

Primjena plinske kromatografije za određivanje sastava i udjela hlapivih komponenti različitih vrsta rakija s područja Hercegovine

Jurić, Doris

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:109:220725>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-04**

REPOZITORIJ

PTFS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

Doris Jurić

**PRIMJENA PLINSKE KROMATOGRAFIJE ZA ODREĐIVANJE
SASTAVA I UDJELA HLAPIVIH KOMPONENTI RAZLIČITIH VRSTA
RAKIJA S PODRUČJA HERCEGOVINE**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2018.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za ispitivanje hrane i prehrane
Katedra za kakvoću hrane
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Znanost o hrani i nutricionizam**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija**Nastavni predmet:** Instrumentalne metode I**Tema rada** je prihvaćena na X (desetoj) redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2016./2017. održanoj 13. srpnja 2017.**Mentor:** doc. dr. sc. *Ivana Flanjak***Pomoć pri izradi:****Primjena plinske kromatografije za određivanje sastava i udjela hlapivih komponenti različitih vrsta rakija s područja Hercegovine***Doris Jurić, 346-DI***Sažetak:**

Rakija je tradicionalni proizvod u Jugoistočnoj Europi, a dobije se destilacijom različitih sirovina, najčešće fermentiranog voća. Tijekom proizvodnje rakije nastaju brojne hlapive tvari čiji udio i sastav određuje kvalitetu gotovog proizvoda. Primjenom plinske kromatografije sa plameno-ionizacijskim detektorom (GC-FID) ispitano je 17 različitih uzoraka rakija. Analizirana je koncentracija etanola, metanola, propan-1-ola, 2-metilpropan-1-ola, 3-metilbutan-1-ola i etil acetata. Identifikacija komponenata je izvršena na osnovu vremena zadržavanja, a kvantifikacija je provedena metodom interne kalibracije. Udio etanola, izražen kao stvarna alkoholna jakost, je iznosio od 29,02 do 58,51 % vol., pri čemu je 7 uzoraka imalo udio etanola niži od minimalno propisane vrijednosti od 37,5 % vol. Svi uzorci bili su u skladu sa zahtjevima propisa obzirom na koncentraciju metanola. Od ostalih analiziranih hlapivih komponenti, u prosjeku najzastupljeniji spoj bio je 3-metilbutan-1-ol.

Ključne riječi: hlapive komponente, rakija, plinska kromatografija**Rad sadrži:** 47 stranica
8 slika
8 tablica
0 priloga
40 literaturnih referenci**Jezik izvornika:** Hrvatski**Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:**

- | | |
|------------------------------------------------|---------------|
| 1. prof. dr. sc. <i>Daniela Čačić Kenjeric</i> | predsjednik |
| 2. doc. dr. sc. <i>Ivana Flanjak</i> | član-mentor |
| 3. prof. dr. sc. <i>Borislav Miličević</i> | član |
| 4. prof. dr. sc. <i>Ljiljana Primorac</i> | zamjena člana |

Datum obrane: 28. rujna 2018.

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 and Nutrition Research
Subdepartment of Food Quality
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program Food science and nutrition

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Course title: Instrumental methods of analysis I

Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. X (the tenth) held on July 13, 2017

Mentor: *Ivana Flanjak*, PhD, assistant prof.

Technical assistance:

Volatile profile of various spirit drinks from Herzegovina area as determined by gas chromatography

Doris Jurić, 346-DI

Summary:

Spirit drink is a traditional product of South East Europe, produced by distillation of different raw materials, mostly fermented fruits. During the production of fruit spirits numerous volatile substances are produced whose concentration and composition are responsible for the quality of final product. 17 samples of various spirit drinks were analysed using gas chromatography with flame-ionisation detector (GC-FID). The concentration of ethanol, methanol, propan-1-ol, 2-methylpropan-1-ol, 3-methylbutan-1-ol and ethyl acetate were analysed. Identification of separated compounds was performed based on the retention time and quantification was carried out by internal calibration method. Ethanol content, expressed as alcoholic strength by volume, ranged between 29.02 and 58.51 % vol., whereby 7 analysed samples had ethanol content lower than minimum prescribed value of 37.5 % vol. All analysed samples were in compliance with regulations regarding methanol content. Among other identified volatile components, on average the most abundant component was 3-methylbutan-1-ol.

Key words: volatile compounds, spirit drink, gas chromatography

Thesis contains: 47 pages
8 figures
8 tables
0 supplements
40 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|------------------------------------------------|--------------|
| 1. <i>Daniela Čačić Kenjerić</i> , PhD, prof. | chair person |
| 2. <i>Ivana Flanjak</i> , PhD, assistant prof. | supervisor |
| 3. <i>Borislav Miličević</i> , PhD, prof. | member |
| 4. <i>Ljiljana Primorac</i> , PhD, prof. | stand-in |

Defense date: September 28, 2018

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

Zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Ivani Flanjak na pomoći, strpljenu i vremenu tijekom pisanja rada. Hvala ostalim profesorima Prehrambeno-tehnološkog fakulteta na prenesenom znanju tijekom studiranja. Hvala mojim prijateljima na svakodnevnoj ljubavi i podršci koju su mi pružali, naročito mojoj Katarini koja me je svako jutro uspješno budila da stignem na predavanja. Najveće hvala mojoj obitelji, posebno mojoj mami, jer bez njih ništa od ovoga ne bi bilo moguće.

Sadržaj

| | |
|-------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. TEORIJSKI DIO | 3 |
| 2.1. PROIZVODNJA RAKIJE | 4 |
| 2.1.1. Alkoholna fermentacija | 5 |
| 2.1.2. Destilacija | 5 |
| 2.1.3. Dozrijevanje destilata | 6 |
| 2.2. KVALITETA RAKIJA | 7 |
| 2.3. HLAPIVE KOMPONENTE I AROMA JAKIH ALKOHOLNIH PIĆA..... | 9 |
| 2.3.1. Spojevi primarne arome | 10 |
| 2.3.2. Spojevi sekundarne arome | 11 |
| 2.3.3. Tvari arome nastale tijekom destilacije..... | 13 |
| 2.3.4. Tvari arome nastale tijekom dozrijevanja | 14 |
| 2.4. PLINSKA KROMATOGRAFIJA | 15 |
| 2.4.1. Plin nosilac | 16 |
| 2.4.2. Injektor | 17 |
| 2.4.3. Kolona | 17 |
| 2.4.4. Detektori..... | 18 |
| 2.4.5. Obrada podataka | 19 |
| 2.4.6. Prednosti i mane plinske kromatografije..... | 20 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO | 21 |
| 3.1. ZADATAK | 22 |
| 3.2. MATERIJAL I METODE | 22 |
| 3.2.1. Uzorci..... | 22 |
| 3.2.2. Metode | 22 |
| 4. REZULTATI..... | 27 |
| 5. RASPRAVA..... | 37 |
| 6. ZAKLJUČCI | 42 |
| 7. LITERATURA | 44 |

Popis oznaka, kratica i simbola

| | |
|--------|-----------------------------------------------------------------|
| % vol. | Stvarna alkoholna jakost |
| MPRRR | Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja |
| MPŠVG | Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva |
| RRF | Faktor odziva detektora (eng. <i>Relative response factor</i>) |

1. UVOD

Prema Pravilniku o jakim alkoholnim pićima (MPRRR, 2009b) jaka alkoholna pića su alkoholna pića namijenjena za ljudsku potrošnju koja imaju posebna senzorska svojstva i sadrže minimalno 15% vol. alkohola. Rakija se smatra nacionalnim pićem mnogih slavenskih naroda, a može se proizvoditi od različitih voća, žitarica, melase, biljaka. Najpopularniji okusi rakija od voća su šljiva i kruška u kontinentalnoj Hrvatskoj i lozovača uz obalu (Zibar, 2012). U Bosni i Hercegovini najpopularnija i najčešća je domaća šljivovica, odnosno rakija napravljena od šljiva, a proizvode se i rakije od ostalog voća: kruškovača, lozovača, višnjevača, orahovača, kajsijevača, jabukovača, dunjevača, travarica (Visit My Country, 2018).

Svojstva voćnih rakija ovise o sastavu sirovine, načinu primarne prerade, alkoholne fermentacije, destilacije i uvjetima dozrijevanja destilata. Tijekom navedenih procesa nastaju različite hlapive tvari i arome koje daju karakterističan okus i miris proizvedenoj rakiji. U usporedbi sa ostalim alkoholnim pićima voćne rakije sadrže više hlapivih sastojaka, a kvantitativno najzastupljeniji su spojevi iz skupine viših alkohola, hlapivih kiselina, estera i aldehida (Tupajić i sur., 2007).

Kromatografija je skup metoda separacije u kojoj se sastojci razdjeljuju između dviju faza. Kod plinske kromatografije (GC) pokretnu fazu čini inertni plin, a sastojci se raspodjeljuju na temelju razlike u hlapivosti i afinitetu prema stacionarnoj fazi (Piantanida i Barron, 2014). Najčešće korišteni detektor u plinskoj kromatografiji je plameno-ionizacijski detektor (FID) koji se primjenjuje za određivanje komponenti koje sadrže ugljik, a najbolji odgovor daje za molekule koje sadrže ugljik i vodik (Skoog i sur., 2007).

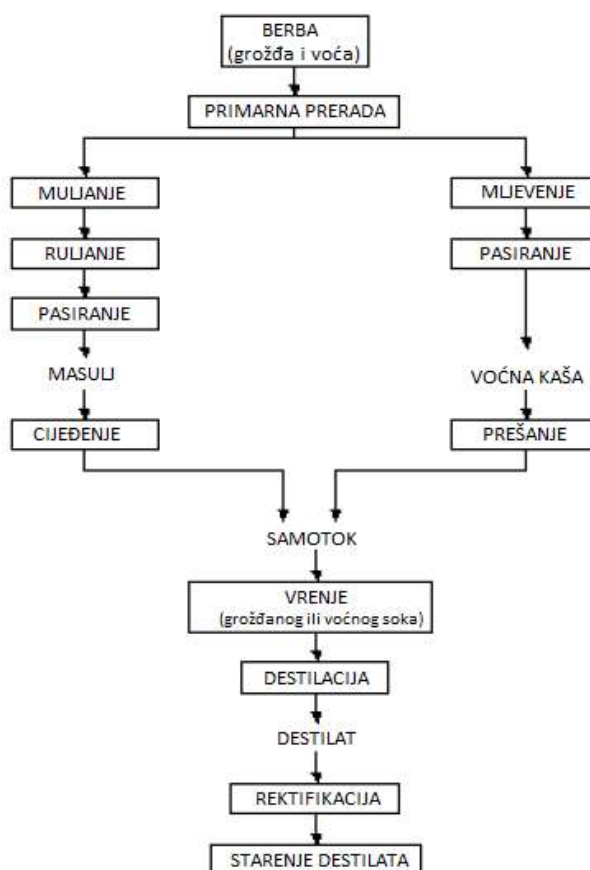
Cilj ovog rada je bio odrediti profil hlapivih komponenata različitih vrsta rakija s područja Hercegovine primjenom GC-FID metode.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. PROIZVODNJA RAKIJE

Za proizvodnju rakija od voća mogu se koristiti sve voćne vrste koje sadrže šećer, kao i sušeno voće i razni ostaci koji se dobiju pri preradu voća (kom i trop voća, taloži vina). Rakija od voća se proizvodi od voća koje nije prikladno za duže sušenje i skladištenje, manje kvalitetnog voća i voća koje se ne može drugačije iskoristiti, ali za voćne rakije vrhunske kvalitete treba uzimati samo zrelo, neoštećeno i dobro čuvano voće (Banić, 2006). Najpogodnije voćne vrste za proizvodnju rakije su jezgričave (jabuke i kruške) i koštičave vrste (šljive, trešnje, višnje, marelice i breskve) (Malnar, 2016).

Glavne faze tehnološkog postupka proizvodnje voćnih rakija su usitnjavanje sirovine, odabir i priprema kvasca, alkoholna fermentacija, destilacija i dozrijevanje ili starenje dobivene rakije (Malnar, 2016). Osnovna shema proizvodnje voćnih rakija i rakije od grožđa prikazana je na **Slici 1.**



Slika 1 Shematski prikaz proizvodnje voćnih rakija i rakije od grožđa (Nedić Tiban, 2016)

2.1.1. Alkoholna fermentacija

Alkoholna fermentacija je anaeroban biokemijski proces transformacije monosaharida (glukoza, fruktoza) u alkohol i ugljikov dioksid pomoću kvasaca. Kvasci su jednostanični mikroorganizmi koji provode fermentaciju, odnosno prevode šećer sadržan u komini u alkohol te sintetiziraju potrebne tvari arome i ostale spojeve koji daju okus i miris destilatu. Kvasci djeluju u određenom temperaturnom području, a za alkoholno vrenje je najpovoljnije temperaturno područje između 15 i 22 °C. Najstariji komercijalni upotrebljavani kvasci su kvasci iz roda *Saccharomyces* (Banić, 2006; Malnar, 2016).

