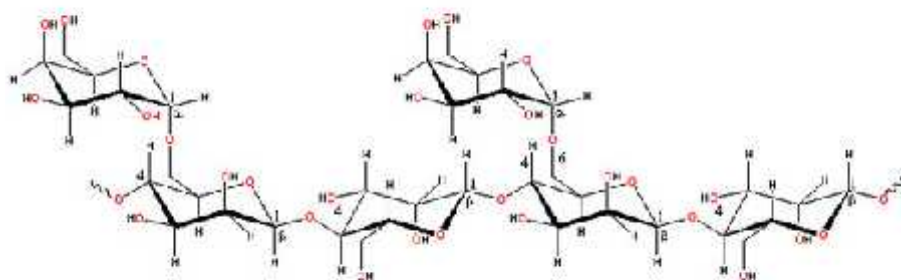
Pri odabiru hidrokoloida ovisno o učinku koji se želi postići u pojedini prehrambenim proizvodima, potrebno je voditi računa o sljedećim čimbenicima (Šubarić, 1994., Dziezak, 1991.):

- topljivost ili disperzibilnost i utjecaj pH i temperature,
- sposobnost želiranja i utjecaju temperature, koncentracije i pH,
- elektrokemijskom ponašanju i njegovim emulgirajućem djelovanju i stabilnosti proizvoda,
- spojivosti s drugim sastojcima u prehrambenom proizvodu,
- stabilnosti prema pH, temperaturi i mehaničkom naprezanju,
- slaganju s drugim koloidima,

- djelovanju na miris okus i boju,
- važećim propisima i normama za odgovarajuće proizvode,
- otpornosti prema djelovanju mikroorganizama i
- cijeni.

2.4.1. Guar guma

Guar guma je polisaharid dobiven iz endosperma biljke *Cyamopsis tetragonolobus*, koja pripada porodici leguminoza, a uspijeva u Indiji i Pakistanu. Guar pripada skupini galaktomananskih hidrokoloida. Molekule guara su sastavljene od glavnog lanca kojeg čine manozne jedinice povezane β -1,4 vezama i bočnih lanaca koje su sastavljeni od galaktoznih jedinica povezanih α -1,6 vezom. Guar guma se najčešće koristi kao stabilizator, emulgator i ugušćivač. U hladnoj vodi bubri dajući gustu tiksotropnu tekućinu koja je stabilna u pH području od 4 do 10,5. Do razgradnje molekule guara dolazi pri ekstremnim pH vrijednostima i povišenoj temperaturi. Otapanjem u vodi guar stvara finu mrežu, poboljšava viskoznost i tečljivost, ali nema svojstva želiranja. Proizvodima kojima se dodaje guar pokazuje dobru stabilnost pri skladištenju i smrzavanju. Guar se upotrebljava u proizvodnji tekućih prehrambenih proizvoda, mliječnih proizvoda, kakao napitaka, sladoleda, čokoladnih napitaka, dječje hrane, umaka te hrane za životinje (Radmilović, 1966. i Čović, 2010.).



Slika 5 Guar guma (Web 14)

2.4.2. Guma karaya

Guma karaya je kompleksni polisaharid visoke molekulske mase, ekstrudat drveta *Sterculia urens* koja raste u Indiji. Čista guma karaya je bijele boje, bez tragova kore i veoma providna. Prah gume karaya dispergira se u hladnoj vodi pri čemu stvara čvrst gel fine teksture i visoke glatkoće. Viskozitet gume karaya ovisi o njenoj svježini, uvjetima u kojima raste te o klimi. Veliki utjecaj na viskozitet ima i vrijeme skladištenja. Prah karaye pokazuje smanjenje viskoziteta nakon skladištenja od šest mjeseci. Guma karaya je osjetljiva na alkalije i postiže maksimalan viskozitet pri pH=8,5. Hidrolizom daje galaktozu, ramnozu i galakturonsku kiselinu. U prehrambenoj industriji se upotrebljava kao emulgator (mesna industrija) i kao stabilizator (mliječna industrija), a u kombinaciji s karagenom i u pekarskoj industriji. Kao laksativ se koristi u farmaceutskoj industriji. Kemijska struktura gume karaya nije u potpunosti razjašnjena (Radmilović, 1966.).

2.5. TVARI AROME

Aroma potječe od grčke riječi i ima značenje mirodija, mirisna biljka. Aroma prehrambenih proizvoda bitan je čimbenik kvalitete jer označava ukupni utisak doživljen konzumiranjem hrane i pića. Tvari arome složenog su kemijskog sastava. Pored boje i teksture daju određenu karakteristiku hrani, važni su sastojci hrane o kojima dijelom ovise organoleptička svojstva (okus, miris) sirove i procesirane hrane (Heath, 1978.). Aroma namirnice ovisi o koncentraciji pojedinih sastojaka i njihovom kvantitativnom udjelu u ukupnoj aromi. Prirodne voćne arome su vrlo osjetljive i lako hlapljive pri povišenim temperaturama te mogu biti promijenjene ili izgubljene tijekom procesa prerade što umanjuje kvalitetu proizvoda (Web 15). Svako voće ima karakterističnu aromu koja je rezultat jedinstvene kombinacije velikog broja spojeva kao što su alkoholi, kiseline, aldehidi, ketoni, esteri i dr., koji se nalaze u različitim međusobnim odnosima, ukazujući na kompleksnost sastava arome. Kemijski gledano, aroma voća rezultat je prisustva hlapljivih spojeva odgovornih za miris i nehlapljivih spojeva koji više utječu na okusni doživljaj voća, pa se stoga pod samim pojmom arome voća podrazumijeva objedinjeni doživljaj mirisnih i okusnih sastojaka voća (Pozderović, 1984.).

2.5.1. Nositelji arome u pojedinom voću

Iako je već identificiran velik broj aromatičnih sastojaka, još uvijek se ne može sa sigurnošću reći koji je od tih sastojaka glavni nositelj tipične arome određenog voća (Fenaroli, 1975.). U različitim koncentracijama i udjelima se nalaze aromatični sastojci u voću. Koncentracija aromatičnih sastojaka nije mjerilo njihove aromatične dominantnosti te vrlo često i sastojci s minimalnim udjelom više doprinose karakterističnoj aromi voća nego sastojci prisutni u mnogo većem udjelu. Štoviše, jedan te isti sastojak može mijenjati svoja aromatična svojstva ovisno o koncentraciji pa tako β -ionon u visokoj koncentraciji ima miris na cedrovo drvo, dok istodobno, njegovo prisustvo u niskoj koncentraciji rezultira mirisom na ljubičicu. Karakteristična aroma određenog voća rezultat je prisustva svih aromatičnih sastojaka, stoga se promjenom omjera pojedinih sastojaka mijenja i sveukupni doživljaj o vrsti voća. Glavni nositelj arome u malini je 4-(4-hidroksifenil)-2-butanon (Čović, 2010.).

2.5.2. Podjela aromatičnih sastojaka voća

Aromatični se sastojci ne mogu podijeliti prema kemijskoj strukturi budući da pripadanje pojedinog aromatičnog sastojaka određenoj skupini kemijskih spojeva, s određenim funkcionalnim skupinama, ne predstavlja preduvjet za određeni aromatični karakter tog sastojka. Jednako tako, sastojci s istom funkcionalnom skupinom, odnosno sa sličnom kemijskom strukturom imaju različita aromatična svojstva, dok sastojci različitog kemijskog sastava mogu imati ista aromatična svojstva. Za praktičnu primjenu stoga je još uvijek najprikladnija podjela aromatičnih sastojaka po Gierschneru (1964.), koji je sastojke podijelio na slijedeće skupine:

- aromatični kompleks karakterističan za odliku voća,
- aromatični kompleks karakterističan za vrstu voća,
- opći aromatični kompleks,
- nosač arome i
- nepoželjni aromatični kompleks.

2.5.3. Biosinteza aromatičnih sastojaka voća

Tvorba aromatičnih sastojaka dinamičan je proces koji započinje s fazom dozrijevanja, da bi se karakteristična aroma razvila tek po završetku faze zrenja. U cilju postizanja najbolje arome, a ujedno i odgovarajuće teksture, potrebno je odrediti najbolje vrijeme berbe voća budući da je slabije izražena aroma, vezana uz voće slabije zrelosti, česta pritužba potrošača (Čović, 2010.).

Tijekom tvorbe aromatičnih sastojaka odvijaju se metaboličke promjene katabolizma te aromatični sastojci nastaju iz određenih biljnih sastojaka i prekursora preko različitih biokemijskih putova pri čemu pojedini enzimi ili skupine enzima također imaju važnu ulogu (Perez i sur., 1991.). Na taj način se u zrelom i prezrelom voću, kao produkti metabolizma živih stanica voća, odnosno kao njihovi razgradni produkti, stvaraju različiti hlapljivi i nehlapivi aromatični sastojci poput estera, alkohola, karbonilnih spojeva, spojeva sa sumporom i terpena (Pichler, 2011.).

Biosinteza estera, kao najvažnijih aromatičnih sastojaka voća, uključuje različite metaboličke putove kao što su β -oksidacija masnih kiselina, dezaminacija aminokiselina, dekarboksilacija te brojne redukcije i esterifikacije (Čović, 2010.).

U novije vrijeme predmet brojnih istraživanja predstavljaju prekursori različitih sastojaka pa su tako istraživanja provedena s grožđem, jabukama, kiselim višnjama i malinama ukazala na važnu ulogu glikospojeva kao prekursora arome (Pichler, 2011.). Deoksiglukozoni, poznati i kao reaktivni intermedijeri u Maillardovim reakcijama, također su prekursori različitih aromatičnih sastojaka, posebice pirazina, dok je geranil pirofosfat prekursor različitih heterocikličkih sastojaka kao što su pirazini, ali i furani (Čović, 2010.).

Aromatični sastojci se u voću nalaze u manjim ili većim vakuolama smještenim na određenim mjestima unutar ploda. Ovisno o vrsti ploda aromatični sastojci se mogu nalaziti u kori, pokožici, epidermi, pulpi te u soku. Nosači aromatičnih sastojaka su razni lipidi i voskovi, kao i pektinske tvari, dok su voda (sok) i metabolizmom stvoreni etanol dobra otapala za neke aromatične sastojke (Pichler, 2011.).

