

Utjecaj dodatka šećera i modificiranih škrobova na tvari arome kaše od kupine

Živanović, Dalibor

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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:109:802575>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-13**

REPOZITORIJ

PTF OS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Repository / Repozitorij:

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



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

Dalibor Živanović

**UTJECAJ DODATAKA ŠEĆERA I MODIFICIRANIH ŠKROBOVA NA
TVARI AROME KAŠE OD KUPINE**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, lipanj, 2019.

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 2017./2018. održanoj 03. listopada 2017.**Mentor:** izv. prof. dr. sc. *Anita Pichler***Utjecaj dodatka šećera i modificiranih škrobova na tvari arome kaše od kupine***Dalibor Živanović, 297-DI***Sažetak:**

Kaša kupine je poluproizvod koji je osnova za proizvodnju mnogih drugih proizvoda na bazi kupine. Poznavanje svojstava arome od velike je važnosti kod prerade namirnica u prehrambenoj industriji. Cilj ovoga rada bio je ispitati utjecaj dodatka šećera i modificiranih škrobova na zadržavanje tvari arome u pasteriziranim kašama kupine. U tu svrhu pripravljene su kaše od kupine s različitim udjelima šećera fruktoza, saharoza, trehalozate modificiranih škrobova tapioke i voštanog kukuruza. Rezultati su pokazali da dodatak modificiranih škrobova značajno utječe na zadržavanje i očuvanje aromatičnih spojeva u odnosu na kaše kupine s dodatkom šećera. Dodatak trehaloze u kombinaciji sa modificiranim škrobovima imao je najveći utjecaj na zadržavanje estera, alkohola, C6 spojeva, terpenoida, norizoprenoida i ostalih tvari arome.

Ključne riječi: Kupina, aroma, šećer, modificirani škrob**Rad sadrži:** 52 stranica
22 slika
3 tablica
0 priloga
58 literaturnih referenci**Jezik izvornika:** hrvatski**Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:**

- | | |
|--|---------------|
| 1. prof. dr. sc. <i>Mirela Kopjar</i> | predsjednik |
| 2. izv. prof. dr. sc. <i>Anita Pichler</i> | član-mentor |
| 3. doc. dr. sc. <i>Ante Lončarić</i> | član |
| 4. prof. dr. sc. <i>Nela Nedić Tiban</i> | zamjena člana |

Datum obrane: 18. lipnja, 2019.

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 program ...

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Course title: Food Engineering

Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. I held on October 03, 2017

Mentor: *Anita Pichler*, PhD, associate prof.

Influence of sugars and modified starches addition on aroma compounds in blackberry cream fillings

Dalibor Živanović, 297-DI

Summary:

The blackberry puree is a semi-finished product that makes the basis for the production of many other blackberry based products. Knowledge of flavor properties is of great importance for foodstuffs processing in the food industry. The aim of this paper was to examine the influence of added sugars and modified starches on the flavoring substance in pasteurized blackberry cream fillings. For this purpose, blackberry purees with different proportions of fructose, sucrose, trehalose and modified tapioca starch and wax maize were prepared. The results showed that the addition of modified starch significantly influenced the retention and preservation of aromatic compounds in comparison to the blackberry puree with added sugar. The addition of trehalose in combination with modified starches had the greatest influence on the retention of esters, alcohols, C6 compounds, terpenoids, norisoprenoids and other aromatic substances.

Key words: Blackberry, aroma, sugar, modified starch

Thesis contains: 52 pages
22 figures
3 tables
0 supplements
58 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|--|--------------|
| 1. <i>Mirela Kopjar</i> , PhD, prof. | chair person |
| 2. <i>Anita Pichler</i> , PhD, associate prof. | supervisor |
| 3. <i>Ante Lončarić</i> , PhD, assistant prof. | member |
| 4. <i>Nela Nedić Tiban</i> , PhD, prof. | stand-in |

Defense date: July 18, 2019

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

Zahvaljujem

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. KUPINA	4
2.1.1. Kemijski sastav kupine	5
2.1.1.1 Ugljikohidrati	6
2.1.1.2 Kiseline	7
2.1.1.3 Prehrambena vlakna	7
2.1.1.4 Vitamini	8
2.1.1.5 Minerali	8
2.1.1.6 Tvari boje.....	9
2.2. VOĆNE KAŠE	9
2.3. SREDSTVA ZA ZASLAĐIVANJE	9
2.3.1. Saharoza	10
2.3.2. Fruktoza	11
2.3.3. Trehaloza	11
2.4. ŠKROB	12
2.4.1. Amiloza	13
2.4.2. Amilopektin	14
2.4.3. Želatinizacija i retrogradacija škroba	15
2.4.4. Modificirani škrobovi	16
2.5. TVARI AROME	17
2.5.1. Nositelji arome u voću	17
2.5.2. Biosinteza aromatskih spojeva u voću	17
2.5.3. Promjena aromatičnih sastojaka tijekom procesa prerade	18
2.5.4. Aroma kupine	19
2.6. ODREĐIVANJE SASTOJAKA AROME	20
2.6.1. Kromatografija i spektrometrija masa	20
2.6.1.1 Injektor	22
2.6.1.2 Plin nositelj	22
2.6.1.3 Kromatografske kolone	23
2.6.1.4 Detektori	23
2.6.1.5 Temperatura.....	24
2.6.1.6 Kromatogram	24
2.6.2. SPME analiza.....	25
3. EKSPERIMENTALNI DIO	26
3.1. ZADATAK	27
3.2. MATERIJAL I METODE	27
3.2.1. Priprema kaše i paste od kupine.....	27
3.2.2. Analiza spojeva arome kupine	28
4. REZULTATI	31
5. RASPRAVA	37
6. ZAKLJUČCI	41
7. LITERATURA	43

Popis oznaka, kratica i simbola

F	Fruktoza
GC	Plinska kromatografija
GC/MS	Plinska kromatografija sa maseno-selektivnim detektorom
HPDŠF	Hidroksipropildi-škrob fosfat voštanog kukuruza
MŠT	Modificirani škrob tapioke
MŠVK	Modificirani škrob voštanog kukuruza
S	Saharoza
SF	Saharoza i fruktoza
SPME	Solid Phase Microextraction (mikroekstrakcija na čvrstoj fazi)
ST	Saharoza i trehaloza
T	Trehaloza

1. UVOD

Kupina je biljka iz porodice ruža, poznata još iz doba stare Grčke, dok je njen uzgoj počeo tek početkom 19. stoljeća u Sjevernoj Americi.

Zbog visokog udjela vode kupina je niskokaloričnate sadrži veliku količinu vitamina, minerala i prehrambenih vlakana.

Sredstva za zaslađivanje su tvari koje su dodane proizvodu u svrhu formiranja ugodnog slatkog okusa kojima se poboljšava ukupna aroma proizvoda.

Nativni i modificirani škrobovi se koriste u prehrambenoj industriji kao sredstva za povezivanje različitih sastojaka, stvaranje filma, stabiliziranje pjene, želiranje, zadržavanje vlage, zgušnjavanje, postizanje određene teksture, konzerviranje, itd.

Tvari arome kupine lakohlapive su komponente što je potrebno imati na umu prilikom izbora procesa prerade i skladištenja proizvoda kako bi se očuvala prirodna aroma.

Voćna kaša je poluproizvod dobiven pasiranjem voća koji se pasterizira.

Cilj rada je istražiti utjecaj dodataka šećera i modificiranih škrobova na tvari arome kaše kupine.

Rezultati istraživanja pokazali su da dodatak šećera i modificiranih škrobova utječu na zadržavanje arome kaše od kupine.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. KUPINA

Kupina (*Rubus fruticosus*) se u staroj Grčkoj upotrebljavala kao ljekovita biljka. Prve sorte kupina izdvojene su početkom 19 st. u Sjevernoj Americi, te se to smatra i početkom uzgoja kupina (Hadelan, 2010).

Kupina je biljka penjačica iz porodice ruža (Rosaceae) te naraste od 50-300 cm. Stabljika joj je, manje-više bodljikava te mjestimično odrvenjela. Bodlje služe za penjanje, ali i kao obrambeni mehanizam protiv životinja koje se hrane lišćem kupine. Cvjeta od lipnja do kolovoza. Nakon cvjetanja iz svakog pojedinog cvijeta razvija se sitni jagodičasti plod, crvene boje, koji kasnije potamni do tamnoplave i gotovo crne boje (Web 1).

Prema podacima USDA (2018.) botanička klasifikacija kupine daje sljedeću kategorizaciju:

Carstvo: *Plantae* (biljke)

Podcarstvo: *Tracheobionta* (cijevnjače ili vaskularne biljke)

Odjeljak: *Spermatophyta* (sjemenjače)

Pododjeljak: *Angiosperme* (golosjemenjače)

Divizija: *Magnoliophytina* (cvjetnice)

Razred: *Magnoliopsida* (dvoupnice)

Red: *Rosales*

Porodica: *Rosaceae* (ruže)

Rod: *Rubus* L.

Vrsta: *Rubus fruticosus* L. (Kupina).



Slika 1 Kupina u raznim stadijima zrelosti (*Rubus fruticosus* L.) (Web 2)

U Europise danas uzgajaju uglavnom američke sorte kupine bez trnja, uspravnog rasta i daju plodovemase oko 5 g. Najveće značenje za gospodarski uzgoj imaju sorte: Wilsonova rana, Black Satin, Thornfree, Smoothstem, Thornless (Thornless Logan), Evergreen, Darow, Bailey, Ebony King, Eldorado, Boysen i Himalaya.

U Republici Hrvatskoj povoljni su uvjeti za rast i razvoj malina i kupina, te postoji velik broj različitih samoniklih vrsta (37) u cijeloj državi (Purgar i sur., 2007).

Kupina se uzgaja u kontinentalnoj Hrvatskoj na malim plantažama, tradicionalnim tehnikama uzgoja te ručno bere Thornless Logan, Thornfree, BlackSatin i Tayberry (Velić, 2015.).

Laboratorijski testovi pokazali su da kupine pozitivno djeluju na prevenciju srčanih bolesti i niže vrijednosti LDL kolesterola tzv. lošeg kolesterola (Wu, 1995).

2.1.1. Kemijski sastav kupine

Kemijski sastav definira odnos suhe tvari i vode u plodu, a bitan je zbog određivanja svojstava te energetske i prehrambene vrijednosti dobivenih proizvoda. Potrebno je naglasiti bitnost kemijskog sastava ploda pri izboru tehnoloških postupaka poput prerade i skladištenja.

Tablica 1 Prosječan kemijski sastav kupine izražen na 100 g svježeg ploda (USDA, 2018.)