Uz etanol, koji je najvažniji produkt, tijekom fermentacije nastaju i metanol, ugljični dioksid, acetaldehid, octena kiselina i tvari arome, među kojima su najvažniji razni esteri (Banić, 2006).

2.1.2. Destilacija

Nakon završene alkoholne fermentacije pristupa se destilaciji. Kvaliteta dobivenog destilata u velikoj mjeri ovisi o načinu na koji se provodi destilacija. Destilacija je postupak u kojem se tekuća faza zagrijavanjem prevodi u plinovitu, nakon čega se plinovita faza ponovno kondenzira u tekuću. Time je omogućeno razdvajanje tekuće smjese hlapivih komponenata na relativno čiste komponente što se zasniva na različitim vrelištima etanola (78,3 °C) i vode (100 °C), odnosno različitim vrelištima drugih spojeva arome prisutnih u prefermentiranoj komini. Destilaciju je potrebno provesti u što kraćem roku nakon fermentacije. Jačina destilata ovisi o sadržaju alkohola u voćnoj komini i konstrukciji uređaja za destilaciju i vrsti voća. Može se provoditi kontinuirano, diskontinuirano ili frakcijskom destilacijom (Banić, 2006; Malnar, 2016). Tradicionalni uređaj za destilaciju prikazan je na **Slici 2**.



Slika 2 Tradicionalni bakreni uređaj za destilaciju (Spaho, 2017)

2.1.3. Dozrijevanje destilata

Prije nego što se srednji tok razrijedi na propisanu jačinu potrebno ga je pustiti da odleži barem 6 do 8 tjedana pri sobnoj temperaturi. Dulje dozrijevanje uglavnom će rezultirati rakijom bolje kvalitete. Izuzetak je destilat od krušaka Viljamovski čije dozrijevanje traje do 4 tjedna. Za proces dozrijevanja potrebna je manja količina kisika iz zraka. Tijekom ovog procesa dolazi do esterifikacije viših alkohola pri čemu nastaju poželjne arome. Također dolazi do vezanja acetaldehida sa etanolom pri čemu nastaju acetali, tvari ugodna mirisa. Na taj način destilat postaje blaži sa ugodnijim okusom (Banić, 2006).

2.2. KVALITETA RAKIJA

Sastav voćne sirovine određuje vrijednost rakije pa je dobro pustiti voće da u potpunosti dozrije kako bi se razvile arome povoljne za kvalitetu rakije. Prezrelo i oštećeno voće sadrži manje šećera i lošiju aromu te kao takvo nije prikladno za proizvodnju kvalitetne rakije od voća. Rakija se može dobiti i od otpalog i nedozrelog voća ali takva rakija je drugorazredne kvalitete (Banić, 2006; Jović, 2006). Voće sadrži veliki broj različitih organskih i anorganskih tvari koje daju voću, a time i rakijama karakterističan okus, miris i boju. Najvažniji sastojak je šećer, čija količina ovisi o vrsti i stupnju zrelosti voća (Banić, 2006).

Kvaliteta jakih alkoholnih pića u Republici Hrvatskoj regulirana je Pravilnikom o jakim alkoholnim pićima te izmjenama i dopunama Pravilnika (MPRRR, 2009a; 2009b, 2111a; 2011b; 2012) koje je u skladu sa europskom Uredbom 110/2008 (Europski Parlament i Vijeće Europske Unije, 2008). Bosna i Hercegovina također je uskladila svoje zakonodavstvo vezano uz kvalitetu jakih alkoholnih pića sa europskom Uredbom i 2012. godine izdala Pravilnik o definiranju, opisivanju, prezentiranju, označavanju i zaštiti geografskih oznaka jakih alkoholnih pića (Vijeće ministara Bosne i Hercegovine, 2012).

Prema Pravilniku o jakim alkoholnim pićima, rakija od voća je jako alkoholno piće proizvedeno isključivo alkoholnom fermentacijom i destilacijom mesnatih plodova voća ili mošta od voća, bobica ili zelenih dijelova, sa ili bez koštica. Mora biti destilirana s najviše 86 % vol. alkohola tako da destilat ima miris i okus destilirane sirovine, te sadržavati najmanje 200 g hlapivih tvari po hektolitru preračunato na 100 % vol. alkohola. Sadržaj cijanovodične kiseline u rakijama koštičavog voća ne smije biti veći od 7 grama po hektolitru preračunato na 100 % vol. alkohola (MPRRR, 2009b).

Pravilnik o jakim alkoholnim pićima (MPRRR, 2009b) propisuje i maksimalni udio metanola u rakijama od voća koji mora iznositi općenito najviše 1000 grama po hektolitru preračunato na 100 % vol. alkohola, osim za sljedeće rakije od voća, kod kojih sadržaj metanola mora iznositi najviše:

- 1200 grama po hektolitru preračunato na 100 % vol. alkohola dobivenog od: šljive (*Prunus domestica* L.), mirabele (*Prunus domestica* L. podvrsta *syriaca* (Borkh.) Janch. ex Mansf.), plave šljive (*Prunus domestica* L.), jabuke (*Malus domestica* Borkh.), kruške (*Pyrus communis* L.) osim kruške viljamovke (*Pyrus communis* L. cv., Williams'),

maline (*Rubus idaeus* L.), kupine (*Rubus fruticosus* auct. aggr.), marelice (*Prunus armeniaca* L.), breskve (*Prunus persica* (L.) Batsch);

- 1350 grama po hektolitr preračunato na 100 % vol. alkohola dobivenog od: kruške viljamovke (*Pyrus communis* L. cv., Williams'), crvenog ribiza (*Ribes rubrum* L.), crnog ribiza (*Ribes nigrum* L.), oskoruše (*Sorbus aucuparia* L.), bobica bazge (*Sambucus nigra* L.), dunje (*Cydonia oblonga* Mill.), borovice (kleke) (*Juniperus communis* L i/ili *Juniperus oxicedrus* L.).

Alkoholna jakost rakije od voća mora iznositi najmanje 37,5 % vol., te nije dopušteno dodavanje razrijeđenog ili nerazrijeđenog alkohola niti se smije aromatizirati.

U Pravilniku o jakim alkoholnim pićima (MPRRR; 2009b) u Prilogu 3 navedena je i lista jakih alkoholnih pića podrijetlom iz Hrvatske gdje su navedeni opis i granične vrijednosti za pojedine parametre kvalitete jakih alkoholnih pića karakterističnih za Republiku Hrvatsku i okolne države (Bosna i Hercegovina, Srbija, Makedonija). Loza je jako alkoholno piće koje pripada kategoriji rakija od voća, a dobije se destilacijom prevrelog groždanog masulja tako da se po senzorskim karakteristikama i detektiranim analitičkim parametrima razlikuje od ostalih jakih alkoholnih pića proizvedenih od vinskog destilata. Dobiveni destilat mora sadržavati 60 - 75 % vol. alkohola, minimalno 50 g estera po hektolitr 100 % vol. alkohola, minimalno 150 g viših alkohola po hektolitr 100 % vol. alkohola, te 80 - 400 g metanola po hektolitr 100 % vol. alkohola. Za proizvodnju loze koristi se grožđe s 10 - 15 % šećera i 6-12 g/l kiselina. Grožđe se izmulja u cijelosti, osim peteljkovine, i podvrgne fermentaciji koja se provodi do kraja (bez ostatka šećera). Nakon fermentacije slijedi destilacija pri čemu se kruti i tekući sadržaj masulja destilira zajedno, nakon čega se dobiveni destilat uz dodatak demineralizirane vode svodi na željenu jačinu (Banić, 2006; MPRRR, 2009b).

Travarica je jako alkoholno piće koje se dobije aromatiziranjem vinskog destilata, loze, rakije od groždanog koma i/ili rakije od voća aromatskim biljem ili njihovim maceratima. Proizvodi se tako da se vinskom destilatu ili rakijama od grožđa ili voća dodaju macerati odabranog aromatskog bilja uvijek u istom omjeru i sastavu kako bi proizvod zadržao karakteristična senzorska svojstva. Osnovna sirovina mora udovoljavati zahtjevima kvalitete sukladno kategoriji kojoj pripada, dok količina i vrsta aromatskog bilja koje se dodaje ovisi o recepturama samih proizvođača (Banić, 2006; MPRRR, 2009b).

2.3. HLAPIVE KOMPONENTE I AROMA JAKIH ALKOHOLNIH PIĆA

Senzorske karakteristike različitih alkoholnih pića rezultat su prisutnosti različitih hlapivih komponenti prisutnih u sirovini (Prce, 2012). Kemijski sastav i specifična senzorska svojstva rakija od voća rezultat su utjecaja više čimbenika: sirovinskog sastava, načina primarne prerade, uvjeta alkoholnog vrenja, tehnologije destilacije i uvjeta dozrijevanja destilata. Tijekom alkoholnog vrenja kvasci stvaraju etanol i druge hlapive tvari koji se destilacijom višestruko koncentriraju i bitno utječu na senzorska svojstva rakija, a na konačnu koncentraciju ovih sastojaka i njihov omjer u jakim alkoholnim pićima u velikoj mjeri utječe način destilacije (Tupajić i sur., 2007). Komponente arome jakih alkoholnih pića dijele se na četiri skupine:

- spojevi primarne arome,
- spojevi sekundarne arome,
- tvari arome nastale tijekom destilacije i
- tvari arome nastale tijekom dozrijevanja (Prce, 2012).

U usporedbi s ostalim alkoholnim pićima voćne rakije imaju viši udio hlapivih sastojaka. Kvantitativno najzastupljeniji hlapivi spojevi su iz skupine viših alkohola, hlapivih kiselina, estera i aldehida (Tupajić i sur., 2007). Komponente za koje se smatra da su odgovorne za aromu danog voća prikazane su u **Tablici 1**.

Tablica 1 Komponente odgovorne za voćnu aromu (Šliwińska i sur., 2014)

| Komponenta | Aroma | Sirovina |
|--------------------------------------|--------------------------------|------------------|
| Γ-dekalakton | Šljiva | Šljiva |
| Oktil acetat | Kruška, voćna | Kruška |
| Etil (2E, 4Z)-2,4-dekadienoat | Kruška | Kruška |
| Heksil 2-metilbutanoat | Zelena | Jabuka |
| Nonanal | Cvjetna, voćna, zelena, drvena | Različito voće |
| (E)-heksen-2-ol | Zelena, jabuka | Jabuka |
| Etil cinamat | Voćna | Koštuničavo voće |
| Benzaldehid | Badem | Koštuničavo voće |
| Cijanovodična kiselina | Gorki badem | Koštuničavo voće |
| Izopentil propanoat | Voćna, šljiva, slatka | Šljiva |
| Heksan-1-ol | Travnata, biljna, voćna | Različito voće |
| 6-metil-5-hepten-2-on | Cvjetna | Šljiva |
| (E, E)-2,4-dekadienal | Zelena | Kruška |
| Linalool | Cvjetna, šljiva | Različito voće |

Iako su viši alkoholi prisutni u najvišim koncentracijama, mnoge komponente prisutne u niskim koncentracijama igraju važnu ulogu u stvaranju arome. Srednje lančane i dugo lančane masne kiseline mogu doprinijeti aromi kroz stvaranje estera. Karbonilne komponente, poput acetaldehida i diacetila, su prisutni u još nižim koncentracijama, ali imaju i vrlo nizak prag osjetljivosti te mogu imati ključnu ulogu u okusu finalnog proizvoda. Kvasci također mogu biti uključeni u proizvodnju ili modifikaciju sumpornih komponenti koje mogu biti od velike važnosti za razvoj arome alkoholnih pića (Lea i Piggott, 2003).

2.3.1. Spojevi primarne arome

Spojevi primarne arome nastaju kao sekundarni produkti metabolizma biljaka djelovanjem enzima tijekom zrenja i dozrijevanja biljnog tkiva iz prekursora arome. U neoštećenom biljnom tkivu prisutni su samo nehlapivi prekursori arome koji se, ukoliko dođe do oštećenja tkiva, mogu prevesti u odgovarajuće hlapive tvari arome karakteristične za pojedinu vrstu.

Primarna aroma sadrži veliki broj spojeva prisutnih u različitim udjelima, te prilikom same proizvodnje voćnih rakija treba paziti da ove tvari budu zadržane u što većoj količini (Prce, 2012).