2.5.4. Promjena aromatičnih sastojaka tijekom procesa prerade

Tijekom procesa prerade, plodovi se usitnjavaju, a aromatični sastojci prelaze u sok, razrjeđuju se ili enzimski razgrađuju tako da se dobiva dojam cjelokupno slabije izražene arome u odnosu na aromu cijelog ploda. Kisik ima važan utjecaj na hidrolizu aromatičnih sastojaka, pogotovo ako su plodovi oštećeni ili je došlo do narušavanja strukture biljnih stanica (mljevenje, usitnjavanje, prešanje i pasiranje, centrifugiranje i filtracije sokova). Kod svih postupaka toplinske obrade (pasterizacija, sterilizacija, kuhanje, koncentriranje i sušenje) također dolazi do gubitaka aromatičnih sastojaka te bi ove postupke trebalo provoditi kontinuirano u što kraćem vremenskom roku. Osim gubitaka aromatičnih sastojaka, tijekom ovih postupaka može doći i do tvorbe sekundarnih spojeva neugodnog mirisa poput diacetila, acetoina i octene kiseline. Kao posljedica nepravilne i duže toplinske obrade plodova ili proizvoda četo dolazi i do tvorbe produkata Maillardovih reakcija, primjerice hidroksimetilfurfurala, kao i produkata Steckerove razgradnje aminokiselina koji također utječu na razvoj nepoželjne arome proizvoda (Čović, 2010.).

2.5.5. Tvari arome maline

Aroma maline opisana je kao mješavina nekoliko mirisnih nota: ananas, limun, cvjetni miris, ljubičica, itd. Zbog ekonomske važnosti maline razvile su se mnoge studije koje su ispitivale sastav arome maline, koja je danas prilično poznata. Proučavan je utjecaj ekstrakcije na sastav ekstrakta.

Mnoge prednosti i nedostatci ekstrakcijske procedure su otkriveni: upotreba dušika u proučavanju hlapljivih sastojaka arome maline preferira rekuperaciju monoterpena; vakuum destilacija daje bolju rekuperaciju alkohola monoterpena, a ekstrakcija tekućina – tekućina daje dobru rekuperaciju iona (Borejsza – Wysock i Hrazdina, 1994.).

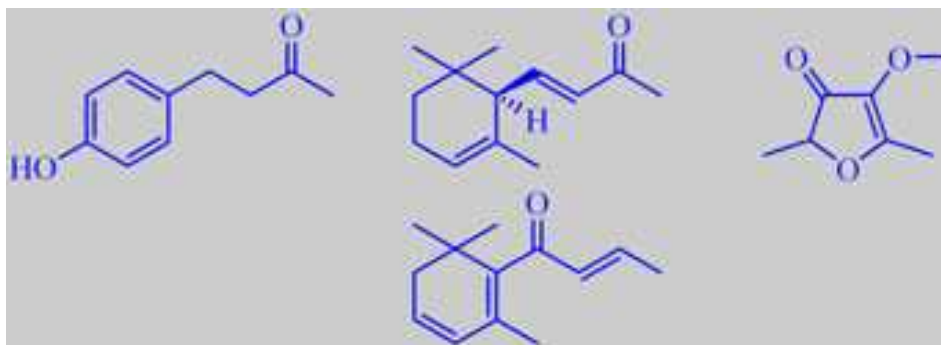
Aroma kultivirane maline

Aroma maline je visoko karakterizirana fenolnim ketonom 1-(4-hidroksifenil)-3-butanon udružen koji je udružen s iononima, beta damascenonom i mesifuranom. Keton maline 1-(4-hidroksifenil)-3-butanon su otkrili Nomura i Nozawa, 1921., ali je identificiran tek 1961., Shinz i Siedel.

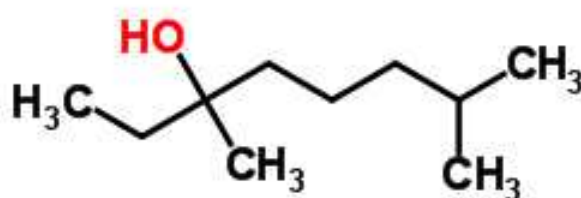
Više od 200 spojeva je identificirano u aromi maline. 1-(4-hidroksifenil)-3-butanon se još naziva i keton maline. U čistom stanju, to je obojena kristalinična tvar ($T_f=82\text{ }^{\circ}\text{C}$) s intenzivnim, toplim prožetim karakterom, podsjećajući na konzervirane maline (Maarse, 1991.).

Osebnom mirisu maline također doprinose i alfa – ionon, beta – ionon (u tragovima daje miris na ljubičicu), linalool i geraniol (cvjetna nota) (Latrasse i sur., 1982a; 1982b.). Alfa – ionon se u malini nalazi u čistom stanju, desni i lijevi enantiomer te se može koristiti kao marker za utvrđivanje umjetne arome maline.

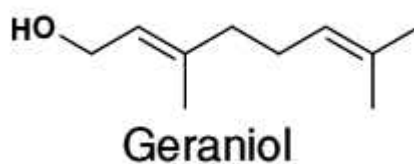
Svaka sorta i podvrsta maline ima svoju vlastitu osebnost. Esteri i laktoni također su zastupljeni u aromi svježih plodova maline (Maarse, 1991.).



Slika 6 Ketoni maline; (R)-(+)-(E)-alfa-iono, mesifuran, beta damascenon (Pichler, 2011.)



Slika 7 Linalool (Web 16)



Slika 8 Geraniol (Web 17)

Zbog velike zastupljenosti ketona u aromi maline, oni se uvijek dodaju proizvodima kada treba pojačati aromu maline. Udio karbonila u voćnom destilatu je manji nego kod onog pripremljenog vakuum destilacijom. Nadalje, oštećeno voćno tkivo u kontaktu sa zrakom proizvodi velike količine acetaldehida (Casabianca i Graff, 1994.).

Aroma divlje maline

Miris divlje maline izražen je jače nego kod kultivirane. Međutim, na aromu jak utjecaj ima zagrijavanje, skladištenje i zamrzavanje. Aroma divlje maline opisana je 1980. visokim udjelom hlapivih kiselina. U divljoj malini su identificirane 3-metil i 3-metil-butanska kiselina, dok ih u kultiviranim sortama nema. Udio alkohola je također veći u divljim sortama nego u kultiviranim (Mahler i Qian, 2006.). Sadržaj ketona maline tri puta je veći u divljoj malini nego u kultiviranoj.

Nekoliko hlapljivih fenola je identificirano u divljim plodovima maline:

- eugenol,
- 4-vinilfenol,
- 2-metoksi-4-vinilfenol,
- 2-metoksi-5-vinilfenol,
- 3,4-dimetoksibenzaldehid,
- vanilin,
- (E)-cinamil alkohol,
- 4-(3-metoksi-4-hidroksifenil)-butan-2-on (gingeron).

Prvi put u divljoj malini su identificirani 5-metil-4-hidroksi-3(2H)-furanon , 2,3-dimetil-4-hidroksi-3(2H)-furanon (furaneol) i 2,5-dimetil-4-metoksi-3(2H)-furanon (mesi-furan) (Honkanen i sur.,1980.). Navedeni spojevi tvore aromu svježje divlje maline. Divlja malina ima manji udio alfa i beta-ionona nego kultivirana, ali je općenito njihov udio hlapivih sastojaka arome 3 – 4 puta veći od kultiviranih sorti.

2.5.6. Promjene u sastavu arome tijekom branja

Tvorba hlapljivih sastojaka arome tijekom berbe pokazuje zapažen porast u sadržaju terpena, dok sadržaj estera sporije raste. Udio geraniola, izoliranog iz maline 1960.(Stundt i Winter), ostaje gotovo isti kod sorte Lloyd George. Dominantni miris ruže u sorti Rose de Cote d'Or ovisi o udjelu geraniola. Dihidro- β -ionon dosegne svoj maksimum u fazi branja, dok β -ionon ostaje isti (Čović, 2010.).

2.5.7. Biosinteza arome maline

Proučavanjem biosinteze ketona maline i njenim sortama, otkriven je enzim, benzalaceton sintaza i trenutno se radi na njegovoj genetičkoj kontroli. Cilj je uklopiti gene benzalaceton sintaze u malinu radi veće produkcije arome. Izabran je genomski pristup za postizanje cilja. Tri poliketid sintaze gena su klonirane i karakterizirane iz stanične kulture maline (*Rubus idaeus L. cv Royalty*). Tri gena su pokazala veliku sličnost u svoja oba nukleotida i aminokiselina (Zeng i sur., 2001., Čović, 2010.).

Mnogo znanstvenika je proučavalo aromu maline unazad petnaestak godina. Shamaila, SkuraHugh i Anderson, 1993. su radili senzorsku, kemijsku i GC evaluaciju pet različitih sorti malina. Proučavali su „Chicotin“, „Chiliwack“, „Skeena“ i „Tulamen“ sorte maline i identificirali pomoću metode GC-MS 28 hlapljivih spojeva od kojih su najzastupljeniji terpeni α -pinen, sabinen, γ -terpinen, α i β -ionon i kariofilen. Hlapivi spojevi su varirali ovisno o sorti; benzaldehid (11,10-31,80 %), α -pinen (4,00-11,50 %), etil heptanon (6,90-15,20 %), β -mircen (13,20-19,60 %) i γ -terpinen (12,20-20,00 %).

Borejsza-Wysocki i Hrazdina istraživali su biosintezu p-hidroksifenilbutan-2-on (keton maline) u soku i tkivu maline. Navedeni spoj je karakterističan za aromu maline. Biosinteza se radila sa dva enzima, p-hidroksifenilbut-3-en-2-on sintazom i p-hidroksifenil-but-3-en-2-on reduktazom. Utvrđena je aktivnost oba enzima u ekstraktu malinovog soka i tkiva, te su identificirani produkti njihovih reakcija pomoću HPLC metode.

Ibanez i sur. su analizirali hlapljive sastojke arome maline SPME metodom koja se pokazala pouzdanom u analiziranju hlapivih sastojaka arome u voću. U novije metode spada BSBE (Stir Bar Sorptive Extraction) koja koristi minimalno vrijeme ekstrakcije da bi stvorila hlapljivi spektrom (Shamaila i sur., 1993.).