Sastojak	
Voda	88,15 g
Energija	43,00 kcal
Proteini	1,39 g
Masti	0,49 g
Ugljikohidrati	9,61 g
Vlakna	5,30 g
Šećeri	4,88 g
Minerali	
Kalcij, Ca	29,00 mg
Željezo, Fe	0,62 mg
Magnezij, Mg	20,00 mg
Fosfor, P	22,00 mg
Kalij, K	162,00 mg
Natrij, Na	1,00 mg
Cink, Zn	0,53 mg
Vitamini	
Vitamin C, ukupna askorbinska kiselina	21,0 mg
Tiamin	0,02 mg
Riboflavin	0,026 mg
Niacin	0,646 mg
Vitamin B-6	0,03 mg
Folati	25,00 µg
Vitamin A	11,00 µg
Vitamin E	1,17 mg
Vitamin K	19,80 µg
Masne kiseline	
Masne kiseline, zasićene	0,014 g
Masne kiseline, mono nezasićene	0,047 g
Masne kiseline, poli nezasićene	0,280 g

Prema podacima u **Tablici 1**, vidi se da svježi plod kupine sadrži prosječno 88,15 % vode i 11,85 % suhe tvari. Zbog niskog udjela suhe tvari u svježem plodu kupine, ona sadrži samo 48 kcal na 100 g, odnosno 179,1 kJ.

2.1.1.1 Ugljikohidrati

Ugljikohidrati su organske molekule sastavljene od ugljika, vodika i kisika i kao takve predstavljaju glavni izvor energije u ljudskom metabolizmu.

U **Tablici 1** vidljivo je kako najveći dio suhe tvari čine ugljikohidrati sa svojih 9,81 g na 100 g svježeg ploda. Šećeri u količini od 4,88 g na 100 g svježeg ploda čine 81,1 % ukupne suhe tvari i utječu na slast kupine. Upravo su šećeri glavni nositelji energije u plodu kupine te prema podacima koje je dala Mandić (2014.) sa 4,00 kcal/ g daju kupini 19,52 kcal na 100 g svježeg ploda, odnosno 45,4 % ukupne energije ploda.

Sadržaj ugljikohidrata ovisi o sorti, staništu, stupnju zrelosti, uvjetima skladištenja te metodi tehnološke obrade.

Prema podacima koje je dala Niketić-Aleksić (1982.), plod svježeg kupine sadrži 6,2 % invertiranih šećera te 0,2 % saharoze.

2.1.1.2 Kiseline

Kupina sadrži jabučnu kiselinu kao primarnu organsku kiselinu, ali i druge organske kiseline (fumarna, jantarna) koje su odgovorne za stabilizaciju antocijana i askorbinske kiseline te produžuju rok trajanja svježih i prerađenih kupina (Kaume i sur., 2012.).

Najizraženije kiseline u plodu kupine su jabučna, fumarna, jantarna, oksalna, mliječna i salicilna kiselina. Uz navedene kiseline od posebnog je značaja elaginska kiselina koja sprječava štetno djelovanje slobodnih radikala na stanične strukture u tkivima (Pichler, 2011.).

Prema podacima u **Tablici 1** plod kupine sadrži 14 mg /100 g ploda zasićenih masnih kiselina, 47 mg /100 g monozasićenih te 28 mg/ 100 g ploda polizasićenih kiselina.

2.1.1.3 Prehrambena vlakna

Prehrambena vlakna su oligosaharidi, polisaharidi i njihovi hidrofilni derivati koje ljudski probavni enzimi ne mogu razgraditi do apsorpcijskih komponenata u gornjem probavnom traktu te lignin koji nije ugljikohidrat (Trajković i sur., 1983.).

Prema topljivosti, prehrambena vlakna se dijele na:

- netopljiva prehrambena vlakna koja uključuju celulozu, hemicelulozu, lignin i neprobavljivi škrob;
- topljiva prehrambena vlakna koja uključuju pektine, beta-glukane, gume i sluzi (Mandić i Nosić, 2009.).

Prema Europskoj agenciji za sigurnost hrane kao dijetetski referentna vrijednost za normalno funkcioniranje crijeva u odraslih postavljen je unos od 25 g prehrambenih vlakana, dok potrošnja iznad 25 g može smanjiti rizik od koronarne bolesti srca i dijabetesa tipa 2 (EFSA, 2010). Prevelik dnevni unos prehrambenih vlakana može smanjiti apsorpciju nutrijenata poput vitamina i soli te se preporuča kontrola unosa. Prehrambena vlakna doprinose energiji, ovisno o stupnju razgradnje i apsorpcije (FAO, 2002.).

Prema podacima u **Tablici 1** kupina sadrži 5,30 g vlakana na 100 g svježeg ploda, što ju čini dobrim izvorom prehrambenih vlakana te se preporučuje u redukcijskim dijetama i kontroli dijabetesa.

2.1.1.4 Vitamini

Vitaminima se smatraju vitalne komponente koje po svom kemijskom sastavu nisu ni ugljikohidrati, ni bjelančevine, ni masti, a u organizmu su potrebni u vrlo malim količinama za odvijanje metaboličkih procesa i sprječavanje deficitarnih bolesti (Mandić, 2007.).

Vitamini su tvari koje organizam nije u mogućnosti proizvesti (izuzev vitamina D), a neophodne su za izmjenu tvari u živim stanicama te ih u organizam unosimo hranom.

Prema podacima u **Tablici 1** vidljivo je kako u kupinama ima najviše vitamina C koji ima antioksidacijsko djelovanje.

2.1.1.5 Minerali

Minerali su tvari koje se u organizmu nalaze u malim količinama. Neophodni su za izgradnju tkiva. Prema potrebi organizma i njihovoj zastupljenosti u istom, dijelimo ih na:

- Makroelemente (kalcij, magnezij, kalij, fosfor, natrij, klor, sumpor i dr.) čiji je potrebni dnevni unos veći od 100 mg/dan
- Mikroelemente (cink, mangan, željezo, fluor i dr.)
- Elemente u tragovima (selen, brom, korom, silicij i dr.)

Prema podacima u **Tablici 1** vidljivo je kako su u kupini najzastupljeniji minerali kalij, kalcij, fosfor i magnezij, dok se ostali minerali nalaze u količinama od 1 mg na 100 g svježeg ploda kupine ili manje.

2.1.1.6 Tvari boje

Boja je jedan od faktora ocjenjivanja zrelosti ploda. Pigmenti su prirodne tvari, nositelji boje koji se nalaze u stanicama i tkivima biljaka poput klorofila, antocijana, flavonoida, karotenoida i drugih. Pigmenti, osim na boju, utječu i na aromu ploda te prema navodima Pichler (2011.) neki od njih poput karotenoida imaju i nutritivnu vrijednost.

Boja kupine potječe od antocijana koji plodu daju crvenu i crnu boju, a ovisna je o stupnju zrelosti.

2.2. VOĆNE KAŠE

Prema pravilniku o voćnim sokovima i njima sličnim proizvodima namjenjenim za konzumaciju (MPRH, 2007.), voćna kaša je proizvod koji nije fermentirao, ali može fermentirati, a dobiva se pasiranjem cijelog ili oguljenog voća bez izdvajanja soka. Koncentrirana voćna kaša je proizvod dobiven izdvajanjem određene količine vode iz voćne kaše (NN 46/07).

Za pripremu voćnih kaša potrebno je voće oprati i probrati kako bi se osigurala ujednačena kvaliteta i odstranilo nezrelo ili prezrelo voće. Slijedi uklanjanje koštica i djelomično drobljenje i usitnjavanje voća. Jednoliko usitnjena masa se toplinski obrađuje pri temperaturama 90-95 °C na kojima se uništavaju mikroorganizmi, inaktiviraju enzimi u svrhu zaustavljanja enzimskih reakcija te se omekšava tkivo i odvajaju nejestivi dijelovi ploda. Nakon toplinske obrade kaša se puni u limenke (Lovrić i Piližota, 1994.).

2.3. SREDSTVA ZA ZASLAĐIVANJE

Sredstva za zaslađivanje se dodaju proizvodu u svrhu formiranja ugodnog slatkog okusa te se poboljšava ukupna aroma proizvoda (Bassoli i Merlini, 2003.).

U osnovi, sladila se mogu podijeliti u nekoliko kategorija:

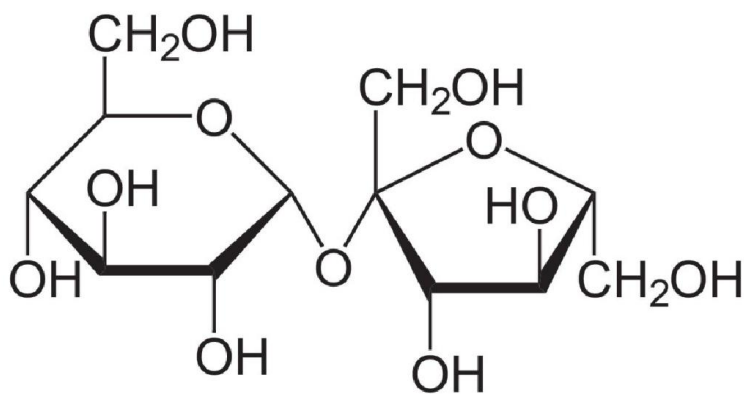
- prema energetske vrijednosti:
 - nutritivna - monosaharidi (glukoza, fruktoza), disaharidi (saharoza, maltoza, laktoza), sirupi (sirup šećerne repe, kukuruzni sirup, melasa...), polioli (ksilitol, manitol, sorbitol) i sladila na bazi škroba (glukozni sirup, visoko fruktozni sirup, visoko maltozni sirup) i intenzivna sladila (aspartam, taumatin, alitam);

- nenutritivna - intenzivna sladila poput saharina, ciklamata, acesulfam K, sukraloza itd.;
- prema podrijetlu mogu biti prirodna i umjetna;
- prema kemijskom sastavu mogu biti ugljikohidratna i neugljikohidratna;
- prema intenzitetu:
 - intenzivna (visokog intenziteta slatkoće) i
 - ekstenzivna (niskog intenziteta slatkoće) (Babić, 2014.).

Prilikom izbora zaslađivača promatra se utjecaj na aromu proizvoda te relativna slatkoća sladila. O'Brien Nabors (2014.) navodi kako je saharoza zlatni standard te se prema njoj određuje relativna slatkoća. Idealno sladilo ne smije biti preskupo, te se mora lako proizvesti, uskladištiti i prevoziti (O'Brien Nabors, 2014.).

2.3.1. Saharoza

Saharoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$) je disaharid u kojem su α -D-glukoza i β -D-fruktoza povezane glikozidnom vezom preko svojih anomernih ugljikovih atoma (Barkijević, 2017.). Obzirom da su α -D-glukoza i β -D-fruktoza u molekuli saharoze povezane glikozidnom vezom preko svojih anomernih ugljikovih atoma, saharoza je nereducirajući šećer što je vidljivo na **Slici 2**.