Od hlapivih spojeva bitne su terpeneske i fenolne tvari. Terpeni su nosioci cvjetnog mirisa, a prag osjetljivosti im je relativno nizak (Banović, 2016; Prce, 2012). Metanol je također redoviti sastojak voćnih rakija, a nastaje enzimskom razgradnjom pektina. Budući da je potpuno topiv u vodi, metanol nema značajan utjecaj na aromu destilata. U prilog tomu ide i činjenica da metanol ima jako visok prag osjetljivosti. Međutim, udio metanola u alkoholnim pićima od velikog je značaja zbog njegove otrovnosti. Akutna intoksikacija metanolom obično uzrokuje glavobolju, vrtoglavicu, umor, mučninu, povraćanje, zamućen vid, sljepoću, a može dovesti i do smrti. Oralna smrtonosna doza za ljude kreće se u rasponu od 340 µg do 1 mg/kg tjelesne mase (Lukić, 2008; Wang i sur., 2003).

2.3.2. Spojevi sekundarne arome

Spojevi sekundarne arome su nositelji specifične arome koji nastaju tijekom transporta, prerade i skladištenja sirovina i gotovih proizvoda kao posljedica hidrolitičkih i oksidacijskih promjena aromatičnih sastojaka. Pri stvaranju sekundarnog profila arome ključnu ulogu ima alkoholna fermentacija (Prce, 2012). Viši alkoholi i esteri su dvije najvažnije skupine aromatskih spojeva jakih alkoholnih pića (Garcia Llobodanin, 2008).

Viši alkoholi su alkoholi koji imaju više od dva ugljikova atoma i kvantitativno su najzastupljeniji spojevi u destiliranim alkoholnim pićima. Nastaju kao popratni proizvodi alkoholne fermentacije iz aminokiselina Erlichovom reakcijom ili metabolizmom ugljikohidrata. Viši alkoholi se u većini alkoholnih pića nalaze u relativno visokim udjelima u odnosu na ostale hlapive spojeve arome. Na njihovu koncentraciju utječe veliki broj faktora: koncentracija etanola, temperatura fermentacije, pH vrijednost, aeracija, udio čvrstih dijelova, vrsta sorte voća i grožđa, starenje, kontakt sa kominom te vrsta i tip kvasaca koji vode fermentaciju (Lukić, 2008; Spaho, 2010). Viši alkoholi imaju velik utjecaj na aromatski profil destiliranih pića. Odgovorni su za ugodan okus i miris kada su prisutni u malim koncentracijama, dok se u visokim koncentracijama negativno utječu na aromu destilata pridonoseći oporom okusu i mirisu. Najvažniji viši alkoholi za aromu alkoholnih pića su 2-metilbutan-1-ol i 3-metilbutan-1-ol (izoamilni alkohol), 2-metilpropan-1-ol (izobutanol),

propan-1-ol, i 2-feniletanol. Izoamilni alkoholi i izobutanol su nositelji alkoholnog mirisa i mogu podsjećati na miris otapala. Miris propan-1-ola opisuje se kao ugodan i slatkast, a visoki sadržaj može biti pokazatelj kvarenja voćnog soka i također podsjećati na otapalo (Garcia Llobodanin, 2008; Lukić, 2008; Spaho, 2017). U nižim koncentracijama su prisutni i butan-1-ol i heksan-1-ol. Udio butan-1-ola je povezan sa niskom kvalitetom sirovog materijala i negativno utječe na okus. Heksan-1-ol također potječe iz sirovog materijala i u visokim koncentracijama doprinosi intenzivnoj aromi po travi te se negativno odražava na aromu pića (Spaho, 2017). 2-feniletanol je aromatski alkohol koji nastaje iz L-fenilalanina djelovanjem kvasaca. Ima nizak prag osjetljivosti i u niskim koncentracijama doprinosi ugodnom okusu i mirisu na ruže (Garcia Llobodanin, 2008; Spaho, 2017).

Esteri nastaju u procesu alkoholne fermentacije. Utjecaj estera na aromu pića uvelike ovisi o njihovoj koncentraciji, a povezuju se sa ugodnom voćnom i cvjetnom aromom. Stupanj sinteze i omjeri nastalih udjela estera u velikoj mjeri ovise o vrsti i soju kvasca, temperaturi fermentacije, prisutnosti kisika, pH vrijednosti, udjelu sumporovog dioksida i dr. Većina estera ima nisku točku vrelišta pa je potrebno kontrolirati postupak destilacije kako bi se zadržali u poželjnim koncentracijama. Za alkoholna pića su najvažniji acetatni esteri, tj. esteri različitih alkohola i octene kiseline. Najzastupljeniji ester iz ove skupine je etil acetat. Manji udjeli etil acetata doprinose aromi destilata voćnim mirisom, dok su visoke koncentracije pokazatelj produljenog skladištenja sirovog materijala i vjerojatnog mikrobiološkog kvarenja bakterijama octene kiseline i mogu uzrokovati miris sredstva za uklanjanje laka za nokte. Omjer ukupnih estera i etil acetata se koristi kao indikator kvalitete jakih alkoholnih pića. Što je omjer veći, gotovi proizvod je kvalitetniji (Banović, 2016; Lukić, 2008; Spaho, 2017). Od ostalih acetatnih estera u alkoholnim pićima najzastupljeniji su esteri octene kiseline i viših alkohola (izoamil acetat, izobutil acetat, heksil acetat, 2-fenilet acetat) koji uglavnom imaju cvjetnu i voćnu aromu. 2-fenetil acetat podsjeća na miris ruže, izoamilni acetat ima miris i okus banane, dok se izobutilni acetat povezuje sa okusom maline. Prisutnost etil laktata se povezuje sa malolaktičnom fermentacijom i daje destilatu okus i miris po užeglom maslacu. Poželjan je u niskim koncentracijama jer stabilizira miris i ublažava snažan okus pojedinih komponenata (Lukić 2018; Spaho, 2017). Etilni esteri masnih kiselina srednjeg lanca nastaju tijekom fermentacije sirovog materijala i nositelji su voćne i cvjetne arome. Najzastupljeniji je etil heksanoat koji ima voćnu aromu. Od ostalih etilnih estera zastupljeni su etil oktanoat i etil dekanoat koji uglavnom imaju slabiju aromu. Etilni esteri masnih kiselina dugog lanca

doprinose aromi destilata samo kada su prisutni u višim koncentracijama, a imaju miris na vosak i svijeće. Ovi esteri su slabo topivi u vodi pa njihove povišene koncentracije mogu uzrokovati zamućenje i flokulaciju i time narušiti stabilnost destilata (Spaho, 2017).

Aldehidi i **ketoni** uglavnom nastaju kao popratni proizvodi alkoholne fermentacije. Najzastupljeniji aldehid u alkoholnim pićima je acetaldehid i najčešće predstavlja više od 90 % ukupnog udjela aldehida. Acetaldehid ima nizak prag osjetljivosti, a miris mu se često opisuje kao iritirajući i odbojan pa je nepoželjan u visokim koncentracijama. U niskim koncentracijama ima voćnu aromu koja se povezuje sa lješnjacima, trešnjama i prezrelim jabukama. Acetaldehid se povezuje sa intoksikacijom i simptomima mamurluka, a postoje sumnje da ima i mutageno i kancerogeno djelovanje. Neki autori su postavili granicu od 120 g/hL a.a. za ukupne aldehide iznad koje imaju značajan utjecaj na aromu pića. Acetaldehid i drugi kratkolančani alifatski aldehidi imaju opor, užegao miris i miris po masnoći i nepoželjni su u jakim alkoholnim pićima. S druge strane dugolančani aldehidi imaju ugodnu aromu i uglavnom su prisutni u malim koncentracijama (Lukić, 2008; Spaho, 2017).

Od **masnih kiselina** najzastupljenija je octena kiselina koja u većini slučajeva čini više od 90 % ukupne kiselosti. Ima karakterističan kiseli okus i jak miris. Povišen udio octene kiseline pokazatelj je mikrobiološkog kvarenja i može izrazito negativno utjecati na aromu alkoholnog pića, a doprinosi i nastajanju povišenih i neželjenih udjela etil acetata. Kratkolančane masne kiseline (kaprilna, kaprinska i laurinska kiselina) imaju neugodan miris na užegli maslac i pokvareni sir, a njihova prisutnost u visokim razinama znak je loše kvalitete voćnog soka (Lukić, 2008; Spaho, 2017).

2.3.3. Tvari arome nastale tijekom destilacije

Destilacija se treba provesti u što kraćem roku nakon fermentacije kako se ne bi povećao udio štetnih komponenti (metanol, kiseline, esteri, aldehidi, HCN, itd.) i kako se ne bi izgubile tvari sekundarne arome (Nikičević, 2005). U procesu destilacije mogu nastati brojni novi spojevi, a intenzitet njihova nastanka ovisi o sastavu sirovine, tipu uređaja za destilaciju, materijalu od kojeg je uređaj izrađen, režimu destilacije itd. Tijekom destilacije mogu nastati heterociklički spojevi i furfural te spojevi sa sumporom, poput tiofena i polisulfida. Furfural je normalni sastojak voćnih destilata koji destilatu daje miris gorkih badema, a njegova povećana koncentracija pojačava osjećaj vrućine i peckanja. Također se povećava udio

estera, naročito etil acetata, a aldehidi se mogu reducirati u alkohole. Reakcijama alkohola i aldehida mogu nastati acetali koji pridonose aromi voćnih destilata ugodnim delikatnim okusom (Lukić, 2008; Prce, 2012; Spaho, 2017).

2.3.4. Tvari arome nastale tijekom dozrijevanja

Odležavanje destiliranih pića jako je bitan faktor za karakterizaciju alkoholnih pića, a temelji se na ekstrakciji molekula iz drveta i njihovoj interakciji sa tekućinom pri čemu nastaju nove komponente i razgrađuju se neke već postojeće. Približno 60 % aromatskih komponenti prisutnih u gotovom proizvodu potječe iz drveta (Alcarde i sur., 2014). Drvo se uglavnom sastoji od celuloze, hemiceluloze i lignina. Razgradnjom lignina nastaju aromatični aldehidi vanilin i siringin važni za stvaranje specifičnog profila arome starog pića. Tijekom dozrijevanja dolazi do niza kemijskih reakcija poput oksidacije i esterifikacije. Jedan dio acetaldehida se tijekom dozrijevanja isparavanjem izdvaja, a jedan dio se veže s alkoholima pri čemu dolazi do nastanka acetala (Alcarde i sur., 2014; Jović, 2006; Prce, 2012).

2.4. PLINSKA KROMATOGRAFIJA

Kromatografija je fizikalna metoda separacije u kojoj se sastojci razdjeljuju između dviju faza, od kojih je jedna nepokretna, odnosno stacionarna, dok je druga pokretna, odnosno mobilna, i giba se u određenom smjeru. Mobilna faza može biti plin, tekućina ili fluid pri superkritičnim uvjetima. Kromatografija se u analitici koristi za kvalitativno i kvantitativno određivanje spojeva u uzorku (Skoog i sur., 2007).

Plinsku kromatografiju su prvi put predstavili Archer J. P. Martin i Anthony T. James 1950-ih godina u Londonu. Martin je zapravo plinsku kromatografiju osmislio 10 godina prije kada je, zajedno sa Synge-om, predložio da se razdvajanje hlapivih komponenata može postići korištenjem pare kao mobilne faze umjesto tekućine (Piantanida i Barron, 2014). Plinska kromatografija je brzo prihvaćena jer je bila predstavljena u vrijeme kada je petrokemijska industrija zahtijevala bolje i preciznije analitičke metode. Danas je plinska kromatografija tehnika koja se koristi širom svijeta za analize gotovo svih vrsta organskih komponenti, čak i onih koje nisu hlapive u prvobitnom stanju, a mogu se prevesti u hlapive derivate (Piantanida i Barron, 2014).