2.6. ODREĐIVANJE SASTOJAKA AROME

2.6.1. Plinska kromatografija

Kromatografija (grč.*chroma*-boja, *graphein*-pisati) je fizikalna metoda separacije u kojoj se vrši raspodjeljivanje sastojaka između dviju faza, jedna je nepokretna (stacionarna) faza, a druga se kreće u određenom smjeru te se zove pokretna (mobilna) faza. Kromatografska analiza se koristi za odjeljivanje, identifikaciju i kvantitativno određivanje kemijskih sastojaka koji su prisutni u smjesama složenog sastava. Kod plinske kromatografije plinovita ili tekuća mobilna faza nosi sastojke uzorka kroz stacionarnu fazu, a samo odjeljivanje se zasniva na njihovim različitim brzinama kretanja kroz stacionarnu fazu (Web 18).

Plinska kromatografija je najraširenija analitička tehnika i važan je dio opreme svih, kako industrijskih tako i znanstvenih laboratorija koji se bave analizom hrane i pića. Nudi brzu kvalitativnu i kvantitativnu analizu kompleksnih smjesa, značajan utjecaj ima na razvoj istraživanja tvari arome prirodnih materijala. Plinska kromatografija (GC) je instrumentalna separacijska tehnika i vjerojatno je najspretnija za separaciju organskih spojeva, smjesa i čistih tvari (Skoog i sur., 1999.).

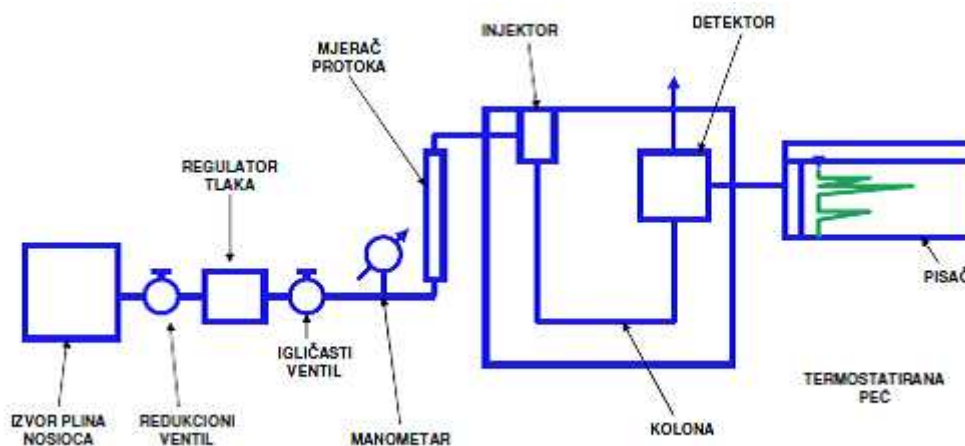
Bazira se na diferencijalnoj sorpciji sastojaka smjese koja se kreće u odnosu na neki kruti ili tekući adsorbens. Mobilna faza kod plinske kromatografije je u plinskom stanju, a stacionarna faza je kruti adsorbens ili tekućina nanosena na kruti nosač, a smještena je u kromatografskoj koloni pri ulasku smjese komponenti u kolonu. Ona se trenutno razdjeljuje između stacionarne i mobilne faze. Razdvajanje smjese hlapljivih sastojaka odvija se naizmjenično adsorpcijom i desorpcijom lakše hlapljivih sastojaka pod djelovanjem plina nositelja koji odnosi komponente kroz kolonu.

Odvajanje komponenata smjese, metodom plinske kromatografije, može se provesti na dva osnovna načina:

- diferencijalna adsorpcija na adsorbensu (plinska adsorpcijska kromatografija – GSC) i
- diferencijalno otapanje ili razdjeljivanje u odgovarajućoj selektivnoj tekućini nanosenoj na veliku površinu u tankom sloju (plinska tekućinsko-razdjelna kromatografija – GLC).

Poznate su tri kromatografske tehnike odjeljivanja: frontalna, istiskivanje i eluiranje (ispiranje), koje se mogu primijeniti kod oba načina komponenata smjese. Eluiranje je glavna tehnika plinske kromatografije zato što se kolona kontinuirano regenerira s inernim plinom nositeljem.

Određena količina ispitivane smjese uvodi se strujom inertnog plina (plin nositelj) u kromatografsku kolonu. Prolaskom kroz kolonu, smjesa se razdjeljuje između nepokretne faze i struje plina nositelja (pokretna faza). Plin nositelj ispire iz kolone pojedine frakcije, pa su sastojci na taj način promiješani samo s plinom nositeljem te je s toga olakšano kvalitativno i kvantitativno određivanje komponenata (Moslavac, 2003.).



Slika 9 Shematski prikaz plinske kromatografije (Vrdoljak, 2009.)

Plin nositelj

Svi kemijski inertni plinovi se mogu koristiti kao plin nositelj, međutim najviše se koriste vodik (H_2), dušik (N_2), helij (He_2) i argon (Ar). Odabir plina nositelja ovisi o vrsti detektora koji se koristi i o specifičnosti primjene. Plin mora biti inertan i ne smije reagirati sa uzorkom ili punilom u koloni. Plinski kromatograf se treba snabdijevati stalnom strujom plina iz čeličnih boca. Vrlo je važno da plin nositelj bude suh i pročišćen od nečistoća koje bi mogle dovesti do lošeg funkcioniranja uređaja, povećati razinu smetnji i kontaminaciju detektora, stoga se često posebno instaliraju uređaji za pročišćavanje plina. Helij visoke čistoće se smatra onaj koji sadrži najmanje 99,99% He.

Plin nositelj ne smije sadržavati ugljikovodike, međutim može doći do naknadne kontaminacije tijekom ponovnog punjenja u boce (Moslavac, 2003.). Zbog toga je potrebno staviti u dovod plina specijalne filtre koji plin suše te su napunjeni silika-gelom i molekularnim sitom pa uklanjaju vodu i organske nečistoće.

Konstantan tlak i protok plina moraju biti izregulirani. Stoga se na mjesto dovoda plina nositelja postavljaju regulatori tlaka, ventili i mjerači protoka. Brzina protoka plina se može izmjeriti jednostavnim mjeračem protoka s mjehurićem sapunice (soap bubble flowmetar). Vrijeme za koje se nastali mjehurić sapunice pomakne između dviju oznaka na flowmetru preračuna se brzinu protoka plina (Paulik, 2001.). Izbor plina nositelja ovisi o odgovarajućem radu detektora, sigurnosnim mjerama (H_2 je eksplozivan), cijeni (N_2 je najjeftiniji) te efikasnosti i brzini (Moslavac, 2003.).

Uređaj za unošenje uzorka (injektor)

Tekući uzorci najčešće se unose kroz silikonsku ili gumenu membranu, tj. septum u zagrijani dio uređaja koji se nalazi na vrhu kromatografske kolone. Međutim ovaj način unošenja uzorka ne zadovoljava kvantitativnu analizu plinova. Zato se za precizno doziranje plinova koristi uređaj za unošenje odmjerene količine plinskog uzorka.

Plinovite uzorke najbolje je unositi u kolonu pomoću plinskih (dozirnih) ventila. Unošenje čvrstih uzoraka provodi se najčešće nakon otapanja (Pichler, 2011.).

Kromatografske kolone

Kromatografsku kolonu čini cijev i nepokretna faza unutar nje, kroz koju prolazi pokretna faza. Pomoću njih se vrši razdvajanje pojedinih komponenata uzorka. Kolone za kromatografiju se izrađuju od metalnih, staklenih i plastičnih cijevi u koje se stavlja određeni sorbens, a različitog su oblika i dimenzija (Šiftar, 1968.).

Osnovni zahtjev koji se postavlja na kromatografsku kolonu je dobra selektivnost. Selektivnost kolone ovisi o izboru odgovarajućeg krutog nosača, načinu punjenja kolone, vrsti i količini selektivne tekućine.

Za dobro razdvajanje uzorka u GC najvažniji uvjet je dobar izbor selektivne tekućine koja mora biti:

- selektivna i dobro otapalo za sve sastojke uzorka,
- nehlapiva,
- termički stabilna i kod povišenih temperatura i
- kemijski inertna prema sastojcima uzorka koji se analizira.

Kolone mogu biti preparativne i analitičke. Preparativne kolone imaju promjer od 10 mm i više, a duljina im može biti i do nekoliko metara. Analitičke kolone se dijele na punjene, mikropunjene i kapilarne.

Punjene kolone se izrađuju od staklenih, metalnih (čelik, bakar, aluminij), plastičnih i teflonskih cijevi. U cijev se stavlja sitnozrnato punilo ili čvrsti nosač na koji se nanosi stacionarna tekuća faza u tankom sloju (0,05 – 1 μm). Kao čvrsti nosač koriste se inertne, termostabilne, mehanički čvrste tvari koje se sastoje od malih kuglastih zrnaca jednolične granulacije, koje ne apsorbiraju sastojke uzorka te koje imaju veliku specifičnu površinu po jedinici volumena.

Za izradu čvrstih nosača danas se najčešće koriste posebno obrađene prirodne dijatomejske zemlje, specijalni kruti nosači, teflonski prah i staklene kuglice. Kapilarne kolone se izrađuju od čelika, aluminijske, bakra, plastike, stakla te od izvučenog kvarca. Razlikuju se dvije osnovne vrste kapilarnih kolona:

- kapilarne kolone gdje je unutarnja stjenka cijevi prevučena s tankim slojem stacionarne faze i
- mikropunjene kolone koje su također kapilarnih dimenzija gdje je unutarnja stjenka prevučena s punilom sitnih čestica kao što je dijatomejska zemlja na koju je nanosena stacionarna faza.

Djelotvornost mikropunjenih kolona manja je od kapilarnih kolona, ali je znatno veća od punjenih kolona (Moslavac, 2003.).

Termostatirani prostor

Temperatura ima veliki utjecaj na efikasnost kolone. Precizan rad ostvaruje se održavanjem temperature kolone u granicama nekoliko desetinki stupnja. Zbog toga je kolona smještena u termostatirani prostor (Balenović, 1972.).