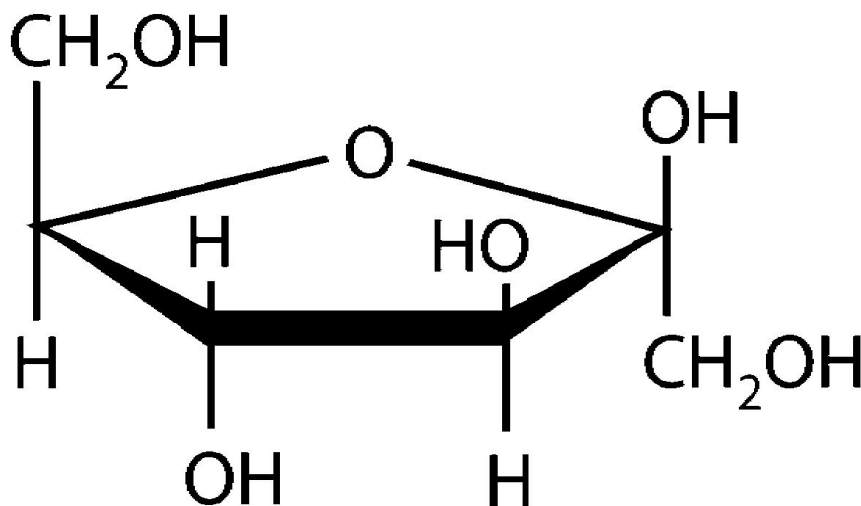
Slika 2 Kemijska struktura molekule saharoze (Web 3)

Gustoća saharoze iznosi $1,59 \text{ g/cm}^3$, dok je njena molarna masa $342,296 \text{ g/mol}$. Talište joj je na temperaturi $186 \text{ }^\circ\text{C}$, a pri temperaturi $200 \text{ }^\circ\text{C}$ dolazi do karamelizacije gdje bijeli kristalični prah prelazi u smeđe obojenu masu - karamel.

Obzirom da je saharoza standard za određivanje relativne slatkoće, njena slatkoća je 1.

2.3.2. Fruktoza

Fruktoza ($C_6H_{12}O_6$) je monosaharid, prema svojoj kemijskoj strukturi ketoheksoza (**Slika 3**). Popularno se naziva "voćni šećer". Gustoća fruktoze iznosi $1,69 \text{ g/cm}^3$, a molarna masa $180,16 \text{ g/mol}$.



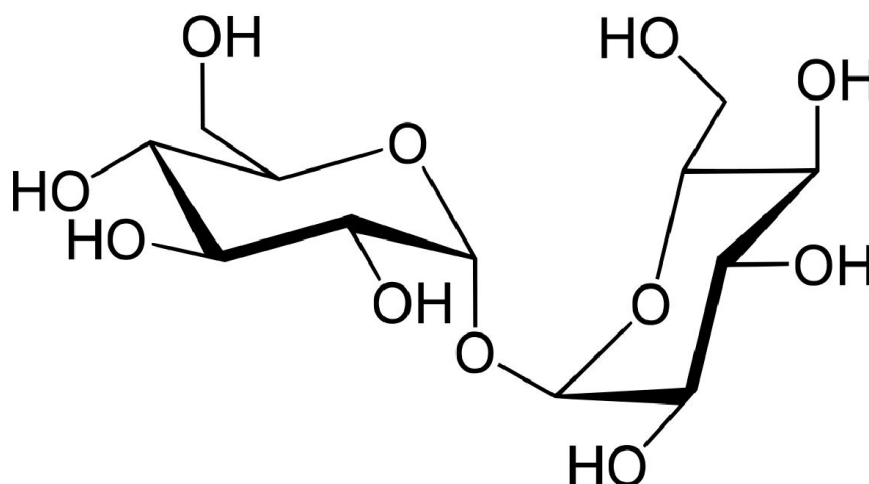
Slika 3 Kemijska struktura molekule fruktoze (Web 4)

Fruktoza se u jetri polimerizacijom prevodi u glikogen, dok se u slučaju nedostatka inzulina u krv prevodi u glukozu i povisuje razinu šećera u krvi. Brže se metabolizira nego glukozu, jer se glukozu aldolne strukture prilikom procesa glikolize prvo mora izomerizirati u fruktozu koja je ketonske strukture kako bi se proces mogao nastaviti i organizmu dati potrebnu energiju.

Prema nekim izvorima (Web 5), relativna slatkoća fruktoze je 1,7 u odnosu na saharozu.

2.3.3. Trehaloza

Trehaloza ($C_{12}H_{22}O_{11}$) je disaharid u kojem su dvije molekule α -D-glukoze povezane putem α -1,1-glikozidne veze. Obzirom da su molekule α -D-glukoze u molekuli trehaloze povezane glikozidnom vezom preko svojih anomernih ugljikovih atoma, trehaloza je nereducirajući šećer (**slika 4**).



Slika 4 Kemijska struktura molekule trehaloze(Web 6)

Gustoća trehaloze iznosi $1,59 \text{ g/cm}^3$, dok je njena molarna masa $342,296 \text{ g/mol}$. Zahvaljujući svojoj niskoj higroskopnosti, niskom intenzitetu slatkoće, stabilnosti pri povišenim temperaturama i skladištenju, nesudjelovanju u Maillardovim reakcijama, smanjenju aktiviteta vode, smanjenju molekularne mobilnosti, imobilizaciji aktivnih krajeva molekula, stabilizaciji proteina, ugljikohidrata, masnih kiselina, teksture, tvari arome i boje te ostalim pozitivnim svojstvima može doprinijeti kvaliteti različitih prehrambenih proizvoda(Vranić, 2015.).

Prema nekim izvorima (Web 5), relativna slatkoća traheloze je 0,45 u odnosu na saharozu.

2.4. ŠKROB

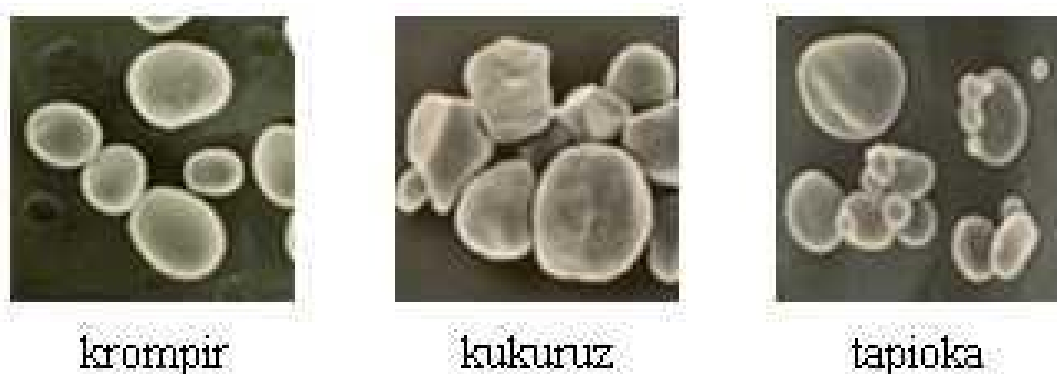
Škrob je polisaharid opće molekulske formule $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$, sastavljen od molekula α -D-glukoze povezane α -1,4 i α -1,6 glikozidnim vezama. Proizvod je fotosinteze i biljke ga skladište u sjemenkama, plodovima, korijenu i gomoljima kao rezervnu tvar. Osnovne građevne jedinice škroba su amiloza i amilopektin, o čijim omjerima ovise svojstva škroba.

Škrob se industrijski proizvodi izoliranjem iz biljnih materijala – najčešće kukuruza, tapioke, pšenice, nešto manje krumpira i riže (Šubarić i sur. 2011.).

Škrob je fini bijeli prah, neutralan, bez mirisa, okusa po brašnu, netopljiv u hladnoj vodi (Van Beynum i Roles, 1985.) te je glavni izvor ugljikohidrata i energije u ljudskoj prehrani (Eliasson, 2004.).

Nativni škrob, kakav se dobije izoliranjem, ima međutim vrlo ograničenu primjenu u industriji zbog problema sa želatinizacijom, retrogradacijom, stabilnošću tijekom miješanja pri visokim temperaturama i u kiselosredini, pa se provodi modificiranje škroba fizikalnim, kemijskim ili enzimskim postupcima, odnosno njihovom kombinacijom (BeMiller i Whistler, 2009.).

Škrob formira granule. Oblik i veličina granule (**Slika 5**) te udio amiloze i amilopektina su važni za botaničko porijeklo škroba (Tester i sur., 2004.).

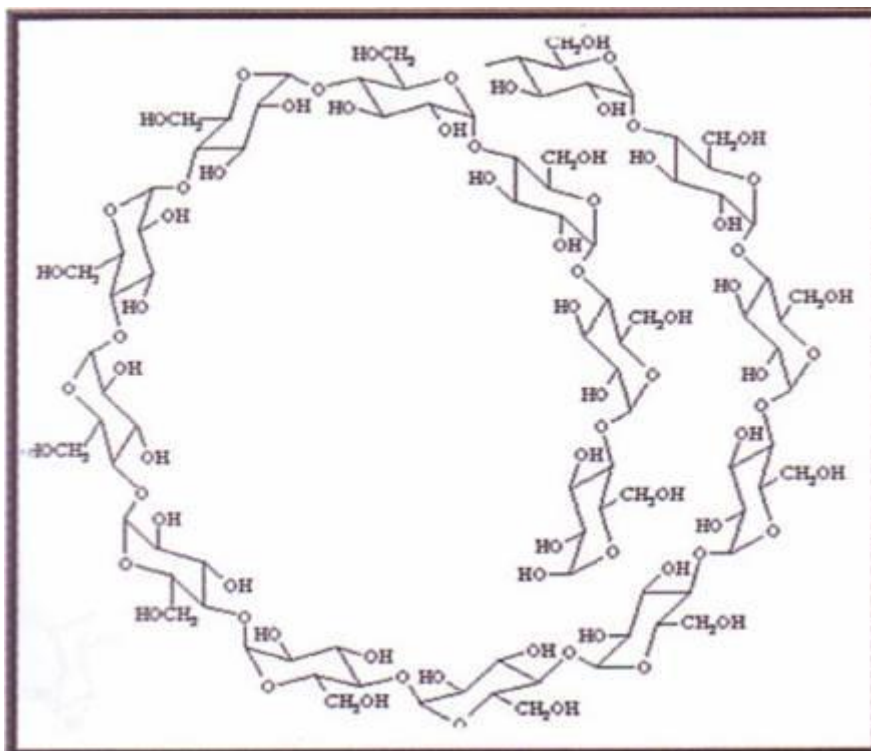


Slika 5 razlika škrobnih granula pojedinih vrsta(Web 7)

Nativni i modificirani škrobovi koriste se uprehrambenoj industriji kao sredstva za povezivanje različitih sastojaka, stvaranje filma, stabiliziranje pjene, želiranje, zadržavanje vlage, zgušnjavanje, postizanje određene teksture, konzerviranje, itd (Denyer i sur., 2001.; Wischmann i sur., 2002.).

2.4.1. Amiloza

Amiloza je linearni polimer, molekule α -D- glukoze povezane α -1,4 glikozidnim vezama (**Slika 6**). Zbog svoje linearne građe amiloza tvori uzvojnice i nije topiva u vodi.