Plinska kromatografija je metoda separacije u kojoj se komponente uzorka razdjeljuju između stacionarne faze i mobilne plinske faze. Kao pokretna faza se koristi inertni plin dok je nepokretna faza selektivna tekućina velike viskoznosti ili selektivna krutina. Stoga, plinsku kromatografiju možemo podijeliti na:

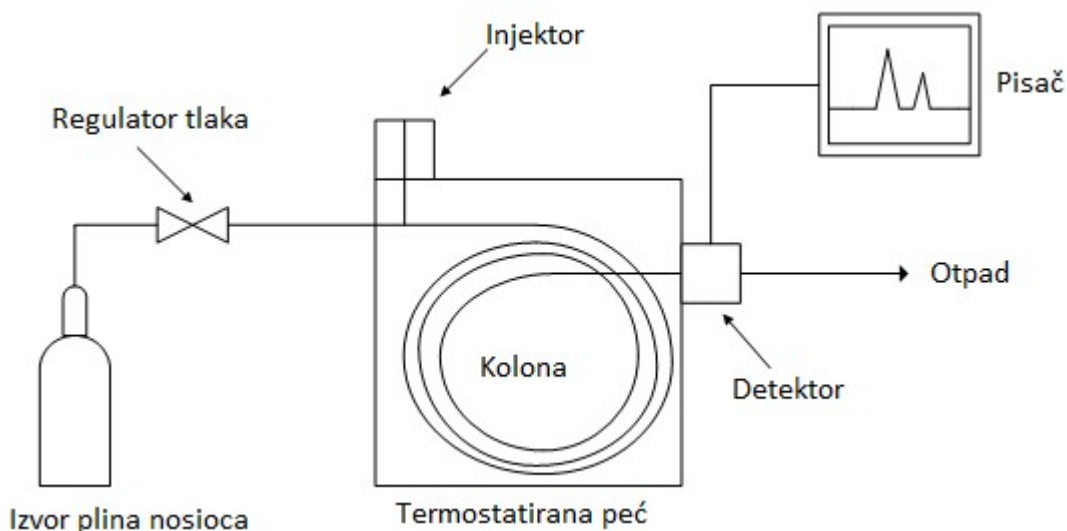
- plinsko-čvrstu kromatografiju (GSC) u kojoj je stacionarna faza u krutom stanju i
- plinsko-tekućinsku kromatografiju (GLC) u kojoj je stacionarna faza tekućina (Piantanida i Barron, 2014).

Tijekom postupka razdjeljivanja u plinskoj kromatografiji uzorak se prevodi u paru nakon čega ga pokretna faza, tj. plin nosilac nosi kroz kolonu. Razdjeljivanje komponenti se postiže na temelju relativnog tlaka para i afinitetu prema stacionarnoj fazi. Afinitet prema stacionarnoj fazi se može opisati izrazom koeficijent razdjeljivanja K_c , prikazan **formulom (1)**:

$$K_c = \frac{[A]_s}{[A]_m} \quad (1)$$

pri čemu $[A]_s$ predstavlja koncentraciju komponente A u stacionarnoj fazi, dok $[A]_m$ predstavlja koncentraciju komponente A u mobilnoj fazi. K_c ovisi o temperaturi i kemijskim

svojstvima stacionarne faze. Poboljšanje razdvajanja komponenti postiže se odabirom prikladne stacionarne faze i/ili regulacijom temperature (Piantanida i Barron, 2014). Na **Slici 3** su prikazane komponente plinskog kromatografa.



Slika 3 Shematski prikaz plinskog kromatografa (prilagođeno iz: Piantanida i Barron, 2014)

U plinskom kromatografu uzorak se unosi u injektor gdje se isparava i prenosi na kolonu pomoću plina nosioca. Komponente uzorka se zatim razdvajaju između mobilne i stacionarne faze unutar kolone. Nakon izlaska iz kolone plin nosilac i analit prolaze do detektora koji daje odziv na neko fizikalno-kemijsko svojstvo analita pri čemu nastaje električni signal, a računalo daje integrirani kromatogram (Chromacademy, 2018).

2.4.1. Plin nosilac

Najčešće se upotrebljavaju vodik, helij ili dušik. Kao izvor plina nosioca najčešće se koriste cilindri i boce s plinom pod pritiskom ili generatori plina. Budući da kvaliteta plina nosioca može značajno utjecati na kvalitetu analize koriste se plinovi čistoće $\geq 99,999\%$. Plin nosilac je inertan i nema interakciju s uzorkom, pa se selektivnost metode može pripisati stacionarnoj fazi. Izbor plina ovisi o izboru kolone i o izboru detektora (Eiceman, 2006; Petrović, 2005; Piantanida i Barron, 2014).

2.4.2. Injektor

Injektor se nalazi na početku plinskog kromatografa i služi za kvantitativno uvođenje uzorka u struju plina nosioca. Termostatiran je na temperaturu određenu metodom analize koja mora biti najmanje 20 °C viša od temperature vrelišta najmanje hlapljive komponente u uzorku. Nakon što se uzorak unese u injektor zbog povišene temperature dolazi do trenutnog isparavanja i miješanja s plinom nosiocem koji ga nosi duž kolone. Uzorci se mogu injektirati ručno ili automatski pomoću autosamplera (Petrović, 2015; Piantanida i Barron, 2014). Postoji nekoliko vrsta injektora, a najčešće se koriste „split-splitless“ injektor (SSL), injektor sa programiranim isparavanjem (PTV) te izravni/kolonski injektor (COC) (Chromacademy, 2018). U SSL injektor uzorak se uvodi u zagrijanu komoru i nakon toga, ovisno o načinu rada, plin nosilac prenosi cijeli uzorak ili njegov dio na kolonu. U splitless načinu rada plin nosilac prenosi cijeli uzorak na kolonu i ovaj način se preferira za analizu spojeva u tragovima. U split načinu rada samo se dio uzorka prenosi na kolonu, a dio se ispušta kroz split izlaz, a preferira se za analizu uzoraka s visokom koncentracijom analita (Kobis, 2018). Kod PTV injektora uzorak se prenosi kao tekućina u injektor pri niskim temperaturama, nakon čega se brzo isparava pri visokim temperaturama i prenosi u kolonu (Kobis, 2018).

2.4.3. Kolona

Kromatografska kolona je duga staklena ili metalna cijev smještena u termostatiranoj peći i na njoj se odvija razdvajanje komponenti. Temperatura termostatirane komore u GC uređaju obično se kreće od 5 °C do 400 °C. Razdvajanje komponenti smjese može biti izotermno, tj. bez promjene temperature tijekom analize, ili programirano uz programiranu promjenu temperature tijekom analize. Na razdvajanje komponenti utječe i polarnost stacionarne faze, dimenzije kolone i protok plina nosioca. Stacionarne faze mogu biti polietilenglikolnog tipa, koje su polarne, i silanolnog tipa čija polarnost ovisi o polarnosti vezanih skupina (Chromacademy, 2018; Petrović, 2015; Piantanida i Barron, 2014).

Ovisno o unutrašnjem promjeru, kolone za plinsku kromatografiju mogu biti kapilarne i punjene. Kapilarne kolone imaju unutrašnji promjer od 0,10 mm do 0,53 mm, dužinu 5-60 m

i više, a debljina nepokretne faze je 0,1-5 μm (Petrović, 2015). Dužina kapilarne kolone je povezana sa njenom efikasnošću i ukupnim vremenom analize. Naime, duža kolona će povećati efikasnost i kvalitetu separacije, ali će povećati i trajanje analize. Unutrašnji promjer kolone može također utjecati na njezinu efikasnost i kapacitet. Smanjenjem unutrašnjeg promjera kolone postiže se bolja separacija, ali dolazi do preopterećenja kolone i širenja pikova. Na kapacitet kolone utječe i debljina stacionarne faze jer o njoj ovisi vrijeme zadržavanja komponenti. Tanji filmovi skraćuju vrijeme analize i ostvaruju bolje razlučivanje, ali imaju i manji kapacitet zadržavanja (Piantanida i Barron, 2014). Unutrašnji promjer punjenih kolona iznosi 2 - 4 mm, dužina im je 1 - 3 m, a postotak nanosene nepokretne faze u odnosu na kruti čvrsti nosač varira od 1 do 15 %. Punjene kolone su jeftinije i pogodnije za veće količine uzoraka, dok su kapilarne efikasnije, brže i pogodnije za složene smjese (Petrović, 2015; Piantanida i Barron, 2014).

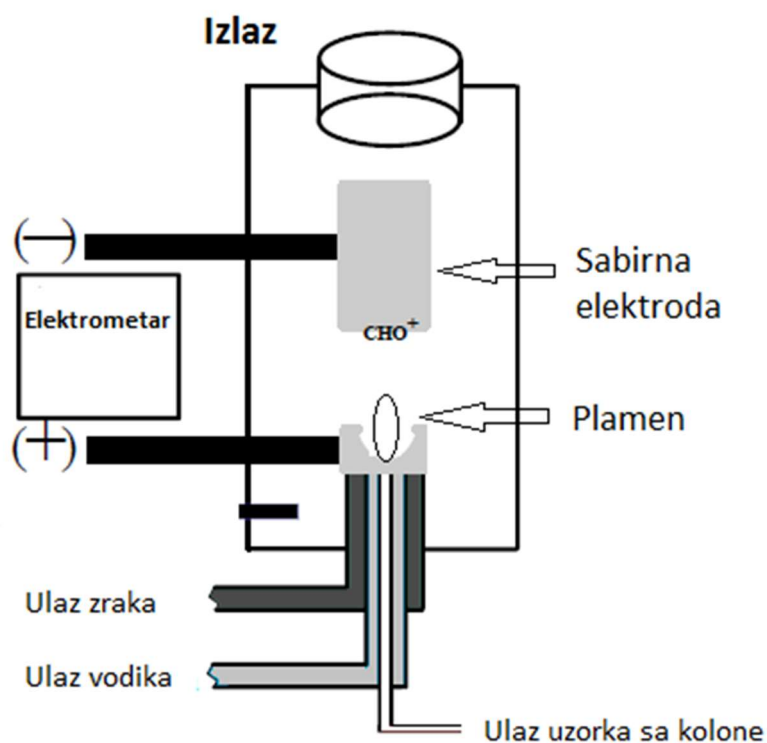
2.4.4. Detektori

Detektor je uređaj koji daje odziv na fizikalno-kemijska svojstva neke komponente u uzorku, pojačava ga i prevodi u električni signal te bilježi u obliku pika na kromatogramu. Vrijeme potrebno da komponenta prođe kroz kolonu do detektora zove se vrijeme zadržavanja ili retencijsko vrijeme i to je osnovni parametar za kvalitativnu i kvantitativnu analizu (Petrović, 2015; Piantanida i Barron, 2014).

Glavni detektori u plinskoj kromatografiji su plameno-ionizacijski detektor (FID), detektor toplinske vodljivosti (TCD) i detektor zahvata elektrona (ECD). Drugi komercijalno dostupni detektori su foto-ionizacijski detektor (PID), dušik-fosfor detektor i detektor atomske emisije (Eiceman, 2006). Izbor detektora uglavnom ovisi o primjeni, kemijskim svojstvima analita, potrebnoj osjetljivosti i o tome je li potrebna kvalitativna ili kvantitativna analiza uzorka (Chromacademy, 2018).

Plameno-ionizacijski detektor (**Slika 4**) je najosjetljiviji i najčešće korišten detektor u plinskoj kromatografiji. Koristi se za određivanje hlapljivih ugljikovodika i mnogih drugih komponenti koje sadrže ugljik. Radi na principu sagorijevanja uzorka na temperaturi vodikovog plamena pri čemu mnoge organske molekule daju ione i elektrone. Detekcija uključuje skupljanje ovih iona i elektrona na sabirnoj elektrodi smještenoj iznad plamena. Plameno-ionizacijski

detektor daje odgovor na broj ugljikovih atoma koji ulaze u detektor u jedinici vremena i proporcionalan je masi detektiranog sastojka, a ne koncentraciji. Ima osjetljivost do 10^{-13} g/s. Najbolji odgovor daje za molekule koje sadrže ugljik i vodik, a limit mu predstavlja prisutnost heteroatoma u molekuli, npr. kisika, koji mu smanjuju odgovor. Nedostatak ovog detektora je što uništava uzorak tijekom sagorijevanja (Chasteen, 2000; Skoog i sur., 2007).



Slika 4 Prikaz plameno-ionizacijskog detektora (prilagođeno iz: Chasteen, 2000)

2.4.5. Obrada podataka

Signal se sa detektora prenosi na računalo koji ga prevodi u digitalni oblik i bilježi kao pik na kromatogramu. Vrijeme zadržavanja komponenti pruža kvalitativne podatke i ono će za pojedinu komponentu uvijek biti isto pri istim kromatografskim uvjetima. Površina pika se određuje integriranjem površine ispod pika pomoću računala i ono pruža kvantitativne podatke. Za određivanje stvarne količine komponente površina, odnosno visina pika se uspoređuje sa standardom poznate koncentracije (Chromacademy, 2018; Petrović, 2015).

2.4.6. Prednosti i mane plinske kromatografije

Plinska kromatografija je glavna analitička metoda za razdvajanje hlapivih komponenti zahvaljujući brzini analize, lakoći izvedbe i prihvatljivim troškovima izvedbe (Piantanida i Barron, 2014).