Za svaku vrstu spojeva postoji optimalna temperatura pri kojoj odabrana kolona najbolje razdvaja. Ta temperatura kolone koja je približno jednaka vrelištu odjeljivane komponente ovisi o vrelištu uzorka i stupnju traženog odjeljivanja kolone. Prihvatljivo vrijeme eluiranja (2 – 30 min) postiže se pri temperaturi jednakoj prosječnom vrelištu uzorka ili nešto višoj. Povišenjem temperature smanjuje se vrijeme potrebno za analizu, dok je kod nižih temperatura trajanje eluiranja duže te je analiza dugotrajnija (Moslavac, 2003.).

Detektor

Kao detektor u plinskoj kromatografiji može poslužiti svaki uređaj koji na osnovu nekog kemijskog ili fizikalnog svojstva izeluirane komponente registrira njenu prisutnost u plinu nositelju. Uređaj mora pokazati brz odaziv na male promjene koncentracije sastojaka za vrijeme njihove elucije iz kromatografske kolone.

Detekcija se može provoditi mjerenjima koja se zasnivaju na toplinskoj vodljivosti, radioaktivnoj i plamenoj ionizaciji, IR i UV spektrometriji, spektrometriji masa, nuklearno-magnetskoj rezonanciji, potencijometrijskoj i volumetrijskoj titraciji, itd. Najviše se koriste detektori koji su osjetljivi prema što većem broju sastojaka analiziranog uzorka, koji su brzi i mogu se koristiti u širokom temperaturnom intervalu.

Dominantno mjesto među detektorima koji se najčešće primjenjuju su detektor na toplinsku vodljivost i neki tipovi ionizacijskih detektora (Moslavac, 2003.).

Stacionarne faze

Osnovni zahtjev za stacionarne faze je toplinska stabilnost. Izbor stacionarne faze ovisi o vrsti spojeva koji se razdvajaju. Polimerni spojevi najviše ispunjavaju uvjet toplinske stabilnosti među kojima se ističu siloksantski polimeri svojom visokom toplinskom stabilnošću. Polimer koji sadrži CH_3 skupine kao supstituente je nepolaran gotovo kao ugljikovodik. Zamjenom CH_3 skupine polarnim fenilima dolazi do promjene polarnosti dok se uvođenjem cijanopropilnih skupina djelomično zamjenjuju fenilne skupine u silicijevom lancu što dovodi do faze s najvišom polarnošću među siloksanima. To omogućuje odvajanje umjereno polarnih i polarnih analita. Za odvajanje analita H-donora, kao što su alkoholi, koristi se polietilenglikol jer omogućuje interakcije koje se temelje na vodikovim vezama (Vrdoljak, 2009.).

2.6.2. Spektrofotometrija masa

Spektroskopija označava mjerenje elektromagnetskog zračenja koje neke tvari na određenoj valnoj duljini emitiraju ili adsorbiraju. Spektrometri su uređaji koji daju određene podatke o molekularnoj strukturi.

Spektrometar masa sastoji se od sustava za uvođenje uzorka, ionskog izvora, masenog analizatora i detekcijskog sustava. U uređaju se molekule uzorka bombardiraju sa snopom elektrona što rezultira ionizacijom zbog kidanja kemijskih veza, pri čemu nastaje niz različitih iona i fragmenata karakterističnih za pojedinu molekulu. Nastali se ioni u analizatoru masa razdvajaju djelovanjem magnetskog i električnog polja prema njihovom odnosu mase i naboja, to omogućava mjerenje njihove relativne količine iona.

Svaka vrsta iona ima određenu masu i naboj, tj. odnos m/e što predstavlja karakterističnu veličinu za tu vrstu iona. Naboj $e=1$ predstavlja vrijednost za većinu iona te je odnos m/e masa iona. Niz iona se tako analizira da se dobije signal za svaku vrijednost odnosa m/e . Intenzitet dobivenog signala pokazuje relativnu količinu iona koji taj signal daje. Najveći signal se zove osnovni signal čiji se intenzitet označava sa 100, a intenzitet ostalih signala izražava se prema njemu.

Spektar masa predstavlja dijagram koji pokazuje relativne intenzitete signala za različite vrijednosti odnosa m/e i karakterističan je za određeni spoj. S obzirom da svaki kemijski spoj daje karakterističan maseni spektar koji služi za njegovu identifikaciju, kod analize smjese s više komponenti svaka od njih će dati svoj spektar, a ukupni spektar smjese će biti rezultat linearnog zbrajanja komponenta (Young i sur., 1996.).

Spektar masa može se primijeniti za dokazivanje identičnosti dvaju spojeva i kao pomoć pri određivanju strukture novog spoja. Struktura nepoznatog spoja može se odrediti preko molekularne težine ili preko molekularne formule (Vrdoljak, 2009.).

SPME analize

Godine 1993. Zhang i Pawliszyn razvili su novu tehniku pripreme uzoraka poznatu kao mikroekstrakcija na čvrstoj fazi ili tzv.SPME (eng. solid phase microextraction) tehnika. Ova tehnika je zamijenila najčešće korištene analitičke tehnike, ekstrakciju tekuće-tekuće ili ekstrakciju na čvrstoj fazi te se odnedavna koristi za pripremu različitih čvrstih i tekućih uzoraka poput voća, vina, piva, meda i ulja.

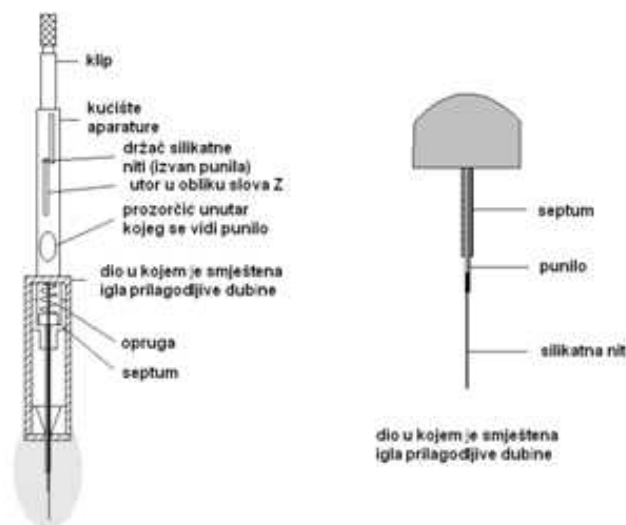
SPME se sastoji od dvije odvojene faze, adsorpcije i desorpcije. Čimbenici koji utječu na ekstrakciju su vrsta uzorka, vrijeme ekstrakcije, ionska jakost, pH uzorka, temperatura ekstrakcije i mućkanje, dok na desorpciju utječu temperatura i vrijeme desorpcije. HS-SPME je tehnika koja se koristi za analizu širokog spektra hrane, vina i alkoholnih pića, budući da je brza, zahtijeva manju manipulaciju te je ekonomski prihvatljiva. Isto tako, omogućuje otkrivanje tragova arome koje nisu prepoznatljive konvencionalnom ekstrakcijom tekuće-tekuće.

Karakteristike SPME

Primjenom SPME tehnike kombinira se ekstrakcija i koncentriranje te je omogućen i direktan prijelaz adsorbiranih sastojaka u injektor plinskog kromatografa, a na taj način se sprječava ulaz kisika i vlage u kolonu plinskog kromatografa. Ovom tehnikom omogućeno je i koncentriranje sastojaka prisutnih u tragovima unutar sloja punila koja ima mali volumen, ali veliki koeficijent raspodjele sastojaka između punila i uzorka za velik broj organskih spojeva.

SPME aparatura

SPME aparatura se sastoji od kućišta unutar kojeg se nalazi igla. Adsorpcija sastojaka odvija se unutar igle na polimernoj stacionarnoj fazi prevučenoj preko silikatne niti dužine 1 cm. Igla štiti punilo tijekom uporabe i čuvanja, posebice prilikom prolaza kroz septum injektora plinskog kromatografa.



Slika 10 SPME aparatura (Gyorgy i Karoly, 2004.)

Eksperimentalni uvjeti SPME uzrokovanja

SPME uzorkovanje je jednofazni proces. Prilikom pripreme uzoraka za SPME tehniku od velike je važnosti održavati određene uvjete, kao što su temperatura adsorpcije i vrijeme adsorpcije konstantnim budući da promjena tih uvjeta može utjecati na udio sastojaka adsorbiranih na punilo i na odgovarajuću reproducibilnost.

Punila

Za SPME tehniku upotrebljavaju se različita punila ovisno o vrsti i debljini stacionarne faze. Najčešća punila su sa slojem polidimetilsiloksana, sa slojem poliakrilata, kao i različite kombinacije PDMS/Carbonex, PDMS/DVB, Carbowax/divinilbenzen i dr.

Nepolarna punila s polidimetil-siloksanom (PDMS) vrlo su djelotvorna za molekule male i srednje molekulske težine, neovisno jesu li polarne ili nepolarne te se stoga najčešće upotrebljavaju.

Utjecaj soli

Osjetljivost SPME tehnike značajno se mijenja povećanjem koncentracije soli. Sol može utjecati na četiri različita načina na promatrane aromatične sastojke:

- kod većine sastojaka adsorpcija se povećava s povećanjem koncentracije soli (etil-butanoat, benzaldehid, linalool, neral),
- adsorpcija sastojaka se poveća na početku, a potom kod veće koncentracije soli prestaje (etil-acetat, geraniol),
- na početku se adsorpcija poveća, a onda se povećanjem koncentracije soli smanjuje (etil-kapronat, kapronska kiselina) i
- adsorpcija se smanjuje povećanjem koncentracije soli (limonen).

Volumen uzorka

Osim što udio sastojaka adsorbiranih na punilo ovisi o početnoj koncentraciji uzorka, ovisi i o volumenu uzorka. Vrlo je važno održavati konstantnim volumen uzorka, volumen tikvice i položaj igle s punilom u nadprostoru tikvice jer se povećanjem volumena uzorka naglo povećava trajanje adsorpcije koje kod većeg volumena uzorka ostaje gotovo konstantno.