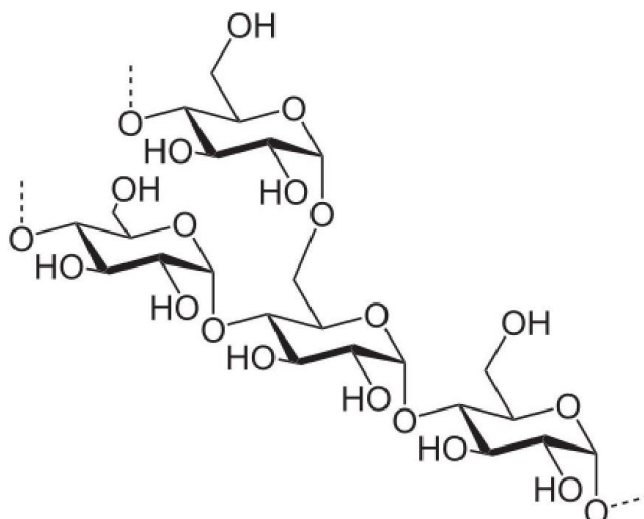
Slika 6 Kemijska struktura molekule amiloze (Web 8)

Postoje mjesta grananja, ali su vrlo rijetka, tako da amiloza zadržava svojstva ravnolančanog polimera i uvija se u strukturu dvostruke uzvojnice (BeMiller i Whistler, 1996.).

Udio amiloze u škrobu najčešće je od 20 do 30%, no postoje škrobovi koji sadrže manje od 15% amiloze (tzv. voštani škrobovi) ili više od 40% amiloze (tzv. visokoamilozni škrobovi) (Šubarić i sur. 2011.).

2.4.2. Amilopektin

Amilopektin je razgranati polimer u kojem su jedinice glukoze, osim α -1,4-vezama u strukturi ravnog lanca, vezane i α -1,6 glikozidnim vezama na mjestima grananja (**Slika 7**) (BeMiller i Whistler, 1996.). Obzirom na razgranatost molekule, amilopektin je topiv u vodi.



Slika 7 Kemijska struktura molekule amilopektina (Web 9)

2.4.3. Želatinizacija i retrogradacija škroba

Želatinizacija u najužem smislu je toplinski poremećaj kristalne strukture u nativnim škrobnim granulama, ali u širem smislu predstavlja bubrenje granula i ispiranje topivih polisaharida (Tester i Morrison, 1990.).

Želatinizacija započinje pri temperaturi od 45 °C. Zagrijavanjem suspenzije škroba dolazi do niza ireverzibilnih promjena poput otapanja granula, nastajanja gela, gubitka optičke aktivnosti te povećanja viskoznosti pri čemu nastaje pasta (Singh i sur, 2003.).

Hlađenjem želatiniziranog škroba dolazi do smanjenja energije sustava što rezultira retrogradacijom. Retrogradacija škroba može imati sljedeće učinke:

- porast viskoznosti,
- pojava mutnoće,
- taloženje netopljivih škrobnih dijelova,
- stvaranje gela,
- sinereza (izlučivanje vode iz paste),
- povećana čvrstoća proizvoda (pekarski proizvodi) i
- formiranje rezistentnog škroba (Pichler, 2011.).

2.4.4. Modificirani škrobovi

Iako nativni škrob ima značajnu primjenu u prehrambenoj industriji postoje određena ograničenja u primjeni koja su vezana prije svega za retrogradaciju i nestabilnost u kiselim uvjetima, što rezultira sinerezom i nestabilnom teksturom kao i problemi vezani za želatinizaciju, termičku degradaciju, viskoznost i dr. Da bi se poboljšala ili postigla određena specifična funkcionalna svojstva škroba provode se različiti postupci modifikacije. Tako se tretiranjem škroba različitim kemijskim, fizikalnim, enzimskim ili kombinacijom navedenih postupaka proizvode modificirani škrobovi različitih funkcionalnih svojstava. Izraz "modificirani škrob" odnosi se na škrob koji sadrži izmijenjenu kemijsku strukturu nekih D-glukoznih jedinica u molekuli.

U istraživanju su korištena dva modificirana škroba:

- hidroksipropilirani škrob tapioke (HPŠ) komercijalnog naziva Textra te
- hidroksipropil di-škrob fosfat voštanog kukuruza (HPDŠF) komercijalnog naziva Frigex W.

HPŠ škrob pripada skupini supstituiranih škrobova koji se proizvode uvođenjem funkcionalnih skupina (npr. hidroksipropilne) u škrobnu makromolekulu. Svojstva ovog škroba najviše ovise o vrsti škroba koji se modificira i stupnju supstitucije (SS). SS se izražava količina supstituiranih hidroksilnih skupina unutar škroba. Maksimalni mogući SS je 3.0, kada su sve tri hidroksilne skupine na svakoj molekuli glukoze supstituirani. Karakteristična fizikalno-kemijska svojstva škrobnih estera su: niža temperatura želatinizacije, visoka topljivost te stabilnost prilikom kuhanja i skladištenja. Paste priređene od navedenih modificiranih škrobova manje su podložne retrogradaciji, a time i sinerezi te zamućenju pri niskim temperaturama. Škrobni esteri imaju široku primjenu u proizvodnji hrane, prije svega za postizanje odgovarajuće teksture i stabilnosti prehrambenih proizvoda.

HPDŠF pripada skupini dvostruko modificiranih škrobova koji se proizvode primjenom dva različita postupka modifikacije. U ovom slučaju najprije se provodi esterifikacija škroba sa propilen oksidom (uvođenje hidroksipropilne skupine), a zatim umrežavanje sa natrijevim tripolifosfatom ($\text{Na}_3(\text{PO}_3)_3$) (Pichler, 2011.).

2.5. TVARI AROME

Pod pojmom arome podrazumijeva se kombinirana percepcija okusa i mirisa. Tvari odgovorne za okus, uglavnom su nehlapive pri sobnoj temperaturi, nasuprot hlapivim tvarima koje daju miris (Papić , 2007.).

Biosinteza arome voća je vrlo kompleksan proces zbog velikog broja različitih spojeva arome. 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 koncentracijama i različitim međusobnim odnosima, ukazujući na kompleksnost sastava arome. Kemijski gledano, aroma voća rezultat je prisutnosti 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 (Dragović-Uzelac i Levaj, 2013.)

2.5.1. Nositelji arome u voću

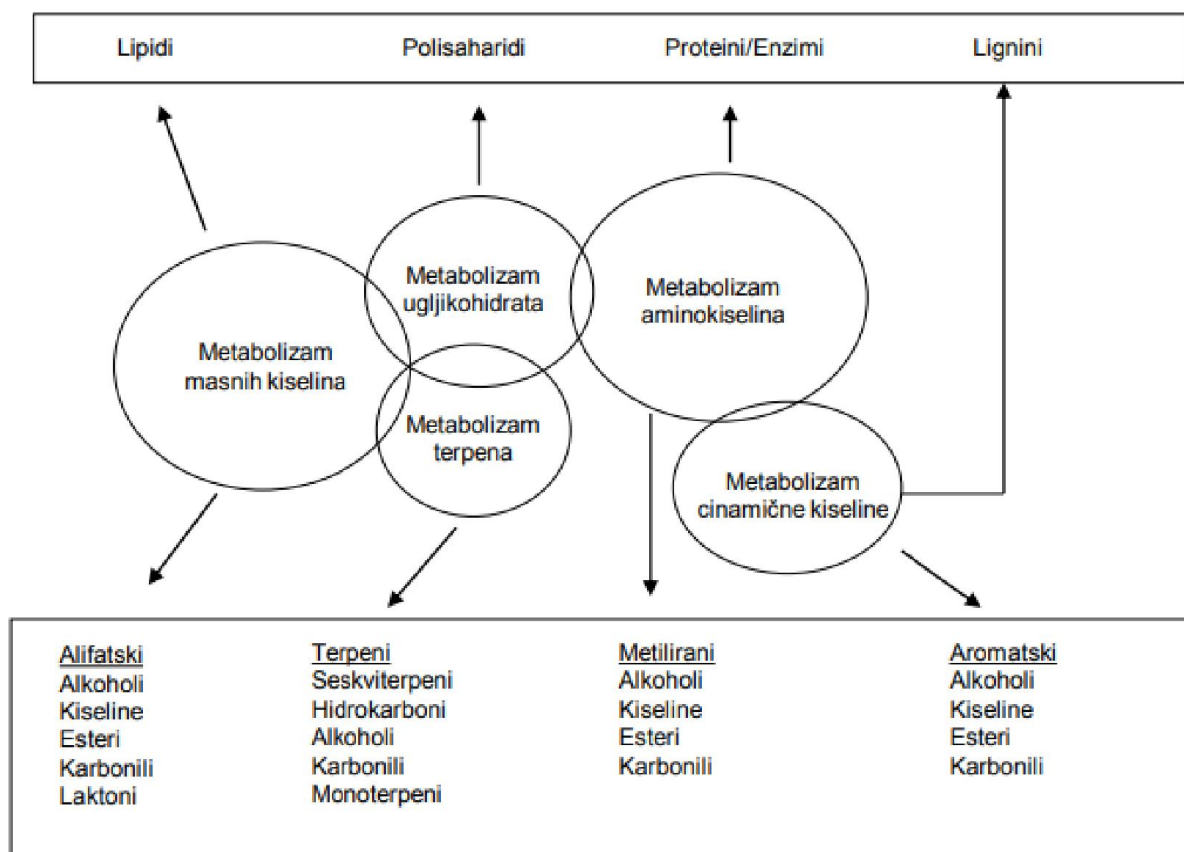
Do danas su istraženi mnogispojivi koje pridonose aromi voća, no ne može se sa sigurnošću utvrditi koji je od navedenih sastojaka nositelj pojedine arome (Weneen i Tjan, 1994).

Pinkle (2016.) navodi da aromu u voću mogu dati male molekule poput aldehida i ketona, te velike molekule poput šećera i kiselina. Općenito aromatične tvari u voću podložne su isparavanju i sublimaciji te se najčešće izdvajaju procesom uparavanja.

2.5.2. Biosinteza aromatskih spojeva u voću

Prirodne arome najčešće su sekundarni metaboliti živog tkiva, koje nastaju tijekom prirodnog ciklusa rasta živog organizma u složenim procesima biosinteze i akumuliraju se u voću, povrću, cvijeću, začinskom i aromatskom bilju (Papić , 2007.).

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.).Kopjar (2018.) navodi da aromatske tvari nastaju iz glavnih sastojaka biljaka kao direktni produkti metaboličkih putova ili kao rezultat interakcija krajnjih produkata. Cijeli prikaz razvoja arome dan je na **Slici 9**.



Slika 8 Razvoj arome (Kopjar, 2018)

2.5.3. Promjena aromatičnih sastojaka tijekom procesa prerade

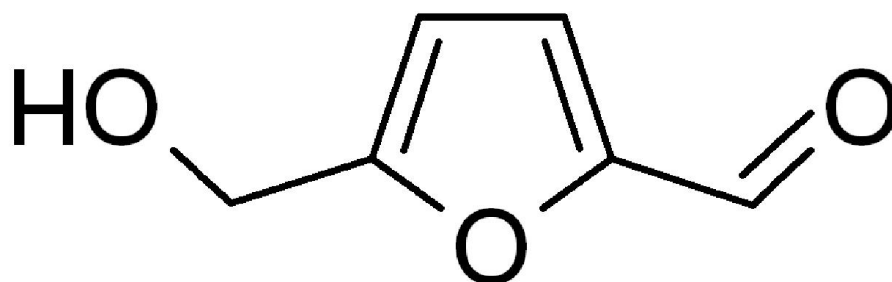
Prilikom procesa u preradi voća dolazi do raznih reakcija i promjena vezanih uz prekid rasta, dovoda hranjivih tvari i vode, izlaganja kisiku, visokim i niskim temperaturama te aktivacije proteolitičkih enzima. Prilikom branja ploda, plodu je uskraćen prirodan dovod vode i hranjivih tvari te se zaustavlja rast i započinje razgradnja ploda. Usitnjavanjem namirnice istu izlažemo kisiku te dolazi do oksidacije brojnih tvari što dovodi do promjene okusa i mirisa kao i njihovog intenziteta, dok izlaganjem namirnice visokim temperaturama potičemo Maillardove reakcije. Navedene promjene se također odražavaju i na ostale odlike proizvoda obzirom da iste utječu na molekule zaslužne za boju i strukturu ploda. Prilikom obrade bitno je poznavati proizvod kako bi se izabrao optimalan proces prerade u svrhu što boljeg zadržavanja poželjnih svojstava proizvoda.