U usporedbi sa ostalim kromatografskim metodama, moderna plinska kromatografija predstavlja najbržu metodu separacije (Chromacademy, 2018). Zbog visoke efikasnosti, GC omogućava razdvajanje komponenti složenih smjesa u prihvatljivom vremenu. Daje precizne rezultate obično sa oštrim i reproducibilnim pikovima. Dostupni su mnogi detektori sa visokom osjetljivošću, a može se kombinirati i sa masenim spektrometrom (Piantanida i Barron, 2014).

Mane plinske kromatografije su njena ograničenost na termostabilne i hlapive uzorke te destruktivnost većine detektora, izuzev masenog spektrometra (Piantanida i Barron, 2014).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Cilj rada bio je odrediti profil hlapivih komponenata različitih vrsta rakija primjenom plinske kromatografije kako bi se utvrdile specifičnosti obzirom na vrstu rakije te procijenila kvaliteta obzirom na propise o kvaliteti.

3.2. MATERIJAL I METODE

Istraživanje je provedeno na uzorcima rakija primjenom plinske kromatografije uz plameno-ionizacijski detektor.

3.2.1. Uzorci

Prikupljeno je 17 uzoraka rakija i to po jedna rakija od: višnje, smokve, trešnje, oraha, jabuke, šljive, dva uzorka rakije od kruške, dva uzorka travarice (rakije s dodatkom aromatskog bilja), te 7 uzoraka loze. Dio uzoraka (12/17) prikupljen je od malih proizvođača jakih alkoholnih pića koji rakiju proizvode za vlastite potrebe, dok je 5 uzoraka kupljeno od registriranih proizvođača jakih alkoholnih pića sa područja Hercegovine.

3.2.2. Metode

Udio etanola (stvarna alkoholna jakost, % vol.) u uzorcima rakija određen je prema metodi Wang i sur. (2003) dok je udio metanola, etil acetata, propan-1-ola, 2-metil-propan-1-ola i 3-metil-butan-1-ola određen prema metodi III.2. Određivanje hlapivih srodnih spojeva plinskom kromatografijom: aldehida, viših alkohola, etil acetata i metanola, opisanoj u Prilogu 1. Pravilnika o analitičkim metodama za jaka alkoholna i alkoholna pića (MPŠVG, 2005).

Analiza je provedena na Shimadzu GC-2010 Plus uređaju za plinsku kromatografiju. Korišteni uređaj se sastoji od pećnice sa temperaturnim rasponom od + 4 do + 450 °C, auto injektora AOC-20i, automatskog uzorkivača AOC-20s i plameno-ionizacijskog detektora (FID). Sustav je spojen sa izvorima plinova vodika, dušika i zraka, a upravljanje se vrši pomoću specijalnog računalnog programa LabSoulution GCsolution (Release 2.41SU1). Određivanje hlapivih spojeva se vrši direktnim injektiranjem alkoholnog pića, odnosno njegovog odgovarajućeg

razrjeđenja uz interni standard u kromatograf. Odjeljivanje spojeva je postignuto temperaturnim programiranjem kolone uz plameno-ionizacijski detektor. Za odjeljivanje sastojaka uzorka korištena je GC kolona InertCap Pure-Wax dimenzija 0,53 mm×30 m, debljine filma 1,0 μm. Temperature injektora i detektora iznosile su 250 i 260 °C. Volumen injektiranja uzorka iznosio je 1 μL (cijepanje 1:10). Početna temperatura kolone iznosila je 45 °C. Nakon 8 minuta uslijedio je porast temperature od 15°C/min do konačne temperature od 200 °C, na kojoj je kolona održavana još 5 min. Kao plin nosioc korišten je dušik (N₂) protoka 2,42 mL/min.

3.2.2.1. Određivanje udjela etanola

Određivanje udjela etanola provedeno je prema metodi Wang i sur. (2003). Identifikacija etanola provedena je na osnovu vremena zadržavanja usporedbom sa vremenom zadržavanja standarda etanola (Dr. Ehrenstorfer, Njemačka) čistoće 99,9 %, a udio etanola određen je metodom unutarnje (interne) kalibracije. Kao interni standard (I.S.) korišten je acetonitril, čistoće ≥ 99,9 % (J.T. Baker, Nizozemska). Prije određivanja udjela etanola u uzorcima, određen je faktor odziva detektora (eng. relative response factor, RRF). U tu svrhu pripravljene su otopine osnovne otopine etanola (E) i acetonitrila (ACN) u koncentraciji od 1 % (w/v) sa destiliranom vodom. Za izračun RRF-a iz osnovnih otopina etanola i acetonitrila napravljene su otopine sljedećih omjera (E/ACN) 15:1, 10:1, 5:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:5, 1:10 i 1:15. Svaka otopina je injektirana u plinski kromatograf i napravljen je pravac linearne regresije. Na pravcu linearne regresije ordinata predstavlja omjer površina E i ACN, a apscisa je omjer njihovih masenih koncentracija. Faktor odziva detektora (RRF) za etanol u odnosu na interni standard predstavlja nagib dobivenog pravca linearne regresije (**Tablica 2**). Za analizu uzorka rakije otpipetirano je 0,1 mL uzorka i dodano 1 mL otopine 1 %-tnog internog standarda (I.S.) i otopina direktno injektirana u plinski kromatograf. Masena koncentracija etanola (γ_E) izračunava se prema **formuli (2)**:

$$\gamma_E \left(\frac{mg}{mL} \right) = \left(\frac{A_E}{A_{I.S.}} \right) \cdot \left(\frac{m_{I.S.}}{RRF} \right) \cdot \frac{1}{V} \quad (2)$$

gdje je: A_E - površina pika etanola
 $A_{I.S.}$ - površina pika internog standarda
 $m_{I.S.}$ - masa internog standarda (mg)

RRF - faktor odziva detektora za etanol

V - volumen uzorka rakije (mL)

Stvarna alkoholna jakost (% vol.) dobivena je množenjem masene koncentracije etanola, γ_E (mg/mL) sa faktorom 0,1167.

Analiza uzoraka rakije provedena je u dva ponavljanja, a svaka otopina injektirana dva puta. Rezultati udjela etanola odnosno stvarna alkoholna jakost rakije (% vol).

3.2.2.2. *Određivanje hlapivih srodnih spojeva*

Određivanje udjela metanola, etil acetata, propan-1-ola, 2-metilpropan-1-ola i 3-metilbutan-1-ola određen prema metodi III.2. iz Priloga 1. Pravilnika o analitičkim metodama za jaka alkoholna i alkoholna pića (MPŠVG, 2005). Metoda je prikladna za određivanje aldehida, alkohola i estera u različitim alkoholnim pićima (whiskey, brandy, rum, rakija od grožđa, voćna rakija i lozovača). Identifikacija srodnih spojeva provedena je na osnovu vremena zadržavanja usporedbom sa vremenom zadržavanja standarda, a kvantifikacija metodom internog standarda. Kao interni standard (I.S.) korišten je pentan-1-ol (Dr. Ehrenstorfer, Njemačka), čistoće $\geq 99,8$ %. Standardi hlapivih srodnih spojeva kupljeni su od firme Dr. Ehrenstorfer, Njemačka, a čistoća spojeva bila je prikladna za GC analizu ($\geq 98,5$ %). Kao i kod određivanja udjela etanola, određeni su faktori odziva detektora za pojedini hlapivi srodni spoj. Interni standard pripremljen je na način da je otpipetirano 3 mL pentan-1-ola u tikvicu od 100 mL i dopunjeno 40 % (V/V) etanolom. Zabilježena je masa internog standarda i ukupna masa tikvice. Za pripremu otopine hlapivih srodnih spojeva otpipetirano je po 3 mL otopine svakog spoja u odmjernu tikvicu od 100 mL, zapisana je masa svakog dodanog spoja pojedinačno nakon čega je tikvica dopunjena 40 % (V/V) etanolom. Zapisana je ukupna masa tikvice. Za pripremu otopine za injektiranje (otopina A) otpipetirano je 1 mL otopine hlapivih srodnih spojeva i 1 mL internog standarda u odmjernu tikvicu od 100 ml i dopunjeno 40% (V/V) etanolom. Zapisana je masa tikvice, masa svake dodane komponente i ukupna masa tikvice. Faktor odziva detektora (RRF_x) za svaki hlapivi srodni spoj izračunava se prema **formuli (3)**:

$$RRF(x) = \frac{A_{I.S.}}{A_x} \cdot \frac{w_x}{w_{I.S.}} \quad (3)$$

gdje je: $A_{I.S.}$ – površina pika internog standarda
 A_x – površina pika hlapivog srodnog spoja
 w_x – maseni udio hlapivog srodnog spoja u otopini A ($\mu\text{g/g}$)
 $w_{I.S.}$ – maseni udio internog standarda u otopini A ($\mu\text{g/g}$)

Dobiveni faktori odziva detektora (RRF) za analizirane hlapive srodne spojeve prikazani su u

Tablici 2.

Za analizu uzorka rakije izvagana je prvo vialica za uzorak. Zatim je otpipetirano 0,9 mL uzorka rakije, i zabilježena masa. U vialicu za uzorak otpipetirano je 0,1 mL I.S. te ponovo zabilježena masa. Prilikom vaganja treba se zabilježiti i temperatura prostorije obzirom da se u konačni izračun udjela hlapivog srodnog spoja uzima gustoća etanola pri temperaturi vaganja (ρ) koji se očitava iz Tablice: Gustoća kao funkcija temperature i alkoholne jakosti izražene volumenom dane u Prilogu 2. Pravilnika o analitičkim metodama za jaka alkoholna i alkoholna pića (MPŠVG, 2005). Izvagana otopina uzorka se promiješa i direktno injektira u plinski kromatograf. Analiza uzorka rakije provedena je u dva ponavljanja, a svaka otopina injektirana dva puta. Maseni udio hlapivog srodnog spoja (w_x) izračunava se pomoću **formule (4)**:

$$w_x = \frac{A_x}{A_{I.S.}} \cdot \frac{m_{I.S.}}{m_{uzorka}} \cdot w_{I.S.} \cdot RRF_x \quad (4)$$

gdje je: w_x – maseni udio hlapivog srodnog spoja u otopini za analizu ($\mu\text{g/g}$)
 A_x – površina pika hlapivog srodnog spoja
 $A_{I.S.}$ – površina pika internog standarda
 $m_{I.S.}$ - masa internog standarda (g)
 m_{uzorka} – masa uzorka rakije (g)
 $w_{I.S.}$ – maseni udio internog standarda u otopini za analizu ($\mu\text{g/g}$)
 RRF_x – faktor odziva detektora za hlapivi srodni spoj

Konačni prikaz rezultata, odnosno masena koncentracija hlapivog srodnog spoja (γ_x) u uzorku izračunava se prema **formuli (5)**:

$$\gamma_x = w_x \cdot \rho \cdot \frac{10}{\text{alk.jakost}_{\text{uzorka}} \cdot 1000} \quad (5)$$

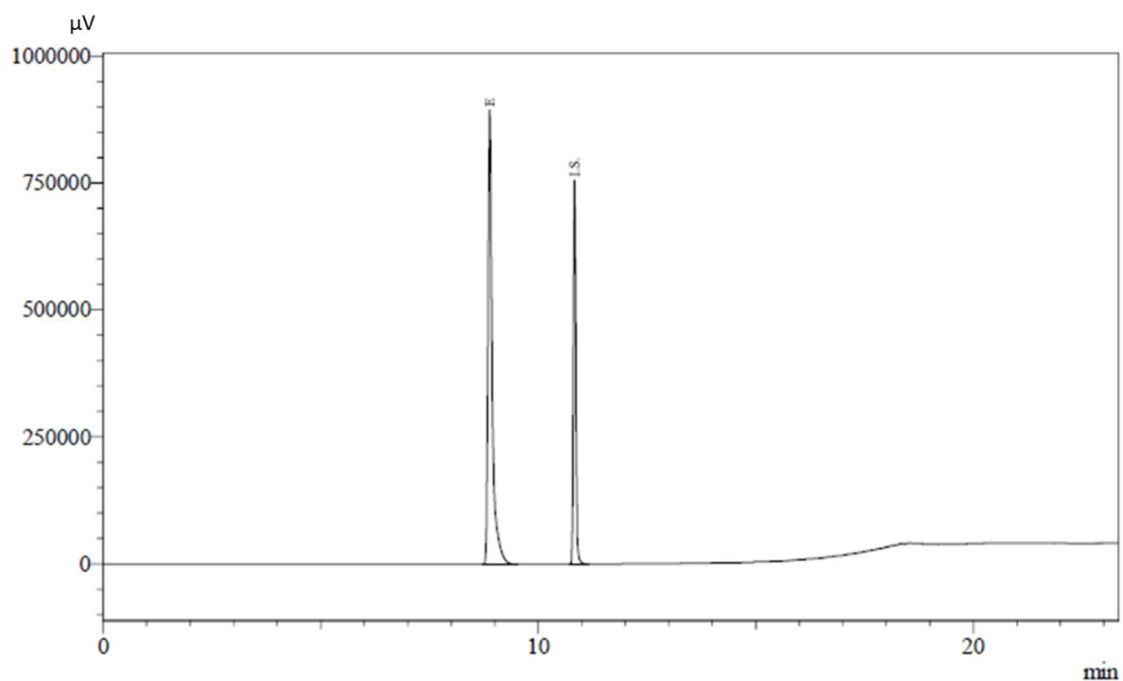
gdje je: γ_x – masena koncentracija hlapivog srodnog spoja (g/100 L a.a.)