Miješanje uzorka i trajanje ekstrakcije

Konstantnim miješanjem vodenih uzoraka postiže se brže uspostavljanje ravnoteže između vodene i plinovite faze, a kod manje hlapivih sastojaka i smanjenjem volumena nadprostora te povišenjem temperature uzorka, kraće vrijeme ekstrakcije i niža temperatura injektora (5min/250°C) rezultiraju kromatogramom s većim i jasno odijeljenim pikovima sastojaka manje molekulske mase npr. acetaldehid. Duže vrijeme ekstrakcije i viša temperatura injektora rezultiraju većim brojem pikova terpena (Vrdoljak, 2009.).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Istražiti pripravu 9 različitih pasta od maline dodatkom kombinacija šećera saharoze, fruktoze ili trehaloze te hidrokoloida (guar i karaya) prema unaprijed određenoj recepturi sa termičkom obradom do suhe tvari od 35 %.

3.2. MATERIJAL I METODE

3.2.1. Priprema kaše i paste maline

Za pripremu pasta od maline upotrijebljene su maline sorte Wilamet, uzgojene napodručju općine Orahovica i čuvane u zamrznutom stanju na temperaturi -20°C prije upotrebe. Svježe maline su prvo probrane, oprane i potom pasirane. Za pripremu paste maline je odvagano 1000 g kaše malina u 9 posuda. U istraživačkom laboratoriju sirovine (kaša maline, šećeri, hidrokoloidi) za pripremu pasta od maline su bile pomiješane prema sljedećoj recepturi:

- kaša maline i 27 % saharoze (S),
- kaša maline, 17 % saharoze i 10 % fruktoze (SF),
- kaša maline, 25,4 % saharoze i 1,6 % trehaloze (ST),
- kaša maline, 27 % saharoze i 0,05 % karaye (S+K),
- kaša maline, 27 % saharoze i 0,05 % guara (S+G),
- kaša maline, 17 % saharoze, 10 % fruktoze i 0,05 karaye (SF+K),
- kaša maline, 17 % saharoze, 10 % fruktoze i 0,05 guara (SF+G),
- kaša maline, 25,4 % saharoze, 1,6 % trehaloze i 0,05 % karaye (ST+K) i
- kaša maline, 25,4 % saharoze, 1,6 % trehaloze i 0,05 % guara (ST+G);

Tako dobivene smjese sirovina korištene su za pripremu pasta od maline termičkom obradom. Smjesa je zagrijavana 15 minuta na 80°C uz konstantno miješanje. Nakon toga je još vruća pasta punjena u sterilne bočice od 0,2 L, zatvarana i pasterizirana u vodenoj kupelji na 85°C, 15 minuta. Radi usporedbe sa pripremljenim pastama, aromatični sastojci su ispitivani u svježoj (SM) i pasteriziranoj (PM) kaši maline.

Dodaci:

saharoza,

Fruktoza, $M = 180,16 \text{ g/mol}$ - Merck (Njemačka),

Trehaloza, $M = 342,3 \text{ g/mol}$ – Merck (Njemačka),

Guar, Sigma – Aldrich Chemie (Njemačka),

Karaya, Sigma – Aldrich Chemie (Njemačka);

3.2.2. Analiza spojeva arome

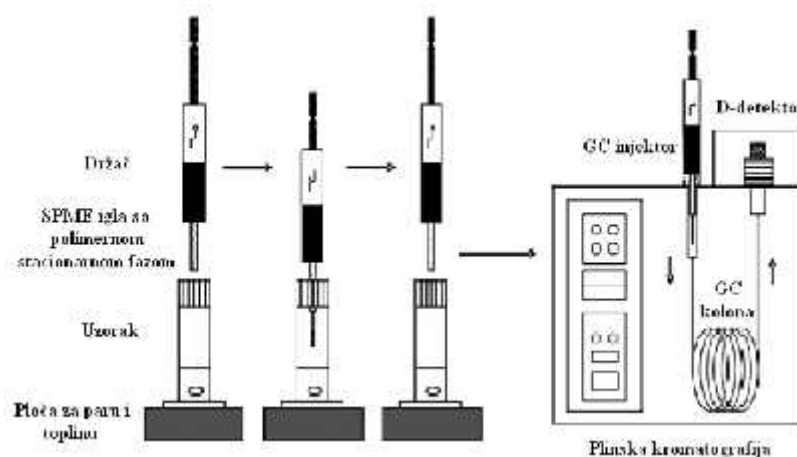
Priprema uzorka za analizu:

Prilikom pripreme uzorka korištena je tehnika mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME) za koju je neophodna SPME aparatura. Osnova SPME aparature je igla unutar koje se na polimernu stacionarnu fazu adsorbiraju aromatični sastojci. U radu je za pripremu uzoraka korišteno punilo od polidimetilsiloksana (polimerna stacionarna faza) debljine $100 \mu\text{m}$.

Postupak:

U bočicu od 10 ml odvaže se 5 g uzorka paste maline. Doda se 1 g NaCl radi bolje adsorpcije aromatičnih sastojaka. U bočicu se ubaci magnet te se hermetički zatvori teflonskim čepom. Bočica se postavi u posudu s vodom te se, uz stalno miješanje uzorka magnetskom miješalicom, aromatični sastojci adsorbiraju na polimernu stacionarnu fazu (unutar igle). Prije samog ispuštanja igle u nadprostor uzorka, uzorak se 10 minuta miješa na vodenoj kupelji (25°C) radi zasićenja nadprostora sa svrhom što bolje adsorpcije aromatičnih sastojaka. Adsorpcija se provodi na temperaturi od 25°C (vodena kupelj) u trajanju od 25 minuta. Po završetku adsorpcije igla s adsorbiranim sastojcima odmah se stavlja u injektor plinskog kromatografa te slijedi njihova toplinska desorpcija (Slika 11).

Određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka paste maline provedeno je primjenom instrumentalne plinske kromatografije. U radu je korišten plinski kromatograf tvrtke Hewlett Packard 5890 Series II s masenim-selektivnim detektorom Hewlett Packard 5971A.



Slika 11 Korištenje SPME holdera za uzorkovanje i analizu

Uvjeti rada plinskog kromatografa

Parametri ekstrakcije:

Temperatura ekstrakcije: 25°C,

Vrijeme ekstrakcije: 25 min,

Tip mikroekstrakcije igle: 100 µm PDMS (Supelco).

GC – MS analitički uvjeti:

Kolona: CP – WAX; 60 m x 0,25 mm x 0,25 µm (Varian),

Početna temperatura: 40°C (5 min),

Temperaturni gradijent: 4°C/ min,

Plin nosač: helij (čistoće 6,0) s protokom 1 mL/ min pri 40°C,

Konačna temperatura: 230°C,

Temperatura injektora: 250°C,

Temperatura detektora: 280°C,

Desorpcija uzorka u injektor: 5 min.

U prvih pola minute kromatografske analize korišten je splitless mod, a nakon toga split mod.

4. REZULTATI I RASPRAVA

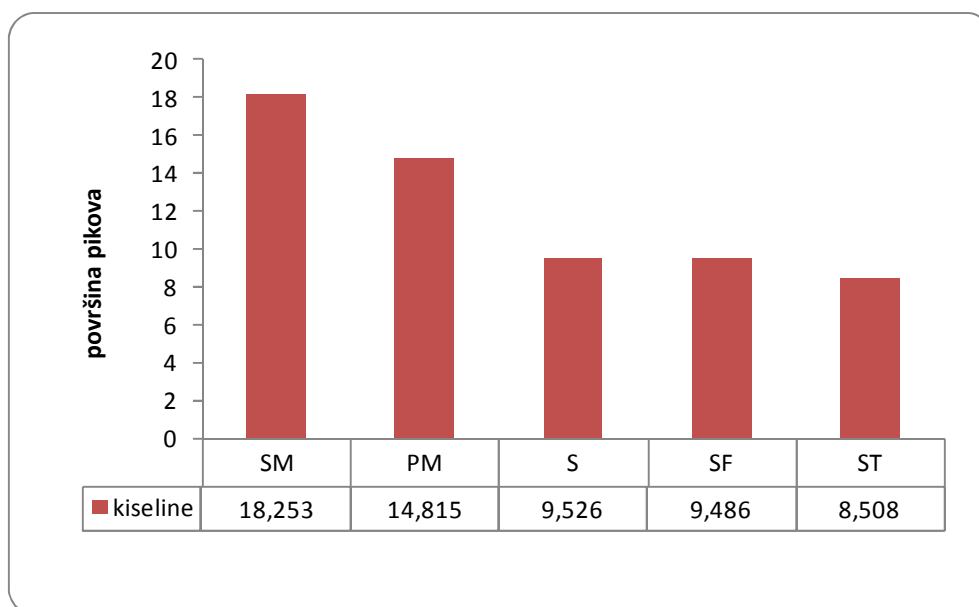
4.1. TABLIČNI PRIKAZI ANALIZOM DOBIVENIH REZULTATA

Određivani su odabrani sastojci arome.