Prilikom prerade voća bitno je napomenuti da se škrob i njegovi derivati osim kao aditivi primjenjuju kao nosači arome. Interakcije škrob - aroma vrlo su korisne za poboljšanje

zadržavanja arome u proizvodima, ali i razvoj nosača za enkapsulaciju arome (Boutboul i sur, 2002.).

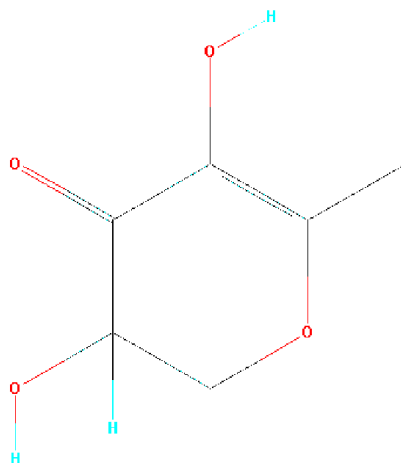
2.5.4. Aroma kupine

Analizom pet sorti kupina, Turemis i suradnici (2003.) navode da su furani najzastupljeniji aromatski spojevi u sastavu kupine te da 5-hidroksimetilfurfural (**Slika 10**) daje najveći doprinos aromi kupine, zauzimajući ovisno o sorti 79,7-96,1% udjela u ukupnom aromatskom profilu.



Slika 9 Kemijska struktura molekule 5-hidroksimetilfurfurala (Web 10)

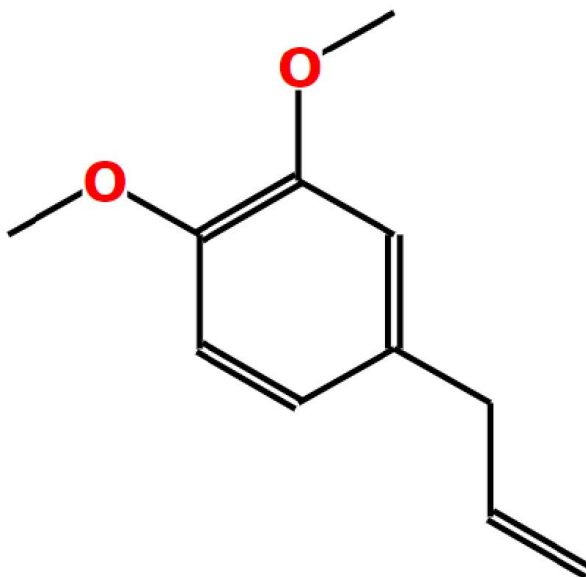
Prema istom istraživanju drugi glavni spoj bio je 3,5-dihidroksi-6-metil-2,3-dihidropiran-4-on, u rasponu između 5,7-9,8%. Kemijska struktura molekule 3,5-dihidroksi-6-metil-2,3-dihidropiran-4-ona vidljiva je na **Slici 11**.



Slika 10 Kemijska struktura molekule 3,5-dihidroksi-6-metil-2,3-dihidropiran-4-ona (Web 11)

Podaci ovih istraživanja također pokazuju genetsku varijabilnost arome među sortama.

Prilikom analize tvari okusa kupine izvedenog na uzorku kupine sorte ThornlessEvergreen Georgilopoulosoi sur. (1987.) identificirali su 23 tvari, od kojih se smatra da samo 3,4-dimetoksialilbenzen (**Slika 12**) doprinosi karakterističnom okusu kupina.



Slika 11 Kemijska struktura molekule 3,4-dimetoksialilbenzena (Web 12)

Obzirom na prije navedene varijacije aromatskih profila ovisnih o području uzgoja kao i uzgajanoj sorti vidljivo je kako je aroma kupine zapravo aromatski kompleks.

2.6. ODREĐIVANJE SASTOJAKA AROME

Obzirom na hlapivu prirodu većine spojeva koji pridonose aromi, prilikom određivanja sastojaka najčešće se koristi plinska kromatografija i spektrofotometrija masa.

2.6.1. Kromatografija i spektrometrija masa

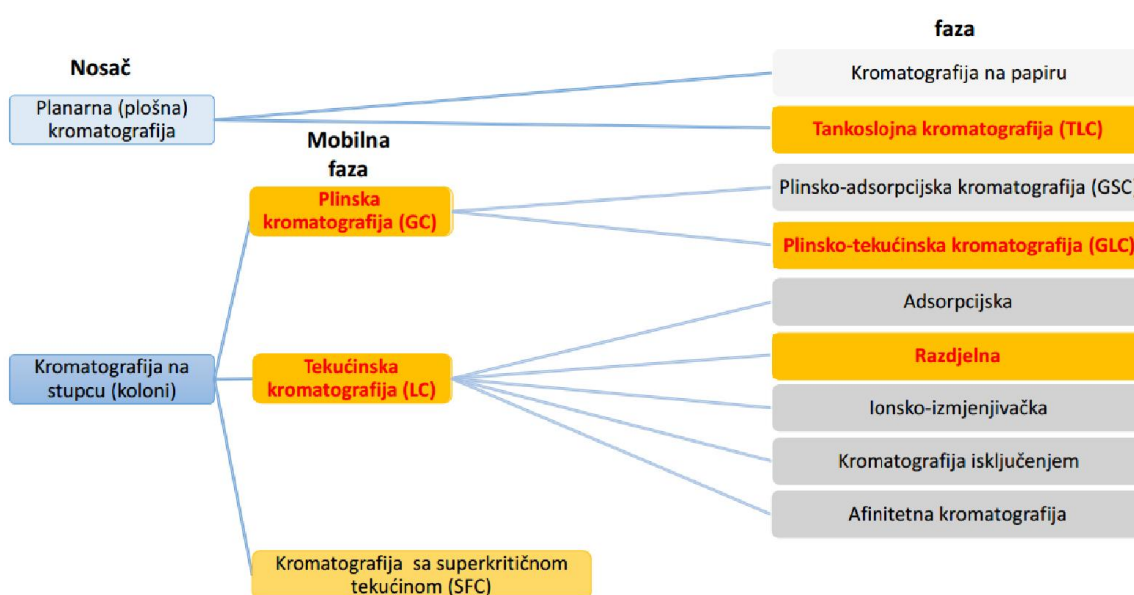
Kromatografija je fizikalna metoda separacije u kojoj se sastojci smjese raspodjeljuju između dviju faza, od kojih je jedna uvijek stacionarna, a druga pokretna (mobilna) u određenom smjeru (Cerjan-Stefanović i sur., 1999.).

Zbog specifične interakcije različitih spojeva s nepokretnom i pokretnom fazom, različiti spojevi putuju različitim brzinama i tako se odjeljuju. Sam proces odjeljivanja se zasniva na sljedećim načelima: adsorpciji, razdjeljenju, difuziji, ionskoj izmjeni, kiralnosti i dr. (Luterotti, 2009).

Kromatografija se koristi u svrhu:

- analize komponenta složenih uzoraka te proučavanja njihovih interakcija;
- identifikacije ili određivanja komponenta baziranih na poznatim sastojcima;
- pročišćavanja odnosno izdvajanja određenih komponenta u svrhu izoliranja onih koji su potrebni za daljnja istraživanja;
- određivanja udjela (kvantifikacije) pri čemu se određuje koncentracija i udjeli pojedinih komponenti u uzorku (Rako, 2010.).

Podjela kromatografije vidljiva je na **Slici 13**.



Slika 12 Podjela kromatografije (Mandić, 2018.)

Plinska kromatografija (GC) instrumentalna je separacijska tehnika i vjerojatno je najspretnija za separaciju organskih spojeva, smjesa i čistih tvari (Skoog i sur, 1999.). U plinskoj kromatografiji mobilna faza je u plinovitom stanju, dok je stacionarna faza kruti adsorbens ili tekućina nanosena na kruti nosač.

Razdjeljivanje komponenti bazirano je na različitoj brzini prolaska tvari kroz stacionarnu fazu.

Plinska kromatografija započinje unosom uzorka na početak kolone. Ukoliko je uzorak u tekućem stanju, na početku kolone dolazi do potpunog isparavanja bez raspadanja. Uzorke koji se nalaze u čvrstom stanju prethodno je potrebno otopiti. Prolaskom kroz kolonu, smjesa se razdjeljuje između nepokretne faze i struje plina nositelja (pokretna faza). Plin nositelj eluira 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.).

Uređaj u kom se vrši proces kromatografiranja naziva se plinski kromatograf a izgrađen je od nekoliko osnovnih dijelova (**Slika 14**):

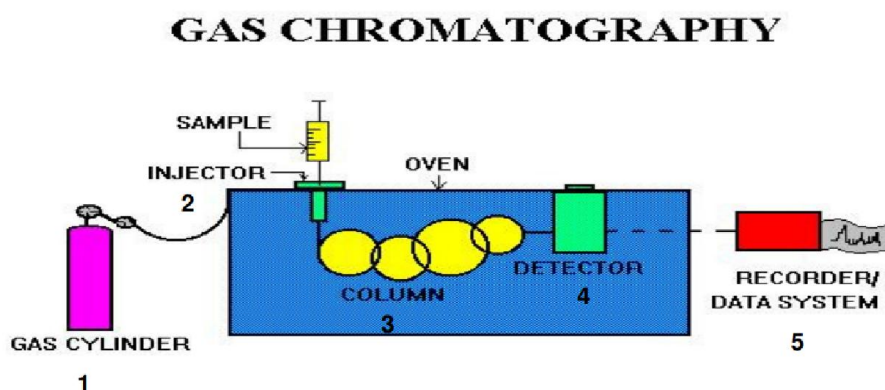
Izvor stalne struje plina nosioca – boca ili generator (1);

Uređaj za unošenje uzorka (injektor) (2);

Kromatografska kolona smještena u termostatiranom prostoru (peći) (3);

Uređaj za registriranje izeluiranog sastojka u struji plina nosioca kao funkcije vremena (detektor) (4);

Pisač – Integrator – Računalo (5)(Primorac., 2005.)



Slika 13 Shematski prikaz kromatografa (Primorac, 2005.)

2.6.1.1 Injektor

Injektori su uređaji koji u kromatografiji služe za unos uzorka u kromatografsku kolonu. Kod plinske kromatografije, injektor mora biti na temperaturi višoj od temperature kolone kako bi se omogućilo isparavanje uzorka i njegov prolazak kroz kolonu.