w_x – maseni udio hlapivog srodnog spoja u otopini za analizu ($\mu\text{g/g}$)

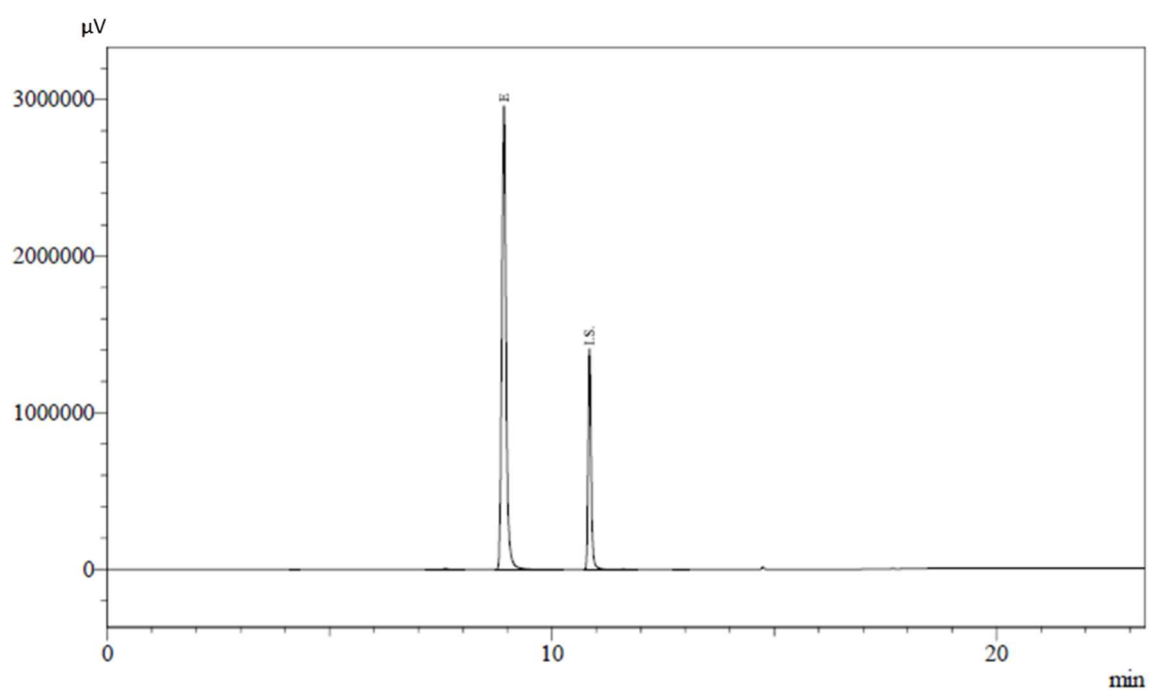
ρ – gustoća alkohola (kg/m^3)

$\text{alk.jakost}_{\text{uzorka}}$ – stvarna alkoholna jakost uzorka rakije (% vol)

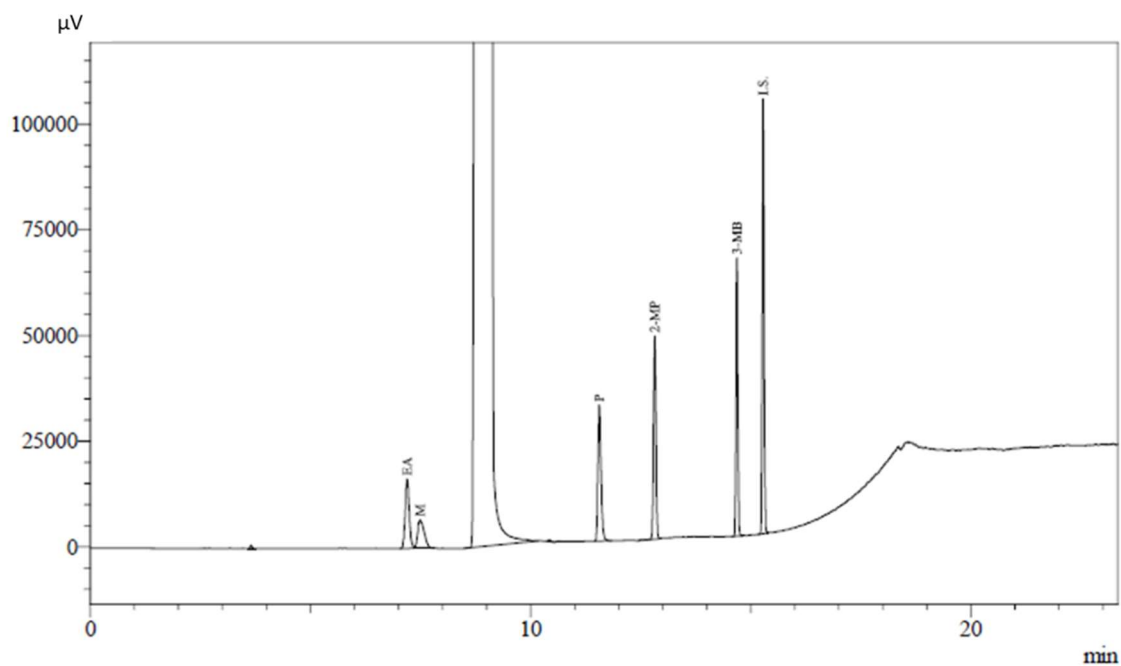
4. REZULTATI



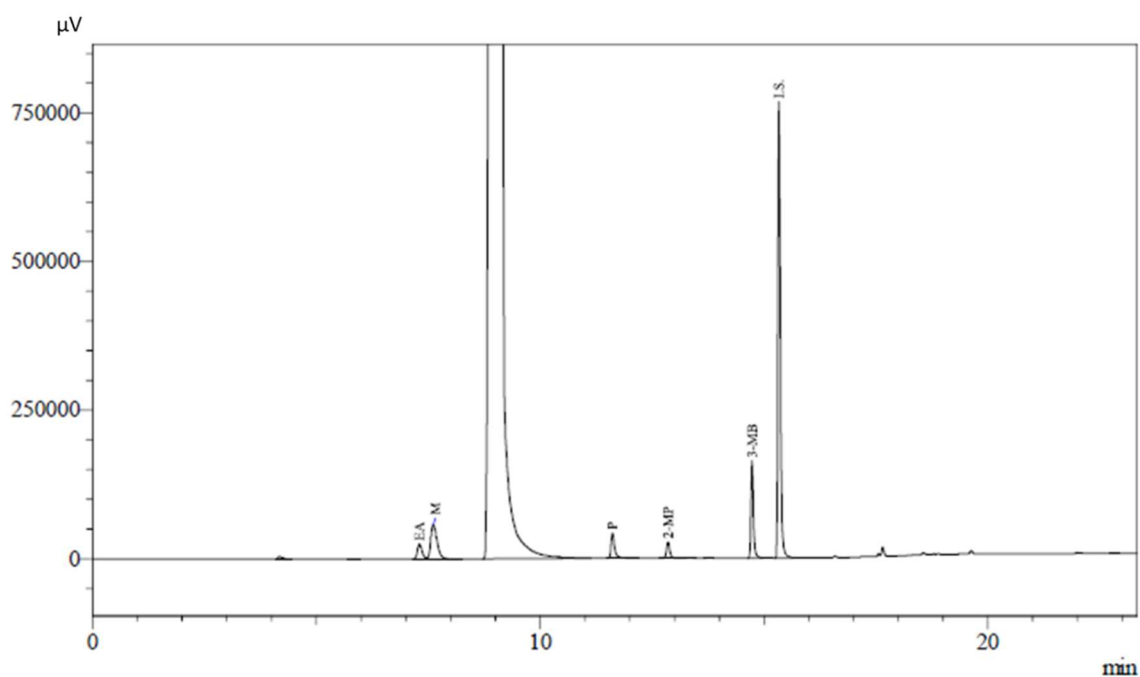
Slika 5 Kromatogram standarda etanola (E - etanol, I.S. – interni standard)



Slika 6 Kromatogram uzorka rakije od šljive (E - etanol, I.S. – interni standard)



Slika 7 Kromatogram standarda hlapivih srodnih spojeva (EA – etil acetat, M – metanol, P – propan-1-ol, 2-MP – 2-metilpropan-1-ol, 3-MB – 3-metilbutan-1-ol, I.S. – interni standard)



Slika 8 Kromatogram hlapivih srodnih spojeva uzorka rakije od šljive (EA – etil acetat, M – metanol, P – propan-1-ol, 2-MP – 2-metilpropan-1-ol, 3-MB – 3-metilbutan-1-ol, I.S. – interni standard)

Tablica 2 Faktor odziva detektora (RRF) za analizirane hlapive komponente u rakiji

| Komponenta | Faktor odziva detektora (RRF) |
|----------------------------|--------------------------------------|
| Etanol | 0,9282 |
| Metanol | 2,4690 |
| Etil acetat | 1,9348 |
| Propan-1-ol | 1,2684 |
| 2-metil-propan-1-ol | 1,0906 |
| 3-metil-butan-1-ol | 1,0399 |

Tablica 3 Srednje vrijednosti i standardna odstupanja udjela etanola izraženog kao stvarna alkoholna jakost (% vol) analiziranih uzoraka rakija

| Oznaka uzorka | Vrsta rakije | Srednja vrijednost (% vol) | Standardno odstupanje (% vol) |
|---------------|-------------------|----------------------------|-------------------------------|
| 1 | Rakija od trešnje | 36,45 | 0,38 |
| 2 | Rakija od smokve | 36,02 | 0,93 |
| 3 | Rakija od kruške | 39,58 | 0,14 |
| 4 | Rakija od višnje | 34,18 | 0,33 |
| 5 | Loza | 37,41 | 0,33 |
| 6 | Travarica | 38,85 | 0,19 |
| 7 | Travarica | 29,02 | 0,27 |
| 8 | Rakija od oraha | 36,71 | 0,23 |
| 9 | Loza | 53,98 | 0,76 |
| 10 | Loza | 48,56 | 0,92 |
| 11 | Loza | 58,51 | 0,69 |
| 12 | Loza | 54,52 | 0,78 |
| 13 | Loza | 44,96 | 0,14 |
| 14 | Loza | 38,18 | 0,10 |
| 15 | Rakija od kruške | 39,78 | 0,09 |
| 16 | Rakija od jabuka | 37,40 | 0,15 |
| 17 | Rakija od šljive | 38,29 | 0,52 |

Tablica 4 Srednje vrijednosti i standardna odstupanja masene koncentracije metanola (g/100 L a.a.) analiziranih uzoraka rakija

| Oznaka uzorka | Vrsta rakije | Srednja vrijednost (g/100 L a.a.) | Standardno odstupanje (g/100 L a.a.) |
|---------------|-------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| 1 | Rakija od trešnje | 146,50 | 19,93 |
| 2 | Rakija od smokve | 344,08 | 4,01 |
| 3 | Rakija od kruške | 793,50 | 13,15 |
| 4 | Rakija od višnje | 338,59 | 1,13 |
| 5 | Loza | 109,58 | 0,49 |
| 6 | Travarica | 105,23 | 0,83 |
| 7 | Travarica | 105,86 | 0,28 |
| 8 | Rakija od oraha | 142,62 | 2,31 |
| 9 | Loza | 42,01 | 1,11 |
| 10 | Loza | 142,43 | 3,75 |
| 11 | Loza | 41,31 | 0,31 |
| 12 | Loza | 45,18 | 0,74 |
| 13 | Loza | 160,20 | 2,58 |
| 14 | Loza | 4,42 | 0,06 |
| 15 | Rakija od kruške | 815,82 | 2,04 |
| 16 | Rakija od jabuka | 301,46 | 3,22 |
| 17 | Rakija od šljive | 361,36 | 0,86 |