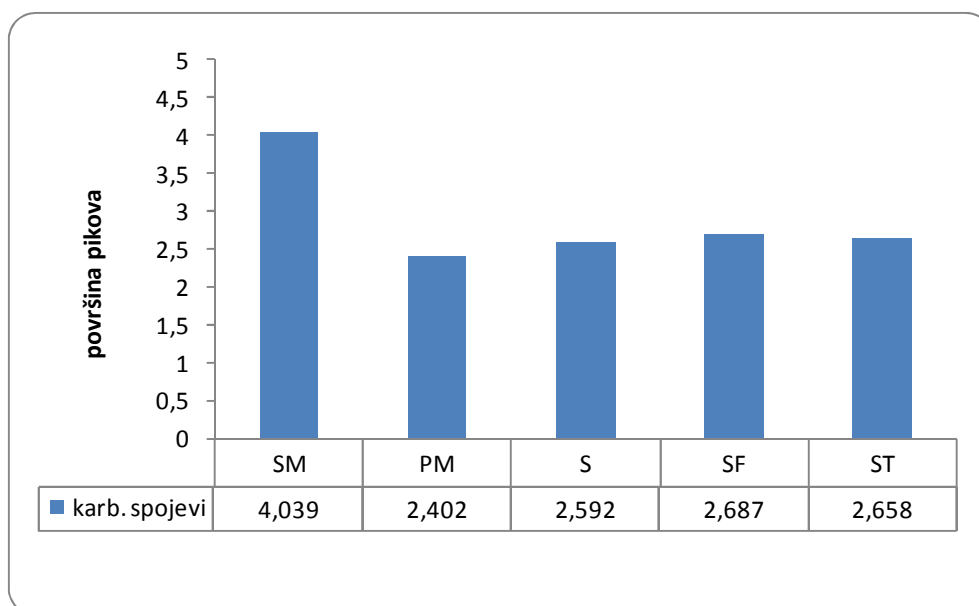
Tablica 6 Aromatični sastojci identificirani u pastama maline

SASTOJAK	RT*
Terpenoidi	
α -felandren	15,95
Limonen	17,36
1-felandren	17,72
Linalool	30,19
β -kariofilen	32,29
α -terpineol	35,19
Geraniol	39,51
α -jonon	40,03
α -jonol	41,05
β -jonon	42,54
Karbonilni spojevi	
2-nonanon	24,81
2-undekanon	32,07
2-dodekanon	38,57
Kiseline	
Octena kiselina	27,11
Heksanska kiselina	40,23
Oktanska kiselina	45,32
Nonaska kiselina	48,03
Dekanska kiselina	54,61

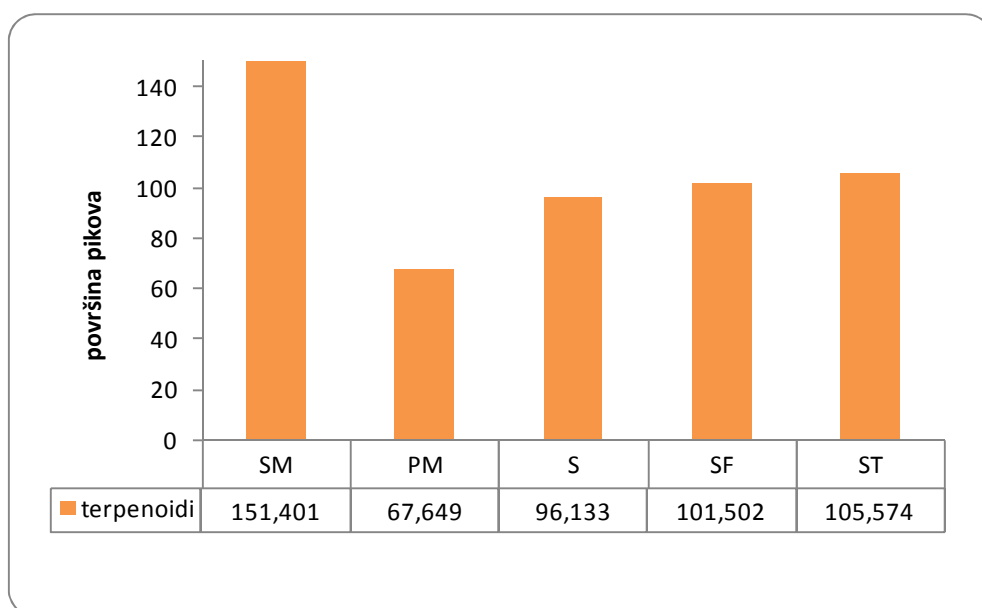
*vrijeme zadržavanja aromatičnih sastojaka (retencijsko vrijeme) (min)



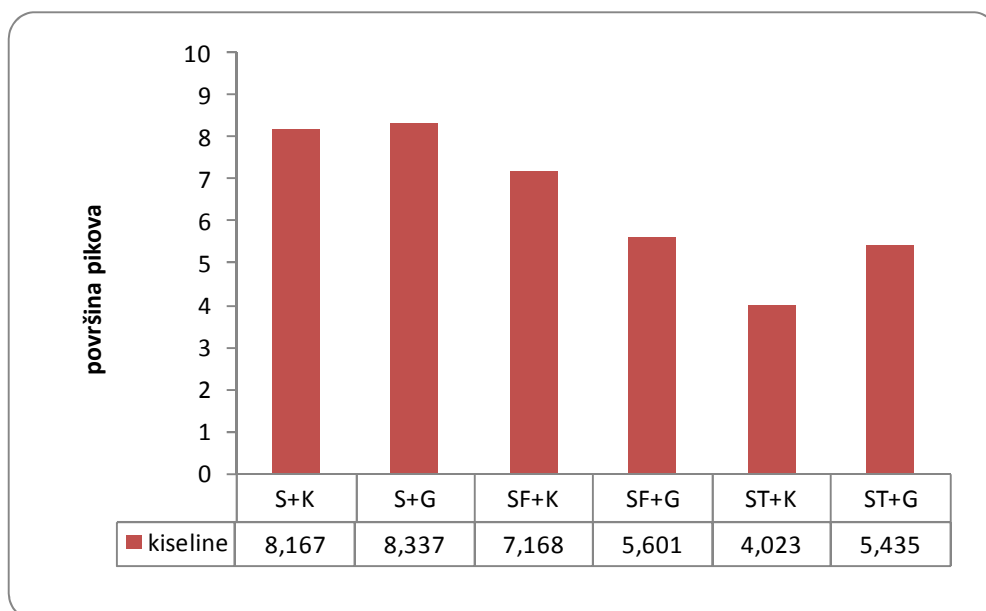
Slika 12 Zadržavanje kiselina u svježoj i pasteuriziranoj kaši maline te pastama maline sa dodatkom šećera S, SF, ST (pojedinačno i u smjesama)



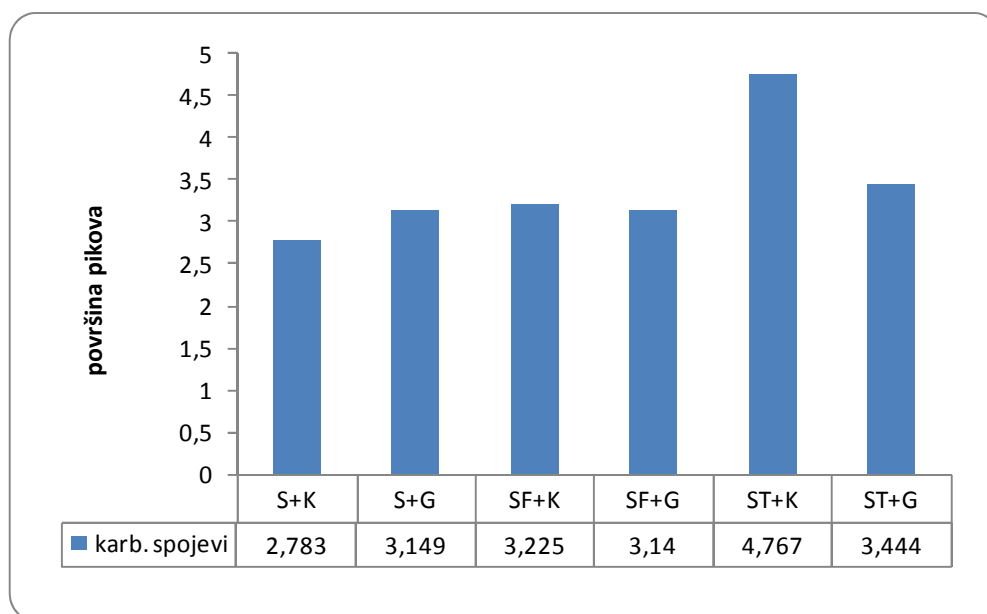
Slika 13 Zadržavanje karbonilnih spojeva u svježoj i pasteuriziranoj kaši maline te pastama maline sa dodatkom šećera S, SF, ST (pojedinačno i u smjesama)



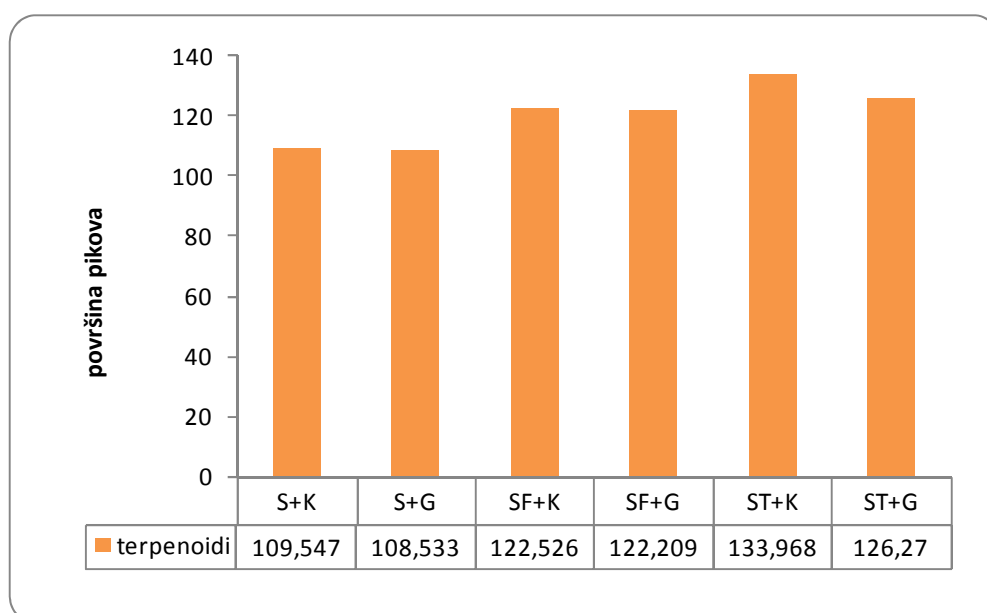
Slika 14 Zadržavanje terpenoida u svježoj i pasteuriziranoj kaši maline te pastama maline sa dodatkom šećera S, SF, ST (pojedinačno i u smjesama)



Slika 15 Zadržavanje kiselina u pastama maline sa dodatkom šećera S, SF, ST i hidrokoloida K i G



Slika 16 Zadržavanje karbonilnih spojeva u pastama maline sa dodatkom šećera S, SF, ST i hidrokoloida K i G



Slika 17 Zadržavanje terpenoida u pastama maline sa dodatkom šećera S, SF, ST i hidrokoloida K i G

Tablica 7 Utjecaj dodataka različitih šećera i pasterizacije na zadržavanje α -jonona, α -jonola, β -jonona i heksanske kiseline u kaši i pastama od maline (izraženo u površinama pikova)