Pichler (2011.) navodi kako je plinovite uzorke najbolje unositi u kolonu dozirnim ventilima.

2.6.1.2 Plin nositelj

Svi kemijski inertni plinovi mogu se koristiti kao plin nositelj, međutim najviše se koriste vodik (H_2), dušik (N_2), helij (He) i argon (Ar)(Pichler, 2011.)

Plin nositelj mora odgovarati određenim uvjetima kao što su:

- inertnost – ne smije reagirati sa tvarima stacionarne faze, kao ni uzorka;
- čistoća – ne smije biti kontaminiran kako ne bi utjecao na rezultate ili oštetio uređaj;
- efikasnost;
- brzina;
- cijena – potrebno je obratiti pažnju na ekonomsku isplativost i
- sigurnost – vodik je vrlo eksplozivan.

2.6.1.3 Kromatografske kolone

Kromatografska kolona je osnova kromatografije, smještena je u kromatograf, a sastoji se od cijevi unutar koje se nalazi nepokretna faza. Kolone se dijele na:

- Preparativne – duge i do nekoliko metara, služe za pročišćavanje uzorka;
- Analitičke:
 - Punjene – ispunjavaju se sitnozrnatom punilom, ili čvrstim nosačem na koji se nanosi stacionarna faza;
 - Mikropunjene - unutarnja stjenka kolone prevučena je tankim slojem stacionarne faze i
 - Kapilarne - unutarnja stjenka prevučena je tankim slojem čestica nosača na koji se nanosi stacionarna faza.

Za potrebe istraživanja korištena je kapilarna Kolona proizvođača Agilent, HP5 dimenzija 60 m x 0,25 mm x 0,25 μ m.

2.6.1.4 Detektori

Bitno je da detektor ima visoku osjetljivost, brz odziv te da je neosjetljiv na promjenu vrste otapala, protoka i temperature, da se može podesiti i optimizirati za različite spojeve te da je pouzdan i jednostavan za rukovanje (Aljinović, 2015).

Detektori u plinskoj kromatografiji obzirom na selektivnost mogu biti:

- univerzalni – daju odziv za svaki sastojak u eluatu osim za čistu mobilnu fazu o detektor toplinske vodljivosti (TCD);

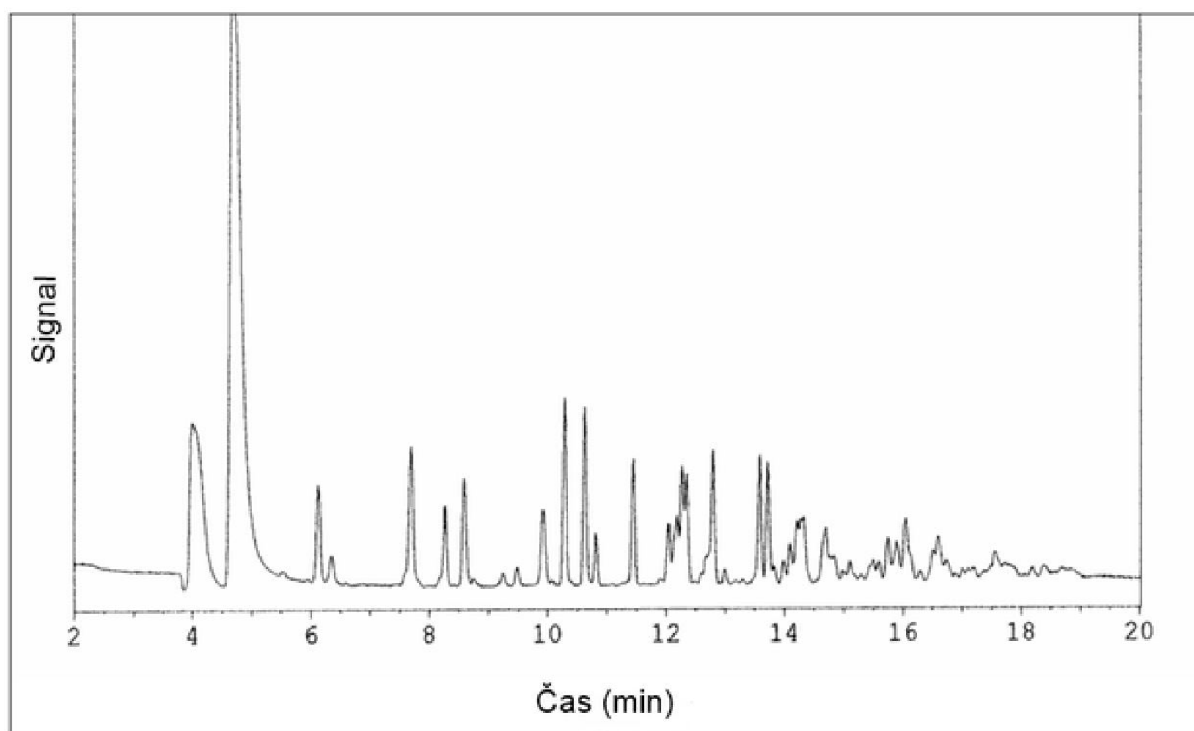
- selektivni – daju odziv samo na određene grupe komponenata u eluatu, plameno-ionizacijski detektor (FID), alkalijski plameno-ionizacijski detektor (AFID) o detektor zahvata elektrona (ECD) o fotoionizacijski detektor (PID), plameno fotometrijski detektor (FPD), detektor elektrolitičke vodljivosti (ELCD)(Primorac, 2005.).

2.6.1.5 Temperatura

Temperatura je bitan faktor za uspješnost kromatografije. Moslavac(2003.) navodi kako je prihvatljivo vrijeme eluiranja 2-30 minuta i postiže se pri temperaturi jednakoj prosječnom vrelištu uzorka, a povišenje temperature ubrzava eluiranje.

2.6.1.6 Kromatogram

Kromatogram je grafički prikaz rezultata kromatografije kao funkcija vremena i odaziva detektora, čiji je primjer vidljiv na **Slici 15**.



Slika 14Kromatogram (Web 13)

Tvari se identificiraju prema pikovima vidljivim na kromatografu, dok se njihova koncentracija izračunava iz površine ispod odgovarajućeg pika.

2.6.1.7. Masena spektrometrija je instrumentalna metoda određivanja sastavnih tvari uzorka. Metoda se bazira na ionizaciji tvari te njihovog razdvajanja djelovanjem magnetskog

ili električnog polja. Tvari se identificiraju preko mase i količine. Ionizacija uzorka se provodi snopom elektorna gdje dolazi do kidanja kemijskih veza i odjeljivanje tvari na specifične fragmente.

Za provedbu ove metode potreban je vakum kako bi se spriječilo sudaranje iona i potencijalne reakcije koje bi negativno utjecale na rezultate analize.

Detektor reagira na masu i naboj tvari te se prema njima formira dijagram nazvan spekar masa iz kojega se prema intenzitetu signala može odrediti vrsta i količina tvari.

2.6.2. SPME analiza

SPME je metoda uzorkovanja mikroekstrakcijom analiza na čvrstoj fazi, a koristi se na plinskim i tekućim uzorcima. Sastoji se od faze apsorpcije tvari iz uzorka i desorpcije istih u kromatografu.

Čimbenici koji utječu na ekstrakciju su tip uzorka, vrijeme ekstrakcije, ionska jakost, pH uzorka, temperatura ekstrakcije i mućkanje, dok na desorpciju utječu temperatura i vrijeme desorpcije (Pichler ., 2011.).

Aparatura za SPME uzorkovanje sastoji se od SPME igitale sa polimernom stacionarnom fazom i kućišta. Stacionarna faza se tijekom ekstrakcije postavlja u nadprostor uzorka, kako bi adsorbirala aromatične tvari koje su isparile iz uzorka. Nakon uspješne ekstrakcije, stacionarna faza se prenosi u kromatograf kako bi se izvršila desorpcija ispitivanih tvari i nastavila kromatografska analiza.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Istražiti pripravu 9 različitih kaša od kupine s dodatkom kombinacija šećera saharoze, fruktoze ili trehaloze te modificiranih škrobova kukuruza i tapioke prema unaprijed određenoj recepturi sa termičkom obradom do suhe tvari od 35 %.

3.2. MATERIJAL I METODE

3.2.1. Priprema kaša od kupine

Za pripremu kaša od kupine upotrijebljene su kupine sorte Hull Thornless, uzgojene napodručju općine Osijek čuvane u zamrznutom stanju na temperaturi -20°C prije upotrebe. Svježe kupine su prvo probrane, oprane i potom pasirane. U istraživačkom laboratoriju sirovine (kupine, šećeri, hidrokoloidi) za pripremu kaša od kupine bile su pomiješane prema sljedećoj recepturi:

- kupine i 27 % saharoze (S),
- kupine i 27 % fruktoze (F),
- kupine i trehaloze (T),
- kupine, 27 % saharoze i 1 % hidroksipropiliranog škroba tapioke (S+MŠT),
- kupine, 27 % saharoze i 1 % hidroksipropil di-škrob fosfata voštanog kukuruza (S+MŠVK),
- kupine, 27 % fruktoze i 1% hidroksipropiliranog škroba tapioke (F+MŠT),
- kupine, 27 % fruktoze i 1 % hidroksipropil di-škrob fosfata voštanog kukuruza (F+MŠVK),
- kupine, 27 % trehaloze i 1% hidroksipropiliranog škroba tapioke (T+MŠT),
- kupine, 27 % trehaloze i 1 % hidroksipropil di-škrob fosfata voštanog kukuruza (T+MŠVK),

Tako dobivene smjese sirovina korištene su za pripremu kaša od kupine termičkom obradom. Smjesa je zagrijavana 15 minuta na 80 °C uz konstantno miješanje. Nakon toga je još vruća kaša punjena u sterilne bočice od 0,2 l, zatvarana i pasterizirana u vodenoj kupelji

na 85 °C, 15 minuta. Radi usporedbe sa pripravljenim kašama, aromatični sastojci ispitivani su u svježoj kupini (SK) i pasteriziranoj (PK) kaši od kupine.

Dodaci:

- Saharoza
- Fruktaza, M = 180,16 g/mol – Merck (Njemačka).
- Trehaloza, M = 342,3 g/mol – Merck (Njemačka).
- Hidroksipropilirani škrob tapioke, udio vode 15 % - National Starch & CHEMICAL (VELIKA BRITANIJA).
- Hidroksipropil di-škrob fosfat voštanog kukuruza, udio vode 15 % - National Starch & CHEMICAL (VELIKA BRITANIJA).