Tablica 5 Srednje vrijednosti i standardna odstupanja masene koncentracije etil acetata (g/100 L a.a.) analiziranih uzoraka rakija

| Oznaka uzorka | Vrsta rakije | Srednja vrijednost (g/100 L a.a.) | Standardno odstupanje (g/100 L a.a.) |
|---------------|-------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| 1 | Rakija od trešnje | 100,90 | 12,77 |
| 2 | Rakija od smokve | 341,71 | 27,67 |
| 3 | Rakija od kruške | 237,38 | 3,49 |
| 4 | Rakija od višnje | 123,33 | 0,90 |
| 5 | Loza | 47,66 | 0,36 |
| 6 | Travarica | 45,27 | 5,84 |
| 7 | Travarica | 2,88 | 0,02 |
| 8 | Rakija od oraha | 67,71 | 1,31 |
| 9 | Loza | 133,66 | 2,82 |
| 10 | Loza | 70,17 | 1,42 |
| 11 | Loza | 63,38 | 0,93 |
| 12 | Loza | 64,59 | 3,98 |
| 13 | Loza | 74,74 | 0,94 |
| 14 | Loza | 63,46 | 1,01 |
| 15 | Rakija od kruške | 36,97 | 0,18 |
| 16 | Rakija od jabuka | 319,38 | 2,31 |
| 17 | Rakija od šljive | 89,55 | 0,71 |

Tablica 6 Srednje vrijednosti i standardna odstupanja masene koncentracije propan-1-ola (g/100 L a.a.) analiziranih uzoraka rakija

| Oznaka uzorka | Vrsta rakije | Srednja vrijednost (g/100 L a.a.) | Standardno odstupanje (g/100 L a.a.) |
|---------------|-------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| 1 | Rakija od trešnje | 29,34 | 4,15 |
| 2 | Rakija od smokve | 25,39 | 0,24 |
| 3 | Rakija od kruške | 36,66 | 0,49 |
| 4 | Rakija od višnje | 132,18 | 0,18 |
| 5 | Loza | 56,55 | 0,42 |
| 6 | Travarica | 35,15 | 1,99 |
| 7 | Travarica | 52,69 | 0,06 |
| 8 | Rakija od oraha | 18,75 | 0,29 |
| 9 | Loza | 36,19 | 0,74 |
| 10 | Loza | 20,28 | 0,53 |
| 11 | Loza | 33,05 | 0,46 |
| 12 | Loza | 36,02 | 1,02 |
| 13 | Loza | 22,29 | 0,47 |
| 14 | Loza | 3,84 | 0,05 |
| 15 | Rakija od kruške | 18,47 | 0,30 |
| 16 | Rakija od jabuka | 28,71 | 0,31 |
| 17 | Rakija od šljive | 75,41 | 0,11 |

Tablica 7 Srednje vrijednosti i standardna odstupanja masene koncentracije 2-metilpropan-1-ola (g/100 L a.a.) analiziranih uzoraka rakija

| Oznaka uzorka | Vrsta rakije | Srednja vrijednost (g/100 L a.a.) | Standardno odstupanje (g/100 L a.a.) |
|---------------|-------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| 1 | Rakija od trešnje | 45,74 | 6,72 |
| 2 | Rakija od smokve | 31,06 | 0,18 |
| 3 | Rakija od kruške | 43,40 | 0,29 |
| 4 | Rakija od višnje | 80,99 | 0,41 |
| 5 | Loza | 48,26 | 0,97 |
| 6 | Travarica | 48,50 | 0,64 |
| 7 | Travarica | 52,33 | 0,31 |
| 8 | Rakija od oraha | 89,98 | 0,14 |
| 9 | Loza | 57,22 | 1,39 |
| 10 | Loza | 77,90 | 1,94 |
| 11 | Loza | 48,45 | 0,29 |
| 12 | Loza | 52,97 | 0,74 |
| 13 | Loza | 87,38 | 1,40 |
| 14 | Loza | 52,22 | 0,76 |
| 15 | Rakija od kruške | 70,92 | 0,15 |
| 16 | Rakija od jabuka | 67,81 | 0,57 |
| 17 | Rakija od šljive | 37,12 | 0,24 |

Tablica 8 Srednje vrijednosti i standardna odstupanja masene koncentracije 3-metilbutan-1-ola (g/100 L a.a.) analiziranih uzoraka rakija

| Oznaka uzorka | Vrsta rakije | Srednja vrijednost (g/100 L a.a.) | Standardno odstupanje (g/100 L a.a.) |
|---------------|-------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| 1 | Rakija od trešnje | 86,69 | 11,92 |
| 2 | Rakija od smokve | 91,90 | 0,54 |
| 3 | Rakija od kruške | 104,28 | 1,67 |
| 4 | Rakija od višnje | 174,47 | 0,20 |
| 5 | Loza | 177,85 | 0,39 |
| 6 | Travarica | 168,53 | 0,41 |
| 7 | Travarica | 145,18 | 0,15 |
| 8 | Rakija od oraha | 383,37 | 5,80 |
| 9 | Loza | 111,75 | 2,43 |
| 10 | Loza | 319,56 | 7,61 |
| 11 | Loza | 107,12 | 0,51 |
| 12 | Loza | 117,44 | 1,51 |
| 13 | Loza | 356,89 | 5,44 |
| 14 | Loza | 138,35 | 1,81 |
| 15 | Rakija od kruške | 258,66 | 0,16 |
| 16 | Rakija od jabuka | 164,94 | 1,48 |
| 17 | Rakija od šljive | 166,76 | 0,33 |

5. RASPRAVA

Cilj ovog istraživanja bio je odrediti hlapive komponente različitih vrsta rakija kako bi se utvrdile specifičnosti ovisno o vrsti rakije te provjerila kvaliteta obzirom na propise. Profil hlapivih komponenata određen je plinskom kromatografijom uz plameno-ionizacijski detektor. Identifikacija pojedinih komponenti je izvršena na temelju njihova vremena zadržavanja, dok se za kvantifikaciju koristila metoda interne kalibracije. Na **Slici 5** prikazan je kromatogram standardne otopine etanola, a na **Slici 6** kromatogram uzorka rakije od šljive. Vremena zadržavanja za etanol (E) i acetonitril (I.S.) su 8,9 min i 10,8 min. Na **Slikama 7 i 8** dan je prikaz kromatograma standarda hlapivih srodnih spojeva i kromatograma hlapivih srodnih spojeva uzorka rakije od šljive. Vremena zadržavanja su sljedeća: 7,2 min za etil acetat (EA), 7,4 min za metanol (M), 11,6 min za propan-1-ol (P), 12,9 min za 2-metilpropan-1-ol (2-MP), 14,7 min za 3-metilbutan-1-ol (3-MB) i 15,3 min za pentan-1-ol (I.S.).

U **Tablici 3** prikazan je udio etanola u analiziranim uzorcima rakija, odnosno njihova stvarna alkoholna jakost. Raspon stvarne alkoholne jakosti u uzorcima je od 29,02 do 58,51 % vol. Najviši udio etanola izmjeren je u uzorcima rakije loze, s prosječnom vrijednosti 48,02 % vol. Prema Pravilniku o jakim alkoholnim pićima i dopunjenim izdanjima Pravilnika (MPRRR 2009a; 2009b; 2011a; 2011b; 2012), alkoholna jakost rakije od voća mora biti najmanje 37,5 % vol. Iz rezultata prikazanih u **Tablici 3** vidljivo je da 7 analiziranih uzoraka rakija nije u skladu sa Pravilnikom. Međutim, svi uzorci koji su imali udio etanola niži od propisane vrijednosti bili su uzorci domaće proizvodnje, namijenjeni za vlastite potrebe iz čega se može zaključiti da se u Hercegovini preferira rakija slabije alkoholne jakosti. Navedeni Pravilnik je u skladu sa Uredbom Europske Unije br. 110/2008 (Europski parlament i Vijeće EU, 2008) te sa Pravilnikom o definiranju, opisivanju, prezentiranju, označavanju i zaštiti geografskih oznaka jakih alkoholnih pića (81/12) (Vijeće ministara BiH, 2012).

Metanol nastaje enzimskom razgradnjom pektina i nema značajan utjecaj na aromu destilata. Općenito, koncentracija metanola u rakiji je povezana sa količinom pektina prisutnom u voću koje se koristilo za proizvodnju alkoholnog pića te je pogodna za dokazivanje autentičnosti jakih alkoholnih pića od voća (Lukić, 2008). Zbog toksičnosti metanola, propisana je maksimalna dozvoljena koncentracija metanola, koja prema Pravilniku o jakim alkoholnim pićima (MPRRR, 2009b) i Uredbi Europske Unije br. 110/2008 (Europski parlament i Vijeće EU, 2008) iznosi 1000 grama po hektolitr preračunato na 100 % vol. alkohola. U **Tablici 4** dan je prikaz masene koncentracije metanola u analiziranim uzorcima rakija. Koncentracija metanola u analiziranim rakijama kreće se od 4,42 do 815,82

g/hL a.a., što znači da su svi uzorci u skladu sa propisima (MPRRR, 2009b, Vijeće ministara BiH, 2012). Dva su analizirana uzorka, oba rakije od kruške, imala značajno višu koncentraciju metanola (793,50 i 815,82 g/hL a.a.) od ostalih analiziranih uzoraka rakija, ali i dalje u skladu sa Pravilnicima. Faktori koji bi mogli utjecati na nastanak metanola u procesu fermentacije uključuju veličinu i zrelost sirovog materijala, sadržaj pektina i aktivnost pektin metil esteraze (PME), a moguću ulogu imaju i mikroorganizmi. Tijekom sazrijevanja voća PME razgrađuje pektine pri čemu nastaje metanol (Ohimain, 2016). Kruške su prirodno bogate pektinima, a one koje se koriste za proizvodnju rakije su uglavnom prezrele (Banić, 2006) što bi moglo objasniti visok sadržaj metanola u uzorcima dobivenim u ovom istraživanju. Nikičević (2005) u svom istraživanju navodi da je sadržaj metanola bio povećan u rakijama od kruške kojima su pri proizvodnji dodani pektolitički enzimi, ali s obzirom da su navedeni uzorci rakija od kruške domaće proizvodnje, nije za očekivati da su dodani pektolitički enzimi.

Esteri su bitne komponente arome i okusa, uglavnom prijatnog mirisa na voće i cvijeće. Najzastupljeniji ester koji nastaje alkoholnom fermentacijom je etil acetat koji u manjim koncentracijama doprinosi voćnoj aromi pića, dok u višim razinama može uzrokovati miris otapala (Lukić, 2008). Rezultati masene koncentracije etila acetata u analiziranim uzorcima rakija dani su u **Tablici 5**. Najniža koncentracija etil acetata izmjerena je u uzorku 7 (travarica), s prosječnom vrijednosti 2,88 g/hL a.a., dok je najveća pronađena u uzorku 3 (rakija od smokve), s prosječnom masenom koncentracijom od 347,71 g/hL a.a. Ovi rezultati se poklapaju sa rezultatima rada Kostik i sur. (2014) koji su u makedonskim uzorcima rakija od grožđa i šljiva pronašli koncentracije etil acetata u rasponu od 5,2 mg/100 mL do 454 mg/100 mL, te sa rezultatima rada Kostik i sur. (2013) gdje su pronađene srednje vrijednosti etil acetata od 60,3 g/100 L u lozovači i 132,5 g/100 L u rakiji od šljive. Prema rezultatima istraživanja Winterove i sur. (2008), u uzorcima rakije od kruške, jabuke, višnje, trešnje, šljive i marelice pronađene koncentracije etil acetata su: od 7,6 do 293,7 g/hL a.a. (rakija od kruške), 12,5 - 233,4 g/hL a.a. (rakija od jabuke), 27,0 - 692,1 g/hL a.a. (rakija od trešnje), 56,3 - 235,9 g/hL a.a. (rakija od šljive) i 19,9 - 656,5 g/hL a.a. (rakija od višnje). Sve navedene koncentracije su u skladu sa rezultatima dobivenim u ovom radu, osim u uzorku rakije od jabuke koja je nešto viša u uzorku iz ovog istraživanja (319,38 g/hL a.a.). U istraživanju autora Miličević i sur. (2014; 2017) pronađene vrijednosti etil acetata u uzorcima rakije od smokve i višnje su mnogo niže nego vrijednosti pronađene u uzorcima rakije od smokve i višnje iz ovog diplomskog rada.