Uzorak	α -jonon	α -jonol	β -jonon	Heksanska kiselina
Svježa kaša maline	60,45 ^d ±5,42	13,26 ^c ±3,23	84,92 ^c ±1,52	50,43 ^a ±1,81
pasterizirana kaša maline	18,44 ^a ±1,51	9,85 ^a ±1,55	42,59 ^a ±0,46	1,64 ^b ±1,15
S	27,51 ^b ±3,18	11,51 ^b ±1,89	46,63 ^a ±1,42	1,35 ^b ±4,63
SF	32,51 ^c ±3,93	11,39 ^b ±4,12	50,54 ^b ±2,78	1,11 ^b ±1,39
ST	35,86 ^c ±3,11	11,15 ^b ±2,34	51,37 ^b ±2,79	1,11 ^b ±2,78

(S, saharoza; F, fruktoza; T, trehaloza)

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-d) su statistički značajno različite ($P < 0,05$)

Tablica 8 Utjecaj dodataka različitih šećera i hidrokoloida na zadržavanje α -jonona, α -jonola, β -jonona i heksanske kiseline u pastama od maline (izraženo u površinama pikova)

Uzorak	α -jonon	α -jonol	β -jonon	Heksanska kiselina
S+K	36,74 ^a ±4,26	9,31 ^d ±1,48	55,53 ^a ±2,23	0,98 ^c ±1,22
S+G	40,81 ^b ±3,39	10,32 ^e ±5,94	58,78 ^a ±1,54	1,06 ^c ±1,43
SF+K	42,31 ^b ±1,35	7,64 ^b ±3,87	60,58 ^b ±5,94	0,73 ^b ±0,18
SF+G	35,99 ^a ±5,07	8,25 ^c ±2,23	52,42 ^a ±1,62	0,93 ^c ±3,69
ST+K	44,25 ^c ±3,94	6,72 ^a ±2,86	71,91 ^c ±1,62	0,49 ^a ±1,77
ST+G	42,38 ^b ±0,58	7,29 ^b ±2,88	64,46 ^b ±2,56	0,52 ^a ±2,03

(S, saharoza; F, fruktoza; T, trehaloza; K – karaja; G – guar)

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-e) su statistički značajno različite ($P < 0,05$).

4.2. REZULTATI

Rezultati istraživanja dodataka šećera (saharoze, S; saharoze i fruktoze, SF; saharoze i trehaloze, ST) i hidrokoloida (karaya, K; guar, G) na zadržavanje pojedinih aromatičnih sastojaka različitih pasta od maline su prikazani u Tablicama 7-8 i na Slikama 12-17.

Kao što se može vidjeti u Tablici 6 u pastama maline identificirano je osamnaest aromatičnih sastojaka. Radi boljeg prikaza i uočavanja razlika u zadržavanju pojedinih identificiranih aromatičnih sastojaka, sastojci su podijeljeni u tri skupine. To su kiseline, karbonilni spojevi i terpenoidi. Najveći dio svih aromatičnih sastojaka prisutan je u svježoj kaši maline, dok je u pasteriziranoj kaši kao i pripravljenim pastama došlo do većih ili manjih gubitaka aromatičnih sastojaka.

Kiseline

U Tablici 6 može se vidjeti da su u pastama maline identificirane octena, heksanska, oktanska, nonanska i dekanska kiselina. Heksanska kiselina doprinosi nepoželjnoj aromi voća (Ulrich, 1997.). Određena je u vrlo maloj količini u svježoj kaši maline kao i u pasteriziranoj te u svim pastama.

Tablica 7 pokazuje da pasterizacija kao i dodatak bilo koje kombinacije šećera utječe na smanjenje sadržaja heksanske kiseline. Na dodatno smanjenje sadržaja heksanske kiseline imale su smjese šećera (S, SF, ST) hidrokoloida (Tablica 8). Značajnije manji sadržaj heksanske kiseline zamijećen je dodatkom šećera ST i karaye.

Općenito, sadržaj kiselina u svim pastama je značajno manji u odnosu na svježu kašu maline. Dodatak šećera S i SF podjednako utječe na smanjenje sadržaja kiselina u odnosu na pasteriziranu kašu maline, dok je utjecaj šećera ST veći (Slika 12).

U pastama maline sa dodatkom šećera i hidrokoloida, najmanji utjecaj na smanjenje sadržaja kiselina ima saharoza sa bilo kojim hidrokoloidom. Smjese (SF+K i SF+G) kao i ST+G imaju nešto veći utjecaj na smanjenje sadržaja kiselina, dok najveći utjecaj ima ST+K (Slika 15). Najveći dio svih aromatičnih sastojaka prisutan je u svježoj kaši maline, dok je u pasteriziranoj kaši kao i pripravljenim pastama došlo do većih ili manjih gubitaka aromatičnih sastojaka.

Karbonilni spojevi

Iz skupine karbonilnih spojeva u radu je ispitivano djelovanje na 2-nonanona, 2-undekanona i 2-dodekanona. Navedeni sastojci zadržani su u svim pastama maline. Na slici 13 prikazano je zadržavanje karbonilnih spojeva koje se kretalo u rasponu od 2,402 u pasteriziranoj kaši maline pa do 4,767 u pasti maline sa dodatkom ST+K (izraženo u površinama pikova). U literaturi se često svježja, zelena mirisna voćna nota vezuje uz prisustvo karbonilnih sastojaka (Fischer i Hammerschmidt, 1992; Mallowicki i sur., 2008a). Toplinskom obradom ili smrzavanjem dolazi do smanjenja udjela tih sastojaka pa su zamjetne razlike u aromi u odnosu na svježje voće (Douillard i Guichard, 1990; Schieberle, 1994; Ibanez i sur., 1998.). Karbonilni sastojci su u približno istom sadržaju zadržani u pastama maline sa dodatkom šećera (S, SF i ST) (Slika 13). Dodatak bilo koje kombinacije dodanog šećera nije doprinio puno većem zadržavanju karbonilnih sastojaka u odnosu na pasteriziranu kašu maline.

Smjesa šećera i hidrokoloida je također utjecala na sadržaj karbonilnih sastojaka. Najmanje zadržavanje je uočeno kod dodatka saharoze i karaye, a najveće kod dodatka ST i karaye. Podjednak utjecaj na sadržaj karbonilnih sastojaka je imao dodatak saharoze i guara, kao i SF sa bilo kojim hidrokoloidom (Slika 16).

Terpenoidi

Rezultati ranijih istraživanja istaknuli su terpenoide kao vrlo važnu skupinu aromatičnih sastojaka maline (Pyysalo i sur., 1976.; Honkanen i Hirvi, 1990.; Larsen i sur., 1991.; Malowicki i sur., 2008b.) pa su stoga oni i izdvojeni kao zasebna skupina. Od terpenoida u radu je određivano zadržavanje α -felandrena, limonena, 1-felandrena, linaoola, β -kariofilena, α -terpineola, geraniola, α -jonona, α -jonola i β -jonona.

Na slikama 14 i 17 prikazani su rezultati sadržaja odabranih terpenoida u uzorcima sa dodatkom šećera (pojedinačno i u smjesama) te šećera i hidrokoloida. Iz rezultata na slici 14 vidi se da dodatkom šećera u pastu maline dolazi do povećanja sadržaja terpenoida u odnosu na pasteriziranu kašu maline. Povećanje sadržaja terpenoida je podjednako dodatkom bilo koje kombinacije šećera (S, SF ili ST).

U Tablici 7 prikazan je utjecaj dodatka šećera (S, SF, ST) na zadržavanje α -jonona, β -jonona i α -jonola. Iz rezultata se vidi da smjesa šećera ST ima najveći utjecaj na zadržavanje α i β -jonona (najzastupljeniji terpenoidi u malini) u odnosu na uzorak pasterizirane kaše maline, dok na zadržavanje α -jonola najviše utječe dodatak šećera saharoze.

Što se tiče dodatka šećera (S, SF, ST) i hidrokoloida (K, G) na sadržaj terpenoida (Slika 17) vidi se da dodatkom hidrokoloida dolazi do povećanja sadržaja terpenoida u odnosu na uzorke sa dodatkom šećera (pojedinačno i u smjesama). Najveći utjecaj na sadržaj terpenoida u pasti maline imao je dodatak smjese šećera ST i K. Sadržaj terpenoida u tom uzorku bio je 1,27 puta veći nego u uzorku sa dodatkom smjese šećera ST.

U Tablici 8 prikazan je utjecaj dodatka šećera (S, SF, ST) i hidrokoloida (K, G) na zadržavanje α -jonona, β -jonona i α -jonola. Iz rezultata se vidi da smjesa šećera ST i karaye ima najveći utjecaj na zadržavanje α i β -jonona, dok na zadržavanje α -jonola najviše utječe dodatak šećera S i guara.

5. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- U pastama od maline sa ispitivanim dodacima u odnosu na pasteriziranu kašu puno je veće zadržavanje ukupne arome i pojedinih aromatičnih sastojaka.
- Najveće zadržavanje ukupne arome postignuto je dodatkom šećera saharoze i trehaloze u kombinaciji sa dodatkom hidrokoloida karaye.
- Na temelju rezultata istraživanja dobiven je dublji uvid u mehanizam djelovanja različitih smjesa šećera, posebice smjese saharoze sa trehalozom te hidrokoloida kao dodataka koji omogućavaju bolje zadržavanje i očuvanje aromatičnih sastojaka tijekom priprave paste od maline.
- Sposobnost trehaloze da zadržava hlapive aromatične molekule odgovorne za karakterističnu aromu voća otvara mogućnosti primjene istih u razvoju novih proizvoda ili pak poboljšanju postojećih proizvoda s ciljem poboljšanja kvalitete.