3.2.2. Analiza spojeva aromekupine

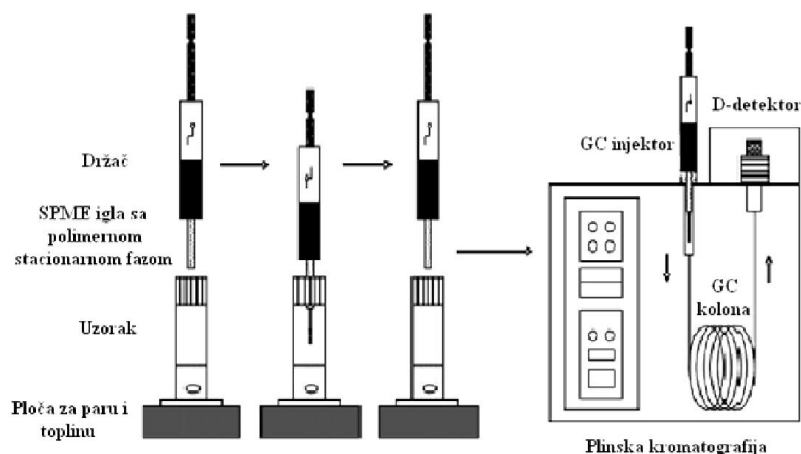
Priprema uzorka za analizu:

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 uzorka korišteno punilo od polidimetilsiloksana (polimerna stacionarna faza) debljine 100 µm.

Postupak:

U bočicu od 10 ml odvaže se 5 g uzorka paste kupine. 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 16**).

Određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka paste kupine provedeno je primjenom instrumentalne plinske kromatografije. U radu je korišten plinski kromatograf tvrtke Agilent 5890 B s masenim-selektivnim detektorom Agilent 5977 A.



Slika 15 Korištenje SPME metode za uzorkovanje i analizu

Uvjeti rada plinskog kromatografa

Parametri ekstrakcije:

Temperatura ekstrakcije: 40°C,

Vrijeme ekstrakcije: 45 min,

Tip mikroekstrakcije igle: 100 µm PDMS (Supelco).

GC – MS analitički uvjeti:

Kolona: HP5; 60 m x 0,25 mm x 0,25 µm (Agilent),

Početna temperatura: 40°C (3 min),

Temperaturni gradijent: 8°C/ min,

Plin nosač: helij (čistoće 5,0) s protokom 1 mL/ min pri 40°C,

Konačna temperatura: 220°C,

Temperatura injektora: 250°C,

Temperatura detektora: 280°C,

Desorpcija uzorka u injektor: 7 min.

U izradi kromatografske analize korišten je splitless mod.

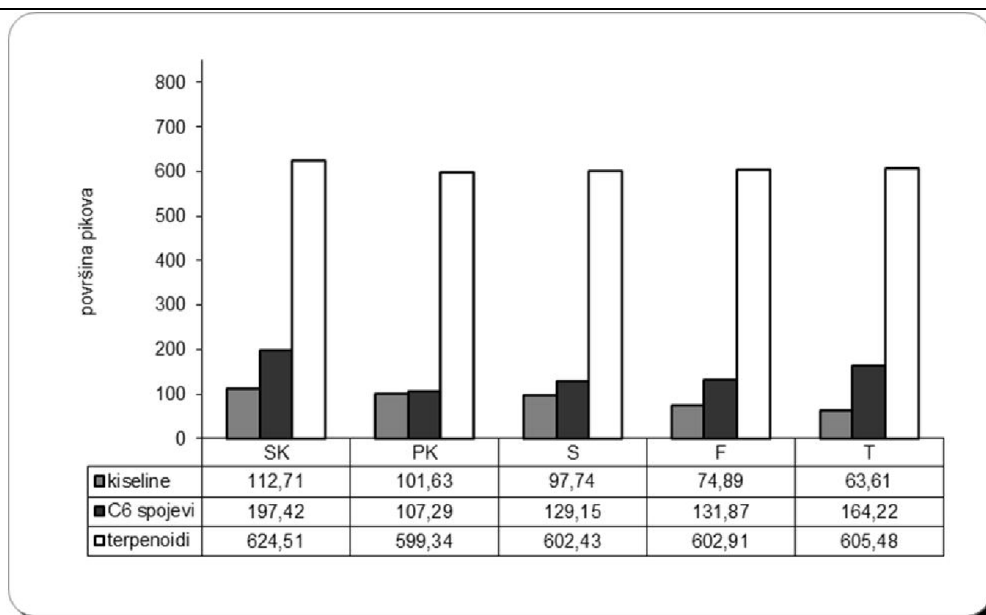
4. REZULTATI

Tablica 2 Aromatični sastojci identificirani u kašama kupine

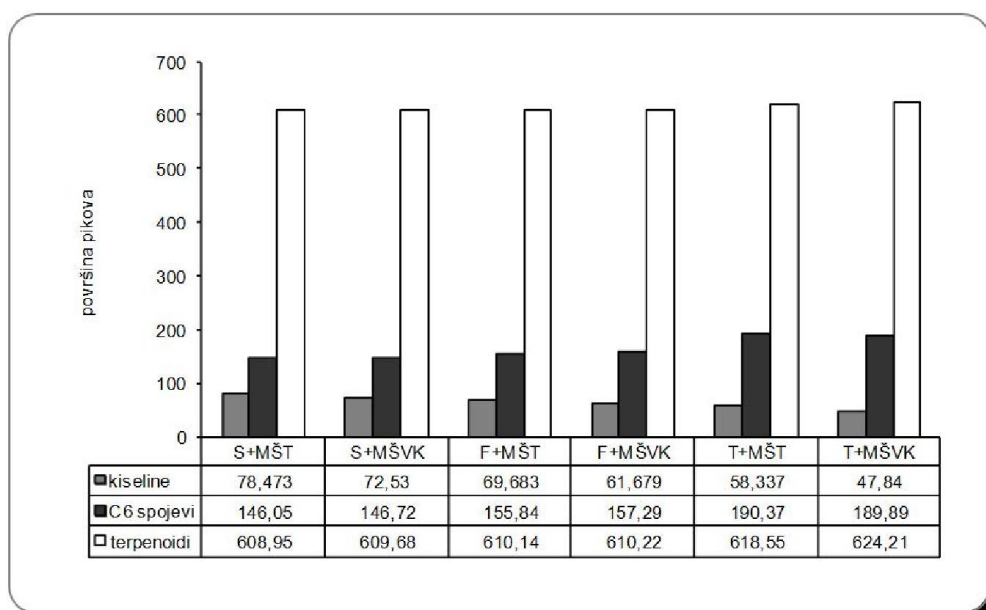
Sastojak	RI (retencijski indeks)
Norizoprenoidi	
Teaspiran A	1055
Teaspiran B	1084
b-damascenon	1223
α -jonon	1249
β -jonon	1312
Laktoni	
γ -dekalakton	1367
δ -dekalakton	1412
γ -undekalakton	1456
Kiseline	
Maslačna kiselina	1153
Heksanska kiselina	1261
Oktanska kiselina	1422
Ostali	
2-heptanon	925
Furaneol	1408
Eugenol	1493
Izoeugenol	1618

Tablica 3 Aromatični sastojci identificirani u kašama kupine

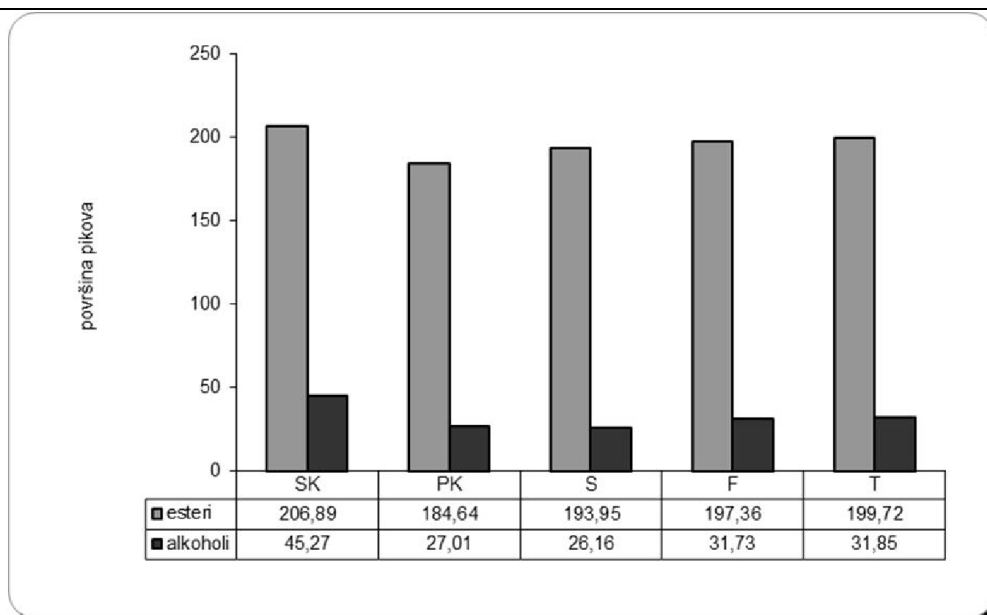
Sastojak	RI (retencijski indeks)
Esteri	
Metil butanoat	725
Etil butanoat	796
Butil acetat	832
Izoamil acetat	917
Metil heksanoat	929
C6 spojevi	
Heksanal	794
<i>trans</i> -2-heksenal	847
heptanal	900
Dekanal	1208
Terpenoidi	
<i>cis</i> - linalool oksid	1037
<i>trans</i> - linalool oksid	1053
Linalool	1104
4-Terpineol	1132
β -terpineol	1149
α -terpineol	1207
Nerol	1232
Karvon	1247
Geraniol	1258
Alkoholi	
2-heptanol	898
Benzil alkohol	1276
Feniletil alkohol	1302



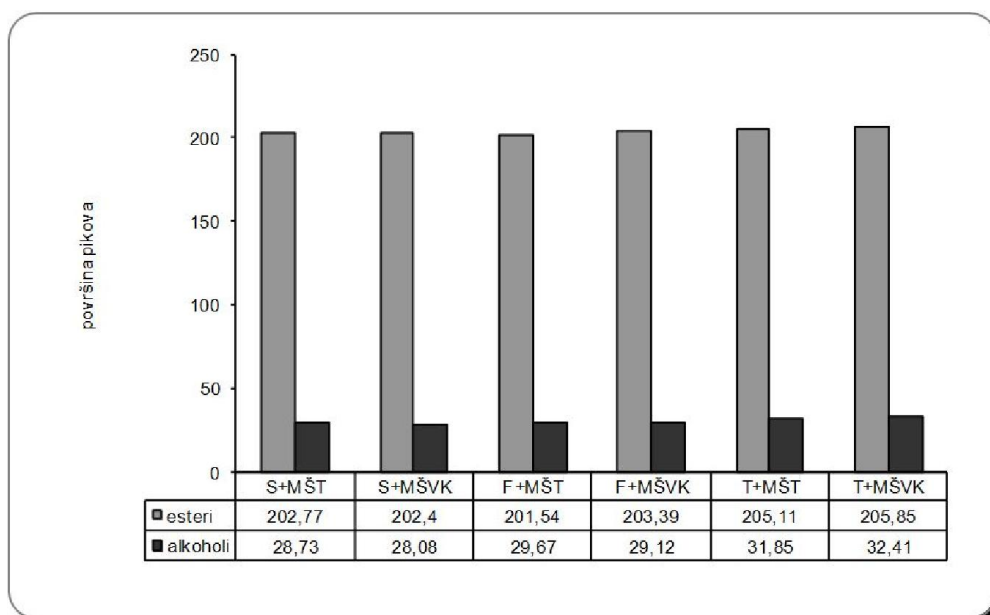
Slika 16 Zadržavanje kiselina, C6 spojeva i terpenoida u svežoj i pasteuriziranoj kaši kupine te kašama kupine s dodatkom šećera S, F i T