Viši alkoholi su komponente od velike važnosti za aromu alkoholnih pića, a nastaju iz aminokiselina tijekom alkoholne fermentacije (Lukić, 2008). Prema rezultatima rada Tupajić i sur. (2007), kod rakije od šljiva, koncentracija viših alkohola je bila znatno viša u sirovim destilatima i rakijama dobivenih od masulja prevrelog uz dodatak kvasca u usporedbi sa destilatima i rakijama podvrgnutim spontanoj fermentaciji. Najvažniji spojevi iz ove skupine su propan-1-ol, 2-metilpropan-1-ol i 3-metilbutan-1-ol, a njihove koncentracije su prikazane u **Tablicama 6-8**. Iz Tablica je vidljivo da je najzastupljeniji viši alkohol 3-metilbutan-1-ol, sa najnižom koncentracijom od 86,69 g/hL a.a. izmjerenom u uzorku 1 (rakija od trešnje), do najviše 383,37 g/hL a.a. pronađene u uzorku 8 (rakija od oraha). Rezultati navedeni u rade Winterove i sur. (2008) za 3-metilbutan-1-ol kreću se u rasponu od 58,9 g/hL a.a. do 422,5 g/hL a.a., što je u skladu sa rezultatima dobivenim u ovom radu. Pronađene vrijednosti 3-metilbutan-1-ola u radovima Kostik i sur. (2013; 2014) poklapaju se sa koncentracijama u uzorcima lozovače, dok je uzorak rakije od šljive imao nešto veću koncentraciju 3-metilbutan-1-ola nego u navedenim radovima. Koncentracija 3-metilbutan-1-ola u uzorku rakije od šljive je također nešto veći nego u uzorcima objavljenim u radu autora Rusu Coldea i sur. (2011), dok su koncentracije pronađene u rakijama od jabuke i kruške u istom radu sukladne sa rezultatima dobivenim u ovom istraživanju. Tupajić i sur. (2007) su pronašli koncentracije 3-metilbutan-1-ola od 114,7 g/hL a.a. u rakijama od masulja šljive prevrelog uz epifitnu mikrofloru i 219,0 g/hL a.a. u rakijama od masulja prevrelog uz dodatak selekcioniranog kvasca, što se poklapa sa koncentracijama pronađenim u uzorku rakije od šljive (166,76 g/hL a.a., **Tablica 8**).

Od ostalih viših alkohola analizirani su propan-1-ol i 2-metilpropan-1-ol. Koncentracija propan-1-ola varira od 3,84 g/hL a.a., u uzorku 14 (lozovača), do 132,18 g/hL a.a. u uzorku 4 (rakija od višnje). U radu autora Kostik i sur. (2014) navedene su koncentracije propan-1-ola u uzorcima lozovače od 4,1 do 90,5 mg/100 mL a.a. što je u skladu sa dobivenim rezultatima, te koncentracije od 22 do 305 mg/100 mL a.a. u uzorcima rakije od šljive što se također poklapa sa rezultatima iz ovog rada. Rezultati za propan-1-ol su u skladu i sa rezultatima rada Winterove i sur. (2008). Tupajić i sur. (2007) su objavili nešto više koncentracije propan-1-ola u uzorcima rakije od šljive (119,2 i 228,4 g/hL a.a.) od onih pronađenih u uzorku rakije od šljive iz ovog istraživanja (75,41 g/hL a.a., **Tablica 6**).

Raspon koncentracija 2-metilpropan-1-ola dobivenih u ovom istraživanju kretao se od 31,06 g/hL a.a. do 89,98 g/hL a.a. Dobivene koncentracije 2-metilpropan-1-ola su u skladu sa

koncentracijama pronađenim u rakijama od kruške, trešnje, šljive i višnje u radu Winterove i sur. (2008), dok su koncentracije pronađene u rakiji od jabuke nešto niže. Kostik i sur. (2014) su prijavili niže koncentracije 2-metilpropan-1-ola u rakijama lozovačama, dok su koncentracije u uzorcima od šljive u skladu sa rezultatima dobivenim u ovom diplomskom radu. Koncentracija 2-metilpropan-1-ola u rakiji od šljive je također u skladu sa rezultatima rada Tupajić i sur. (2007) i Coldea i sur. (2011). U usporedbi sa rezultatima dobivenim u ovom radu, Miličević i sur. (2014;2017) objavili su niže koncentracije sva tri viša alkohola u rakijama od smokve i višnje no tu treba uzeti u obzir način proizvodnje rakija.

6. ZAKLJUČCI

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

- U ispitivanim uzorcima raspon etanola iznosio je od 29 do 59 % vol., pri čemu 7 uzoraka nije zadovoljilo zahtjeve propisa o minimalnoj količini etanola u jakim alkoholnim pićima.
- Udio metanola u ispitivanim uzorcima iznosio je od 4,42 do 815,82 g/hL a.a. pri čemu su svi uzorci zadovoljili zahtjeve navedene propisima.
- Koncentracije etil acetata i viših alkohola, propan-1-ola, 2-metilpropan-1-ola i 3-metilbutan-1-ola nisu regulirane zakonom niti su u literaturi pronađene definirane granice vrijednosti, ali se uglavnom poklapaju sa rezultatima drugih autora.

7. LITERATURA

- Alcarde AR, Souza LM, Bortoletto AM: Formation of volatile and maturation-related congeners during the aging of sugarcane spirit in oak barrels. *Journal of the Institute of Brewing*, 120:529-536, 2014.
- Banić M: *Rakije, whisky i liker*. Gospodarski list d.d., Zagreb, 2006.
- Banović N: Kvaliteta rakije loze proizvedene pri različitim uvjetima fermentacije od sorte grožđa Izabela. *Diplomski rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2016.
- Chasteen TG: *The Flame Ionisation Detector*. Department of Chemistry, Sam Houston State University, USA, 2000. http://www.shsu.edu/chm_tgc/primers/pdf/FID.pdf [22.02.2018.]
- Chromacademy: *Theory and Instrumentation of GC Introduction*. [http://www.chromacademy.com/lms/sco10/Theory and Instrumentation Of GC Introduction.pdf](http://www.chromacademy.com/lms/sco10/Theory_and_Instrumentation_Of_GC_Introduction.pdf) [13.05.2018.]
- Eiceman GA: Instrumentation of Gas Chromatography. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, New Mexico State University, USA, 2006.
- Europski parlament i Vijeće Europske unije: Ispravak Uredbe (EZ) br. 110/2008 Europskog parlamenta i Vijeća od 15. siječnja 2008. o definiciji, opisivanju, prezentiranju, označavanju i zaštiti zemljopisnih oznaka jakih alkoholnih pića i stavljanju izvan snage Uredbe Vijeća (EEZ) br. 1576/89. *Službeni list Europske unije* 62:171-209, 2008.
- Garcia Llobodanin L: Potential of Blanquilla pear variety to produce pear spirits: Influence of the fermentation and distillation conditions in the final quality. Department of Chemical Engineering, Doctoral thesis, Department of Chemical Engineering, Universitat Rovira i Virgili, Spain, 2008.
- Jović S: *Priručnik za spravljanje rakije*. Partenon, Beograd, 2006.
- Kobis: *GC injektori i detektori*. 2018. <https://www.kobis.hr/prodajni-program/kromatografija/plinska-kromatografija/gc-injectors/> [17.05.2018.]
- Kostik V, Gjorgjeska B, Angelovska B, Kovacevska I: Determination of some volatile compounds in fruit spirits produced from grapes (*Vitis Vinifera* L.) and plums (*Prunus Domestica* L.) cultivars. *Science Journal of Analytical Chemistry*, 2:41-46, 2014.
- Kostik V, Memeti S, Bauer B: Gas-chromatographic analysis of some volatile congeners in different types of strong alcoholic fruit spirits. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 4:98-102, 2013.
- Lea AGH, Piggott JR: *Fermented Beverage Production Second Edition*. Kluwer Academic / Plenum Publishers, USA, 2003.
- Lukić I: Karakterizacija sortnih rakija komovica na osnovi sastava hlapivih spojeva arome. *Doktorski rad*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2008.

- Malnar M: Kvaliteta rakije šljivovice proizvedena od nove sorte šljive Top king. *Diplomski rad*, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2016.
- Miličević B, Ačkar Đ, Babić J, Jozinović A, Miličević R, Oroz M, Šubarić D: Impact of the fermentation process with immobilized yeast cells on the aroma profile and sensory quality of distillates produced from two fig (*Ficus carica L.*) cultivars. *Poljoprivreda*, 23: 49-55, 2017.
- Miličević B, Babić J, Šubarić D, Ačkar Đ, Jozinović A, Miličević R, Klarić I: The effects of the fermentation with immobilized yeast and different cherry varieties on the quality of cherry brandy. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 6:104-109, 2014.
- MPRRR, Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: Pravilnik o izmjenama i dopunama Pravilnika o jakim alkoholnim pićima. Narodne novine 141/09, 2009a.
- MPRRR, Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: Pravilnik o jakim alkoholnim pićima. Narodne novine 61/09, 2009b.
- MPRRR, Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: Pravilnik o dopunama Pravilnika o jakim alkoholnim pićima. Narodne novine 86/11, 2011a.
- MPRRR, Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: Pravilnik o dopunama Pravilnika o jakim alkoholnim pićima. Narodne novine 104/11, 2011b.
- MPRRR, Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: Pravilnik o dopunama Pravilnika o jakim alkoholnim pićima. Narodne novine 118/12, 2012.
- MPŠVG, Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva: Pravilnik o analitičkim metodama za jaka alkoholna i alkoholna pića. Narodne novine 38/05, 2005.
- Nedić Tiban N: Sirovine u proizvodnji jakih alkoholnih pića (pdf predavanja), Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2016.
- Nikičević N: Effects of some production factors on chemical composition and sensory qualities of Williams pear brany. *Journal of Agricultural Sciences*, 50:193-206, 2005.
- Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR: *Principles of Instrumental Analysis Sixth Edition*. Thomson Brooks/Cole, Thomson Higher Education, USA, 2007.
- Śliwińska M, Wiśniewska P, Dymerski T, Wardencki W, Namieśnik J: The flavour of fruit spirits and fruit liqueurs: a review. *Flavour and Fragrance Journal*, 30:197-207, 2015.
- Spaho N: *Distillation Techniques in the Fruit Spirits Production*. University of Sarajevo, Faculty of Agriculture and Food Sciences, BiH, 2017.
- Spaho N: *Fermentirani proizvodi*. Poljoprivredno-prehrambeni fakultet u Sarajevu, Sarajevo, BiH, 2010.
- Oihman EI: Methanol contamination in traditionally fermented alcoholic beverages: the microbial dimension. *SpringerPlus*, 5:1607, 2016.

- Petrović V: Određivanje sastava eteričnog ulja nekih vrsta roda *Artemisia* L. plinskom kromatografijom. *Završni rad*, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2015.
- Piantida AG, Barron AR: *Principles of Gas Chromatography*. OpenStax-CNX, 2014. <https://www.scribd.com/document/374660970/Principles-of-Gas-Chromatography-2> [21.03.2018.]
- Prce M: Utjecaj sistema za destilaciju na kakvoću destilata od jabuke. *Diplomski rad*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2012.
- Rusu Coldea TE, Socaciu C, Parv M, Vodnar D: Gas-Chromatographic Analysis of Major Volatile Compounds Found in Traditional Fruit Brandies from Transylvania, Romania. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici*, 39:109-116, 2011.
- Tupajić P, Čmelik Z, Boljat M, Družić J: Utjecaj uvjeta vrenja na kakvoću rakije od šljive cv Elena (*Prunus domestica* L.). *Pomologia croatica*, 13:31-40, 2007.
- Vijeće ministara Bosne i Hercegovine: Pravilnik o definiranju, opisivanju, prezentiranju, označavanju i zaštiti geografskih oznaka jakih alkoholnih pića. Službeni glasnik BiH, 81/12, 2012.
- Visit my country: *Hrana i piće u Bosni i Hercegovini*, 2018. https://www.visitmycountry.net/bosnia_herzegovina/bh/index.php/hrana-i-pice [17.05.2018.]
- Wang M-L, Choong Y-M, Su N-W, Lee M-H: A rapid Method for Determination of Ethanol in Alcoholic Beverages Using Capillary Gas Chromatography. *Journal of Food and Drug Analysis*, 11:133-140, 2003.
- Winterova R, Mikulikova R, Mazač J, Havelec P: Assessment of the Authenticity of Fruit Spirits by Gas Chromatography and Stable Isotope Ratio Analyses. *Czech Journal of Food Sciences*, 26:368-375, 2008.
- Zibar M: *Rakija*. 2012. <http://tasteofcroatia.org/spajza/u-boci/rakija/> [26.05.2018.]