6. LITERATURA

- Balenović Z: Priručnik praktične plinske kromatografije, Perkin-Elmer, Zagreb, 1972.
- Borejsza-Wysocki W, Hrazdina G: Biosynthesis of p-hydroxyphenylbutan-2-one in raspberry fruit and tissue cultures. *Phytochemistry* 35: 623-628, 1994.
- Briš A: Utjecaj dodatka šećera, modificiranih škrobova i hidrokoloida na termofizikalna svojstva kaše maline. *Diplomski rad*, Prehrambeno tehnološki fakultet u Osijeku, str. 9, 2007.
- Carr M J: *Food Technology*, 47(10) 100, 1993.
- Casabianca H, Graff J B: Enantiomeric and isotopic analysis of flavour compounds of some raspberry cultivars, *Journal Chromatographic A*, 684, 1994.
- Čović M: Utjecaj skladištenja na aromu pasta maline sa dodatkom šećera i hirokoloida. *Diplomski rad*, Prehrambeno-tehnološki fakultet u Osijeku, str. 2 – 21, 2010.
- Douillard C, Guichard E: The aroma of strawberry (*Fragaria ananassa*): characterisation of some cultivars and influence of freezing. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 50: 517-531, 1990.
- Dziezak J D: *Food Technology*, 46(3) 118 – 130, 1991.
- Ergović M: Utjecaj skladištenja na reološka svojstva kaše maline sa dodatkom šećera, modificiranih škrobova i hidrokoloida. *Diplomski rad*, Prehrambeno tehnološki fakultet u Osijeku, str. 1 – 3, 2007.
- Fischer N, Hammerschmidt FJ: A contribution to the analysis of fresh strawberry flavour. *Technologie und Chemie der Lebensmittel* 14: 141-148.
- Gloc K: Utjecaj hidrokoloida na reološka svojstva soka jagode. *Diplomski rad*, Prehrambeno tehnološki fakultet u Osijeku, str. 6 – 7 , 9 – 11, 2002.
- Gordon I R, Krishnakumar V: *Hydrocolloids in West Europe*. *International Food ingredients*, 3 : 30 – 33, 1990.

- Gyorgy V, Karoly V: Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *Journal of Mass Spectrometry*,39: 233-254, 2004.
- Heath, H. B., Flavor technology: profiles, products, application, Westport, Avi publishing company, 1978.
- Honkanen E, Pyysalo T, Hirvi T: The aroma of Finnish wild raspberries, *Rubus idaeus*, L. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A* 171:180–182, 1980.
- Ibanez E, Lopez-Sebastian S, Ramos E, Tabera J, Reglero G: Analysis of volatile fruit components by headspace solid-phase microextraction, *Food Chemistry* 63, 1998.
- Ivković-Balja T: Zdravlje u voću, Zagreb, str. 124 – 127, 2000.
- Larsen M, Poll L, Callesen O, Lewis M: Relations between the aroma compounds and the sensory evaluation of 10 raspberry varieties (*Rubus idaeus*) L. *Acta Agriculture Scandinavia* 41: 447-454, 1991.
- Latrasse A, Lantin B, Mussillon P, Sarris J: Raspberry (*Rubus idaeus* L.) aroma quality. I. Rapid colorimetric determination of an aroma index using vanillin in concentrated sulfuric solution. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 15: 19–21, 1982.
- Latrasse A: Raspberry (*Rubus idaeus* L.) aroma quality. II. Analysis of the aroma index. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 15: 49–51, 1982.
- Lovrić T, Piližota V: *Konzerviranje i prerada voća i povrća*. Zagreb, str. 80 – 82, 1994.
- Maarse H: Volatile Compounds in Foods and Beverages, CRC Press, 1991.
- Mahler S, Qian M: Quantification of raspberry aroma by stir bar sorptive extraction gas chromatography-mass spectrometry, *Horticulture Crops Research* 2, 2006.
- Malowicki SMM, Martin R, Qian MC: Comparison of sugar, acids, and volatile composition in raspberry bushy dwarf virus-resistant transgenic raspberries and the wild type 'Meeker' (*Rubus idaeus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*56: 6648–6655, 2008a.

- Malowicki SMM, Martin R, Qian MC: Volatile composition in raspberry cultivars grown in the Pacific Northwest determined by stir bar sorptive extraction-gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 4128–4133, 2008b.
- Moslavac T: Koncentriranje model otopina alkohola, estera i aldehida reverznom osmozom. *Doktorski rad*. Prehrambeno tehnološki fakultet u Osijeku, 2003.
- Niketić-Aleksić: *Tehnologija voća i povrća*. Institut za prehrambenu tehnologiju i biokemiju, Beograd 1982.
- Niketić-Aleksić, Vereš M, Dobljanin M: *Priručnik za industrijsku preradu voća i povrća*. Štamparsko-Izdavačko poduzeće "Dragan Srnić", Šabac, Vite Vraştanovića 3, Beograd 1977.
- Nindo C I, Tang J, Powers J R, Singh P: *Viscosity of blueberry and raspberry juices for processing applications*. *Journal of Food Engineering*, 69, 343 – 350, 2005.
- Opačak D: Utjecaj skladištenja na kemijski sastav pasterizirane kaše maline sa dodatkom šećera, modificiranih škrobova i hidrokoloida. *Diplomski rad*, Prehrambeno tehnološki fakultet u Osijeku, str. 1, 2006.
- Paulik P: Utjecaj tlaka i udjela različitih alkohola na koncentriranje vodenih otopina reverznom osmozom s membranom HR 98. *Diplomski rad*, Prehrambeno tehnološki fakultet u Osijeku, str. 31 – 37, 2001.
- Perez AG, Rios JJ, Sanz C, Olias JM: Aroma components and Free Amino Acids in Strawberry Variety Chandler during Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 2232-2237, 1992.
- Pichler A: Utjecaj dodataka i skladištenja na kvalitetu, reološka i termofizikalna svojstva paste od maline. *Doktorski rad*, Prehrambeno-tehnološki fakultet u Osijeku, str.5 - 14, 31, 35.

- Pinto SS, Diogo HP, Moura-Ramos JJ: Crystalline anhydrous α,α -trehalose (polymorph β) and crystalline dihydrate α,α -trehalose: A calorimetric study. *The Journal of Chemical Thermodynamics* 38: 1130-1138, 2006.
- Pozderović A: Proučavanje fenomena zadržavanja odnosno gubitka tvari arome voća tijekom liofilizacije na model sistemima. *Doktorski rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet Zagreb, 1984.
- Radmilović M: Utjecaj načina pripreme otopina hidrokoloida na njihova reološka svojstva. *Diplomski rad*, Prehrambeno tehnološki fakultet u Osijeku, str. 18 – 19, 1996.
- Schieberle P: Heat-induced changes in the most odour-active volatiles of strawberries. U *Trends in Flavour Research*. H. Maarse, D. G. Van der Heij (ur.), Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, 345-351, 1994.
- Shamaila M, Daubeney B S, Anderson A: Sensory, chemical and gas chromatographic evaluation of five raspberry cultivars, *Food Research International* 26, 1993.
- Skoog D A, West D M, Holler F J: Osnove analitičke kemije. ŠK, Zagreb, 1999.
- Stanković D M: *Opšte voćarstvo*. Izdavačko-Štamparsko poduzeće "Minerva", Subotica-Beograd, str. 18 – 20, 1973.
- Suman K: Utjecaj udjela suhe tvari na kemijski sastav i organoleptička svojstva preljeva od maline. *Diplomski rad*, Prehrambeno tehnološki fakultet u Osijeku, str. 1 – 16, 2005.
- Šiftar Đ D: Osnovi plinske kromatografije, Tehnološki fakultet, Zagreb, 1968.
- Šubarić D: Proučavanje promjena reoloških svojstava smjesa hidrokoloida i škrobova pri niskim temperaturama. *Magistarski rad*, Zagreb, 1994.
- Trajković T, Mirić M, Baras J, Šiler S: Analiza životnih namirnica, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, 1983.

- Ulrich D, Hoberg E, Rapp A, Kecke S: Analysis of strawberry flavour-discrimination of aroma types by quantification of volatile compounds. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A*205: 218-223, 1997.
- Van der Maarel MJEC, Van der Veen B, Uitdehaag JCM, Leemhuis H, Dijkhuizen L: Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. *Journal of Biotechnology*2: 137-155, 2002.
- Vrdoljak I: Utjecaj membranske filtracije na aromu i kemijski sastav vina sorte Graševina. *Diplomski rad*, Prehrambeno tehnološki fakultet u Osijeku, 2009.
- Young H, Gilbert J M, Murray S H, ball, R D: Causal Effects of Aroma Compounds on Royal Gala Apple Flavours. *Journal of the Science of Food Agriculture* 71: 329-336, 1996.
- <http://www.agroklub.com/sortna-lista/voce/malina-15/> - Web 1
- <http://www.telegraf.rs/vesti/1180092-crveno-blago-srbije-evo-koliko-moze-da-se-zaradi-od-malina> - Web 2
- <http://www.adiva.hr/korisna-prehrambena-vlakna.aspx> - Web 3
- <http://nutritiondata.self.com/facts/fruits-and-fruit-juices/2053/2> - Web 4
- <https://en.wikipedia.org/wiki/Raspberry> - Web 5
- http://studenti.ptfos.hr/Prediplomski_studij/Kemija_hrane/predavanja-2014-2015/II%20parcijalni%20ispit/boja.pdf - Web 6
- http://studenti.ptfos.hr/Prediplomski_studij/Kemija_hrane/predavanja-2014-2015/III%20parcijalni%20ispit/antocijani.pdf - Web 7
- <http://www.solgar.hr/index.php/quercetin-complex> - Web 8
- <http://www.prakticanzivot.com/umjetna-sladila-i-secer-u-prehrani-295> - Web 9
- http://studenti.ptfos.hr/Prediplomski_studij/Sirovine_biljnog_podrijetla/J_BABIC-KONDITORI/SECERNA%20REPA+TRSKA.pdf – Web 10
- <https://hr.wikipedia.org/wiki/Saharoza> - Web 11
- <http://www.szkolnictwo.pl/szukaj,Fruktoza>– Web 12

<http://www2.arnes.si/~sspzkola/ogd.htm> - Web 13

<http://www.lghemija.co.rs/Proizvod.asp?intProizvodID=253> – Web 14

<http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/aromaticne-tvari-voca-i-povrca> - Web 15

<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.6300.html> - Web 16

<http://wildflowerfinder.org.uk/Flowers/R/Roseroot/Roseroot.htm> - Web 17

http://studenti.ptfos.hr/Preddiplomski_studij/Kontrola_kakvoce_hrane/predavanja/Kromatografiske%20metode.pdf – Web 18