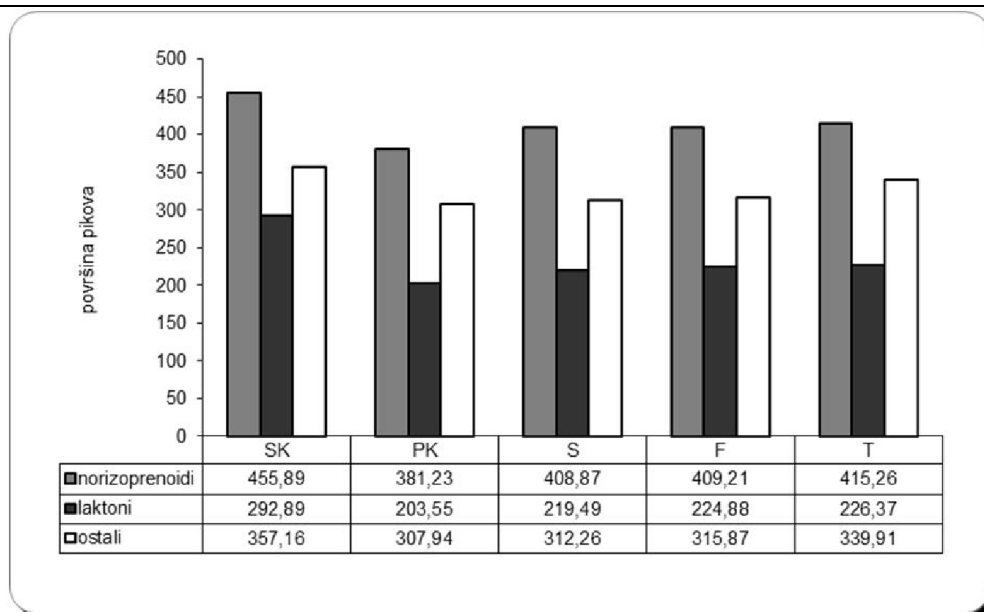
Slika 17 Zadržavanje kiselina, C6 spojeva i terpenoida u kašama kupine s dodatkom šećera S, F, T i modificiranih škrobova MŠT i MŠVK



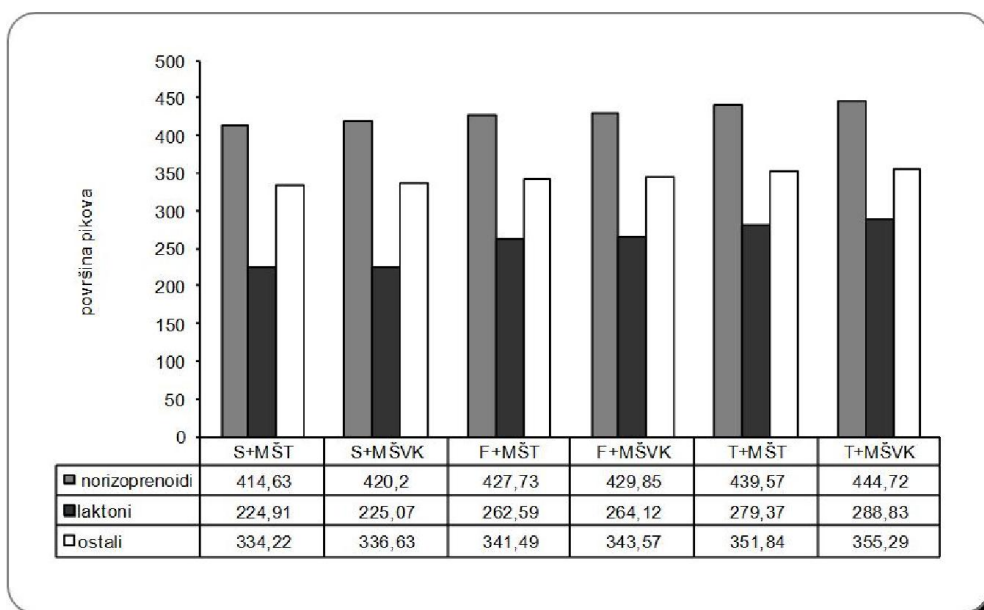
Slika 18 Zadržavanje estera i alkohola u svježoj i pasteuriziranoj kaši kupine te kašama kupine s dodatkom šećera S, F i T



Slika 19 Zadržavanje estera i alkohola u kašama kupine s dodatkom šećera S, F, T i modificiranih škrobova MŠT i MŠVK



Slika 20 Zadržavanje norizoprenoida, laktona i ostalih spojeva u svježoj i pasteuriziranoj kaši kupine te kašama kupine s dodatkom šećera S, F i T



Slika 21 Zadržavanje norizoprenoida, laktona i ostalih spojeva u kašamaa kupine s dodatkom šećera S, F, T i modificiranih škrobova MŠT i MŠVK

5. RASPRAVA

Rezultati istraživanja dodataka šećera (saharoze, S; fruktoze, F; i trehaloze, T) i modificiranih škrobova (hidroksipropilirani škrob tapioke (MŠT) i hidroksipropil di-škrob fosfat voštanog kukuruza (MŠVK) na zadržavanje pojedinih aromatičnih sastojaka različitih kaša od kupine su prikazani u **Tablicama 2-3** i na **Slikama 16-21**. Kao što se može vidjeti u **Tablicama 2-3** u kašama kupine identificirano je trideset i šest aromatičnih sastojaka. Radi boljeg prikaza i uočavanja razlika u zadržavanju pojedinih identificiranih aromatičnih sastojaka, sastojci su podijeljeni u osam skupina. To su esteri, C6 spojevi, terpenoidi, alkoholi, norizoprenoidi, laktoni, kiseline i ostali spojevi. Najveći dio svih aromatičnih sastojaka prisutan je u svježoj kaši kupine, dok je u pasteriziranoj kaši kao i pripremljenim kašama sa dodacima došlo do većih ili manjih gubitaka aromatičnih sastojaka.

Norizoprenoidi

U **Tablici 2** vidljivo je da su u kašama kupine identificirani sljedeći norizoprenoidi: teaspiran A, teaspiran B, β -damascenon, α -jonon, β -jonon. **Slika 20** pokazuje da pasterizacija kao i dodatak bilo kojeg šećera ne utječe pozitivno na zadržavanje norizoprenoida. U kašama kupine s dodatkom šećera i modificiranih škrobova, najmanji utjecaj na zadržavanje norizoprenoida ima saharoza s bilo kojim modificiranim škrobom. Najveći utjecaj na zadržavanje navedenih spojeva ima T+MŠVK (**Slika 21**).

Laktoni

Iz skupine C6 laktona u radu je ispitivan utjecaj na γ -dekalakton, δ -dekalakton, γ -undekalakton (**Tablica 2**). Navedeni sastojci zadržani su u svim kašama kupine. Laktoni su ciklički esteri koji kao aromatične tvari nastaju u kupini tijekom dozrijevanja. Onisu u približno istom sadržaju zadržani u kašama kupine sa dodatkom šećera (S, F i T) (**Slika 20**). Dodatak bilo kojeg dodanog šećera nije doprinio njihovom većem zadržavanju u odnosu na pasteriziranu kašu kupine. Smjesa šećera i modificiranih škrobova također je utjecala na zadržavanje laktona. Najmanje zadržavanje je uočeno kod dodatka saharoze i MŠT, a najveće kod dodatka T i MŠVK. (**Slika 21**).

Kiseline

U **Tablici 2** može se vidjeti da su u kašama kupine identificirane maslačna, heksanska, oktanska kiselina. Maslačna kiselina u relativno visokim udjelima snažno pridonosi osjećaju užeglosti, no u niskim udjelima pridonosi tipičnom okusu sira i maslaca. 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 ostalim kašama. **Slika 16** pokazuje da pasterizacija kao i dodatak bilo kojeg šećera utječe na smanjenje sadržaja kiselina. Na dodatno smanjenje sadržaja kiselina utjecale su smjese šećera (S, F, T) i modificiranih škrobova (**Slika 17**). Općenito, sadržaj kiselina u svim kašama je značajno manji u odnosu na svježu kašu kupine. U kašama kupine s dodatkom šećera i modificiranih škrobova, najmanji utjecaj na smanjenje sadržaja kiselina ima saharoza s bilo kojim modificiranim škrobom. Smjese (F+MŠT i F+MŠVK) kao i T+MŠV imaju nešto veći utjecaj na smanjenje sadržaja kiselina, dok najveći utjecaj ima T+MŠVK (**Slika 17**). Najveći dio svih aromatičnih sastojaka prisutan je u svježoj kaši kupine, dok je u pasteriziranoj kaši kao i u pripremljenim kašama s dodacima došlo do većih ili manjih gubitaka aromatičnih sastojaka.

Ostali spojevi

Iz skupine ostalih spojeva u radu je ispitan utjecaj na 2-heptanon, furaneol, eugenol i izoeugenol (**Tablica 2**). Navedeni sastojci zadržani su u svim kašama kupine. Ostali spojevi zadržani su u najvećoj količini u kaši kupine s dodatkom šećera T, u odnosu na dodatak ostalih šećera (S, F) (**Slika 20**). Smjesa šećera i modificiranih škrobova također je utjecala na zadržavanje ostalih spojeva. Najmanje zadržavanje uočeno je kod dodatka saharoze i MŠT, a najveće kod dodatka T i MŠVK. (**Slika 21**).

Esteri

U **Tablici 3** vidljivo je da su u kašama kupine identificirani sljedeći esteri: metil butanoat, etil butanoat, butil acetat, izoamil acetat, metil heksanoat. **Slika 18** pokazuje da pasterizacija kao i dodatak bilo kojeg šećera ne utječe pozitivno na zadržavanje estera. U kašama kupine s dodatkom šećera i modificiranih škrobova, najmanji utjecaj na zadržavanje estera ima fruktoza s dodatkom modificiranog škroba MŠT. Najveći utjecaj na zadržavanje navedenih spojeva ima T+MŠVK (**Slika 19**).

C6 spojevi

Iz skupine C6 spojeva u radu je ispitan utjecaj na heksanal, trans-2-heksanal, heptanal i dekanal. Navedeni sastojci zadržani su u svim kašama kupine. U literaturi se često svježa, 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 svježe voće (Douillard i Guichard, 1990; Schieberle, 1994; Ibanez i sur., 1998.). Karbonilni sastojci su u približno istom sadržaju zadržani u kašama kupine s dodatkom šećera (S, F i T) (**Slika 20**). Dodatak bilo kojeg dodanog šećera nije doprinio puno većem zadržavanju karbonilnih sastojaka u odnosu na pasteriziranu kašu kupine. Smjesa šećera i modificiranih škrobova također je utjecala na sadržaj karbonilnih sastojaka. Najmanje zadržavanje je uočeno kod dodatka saharoze i MŠT, a najveće kod dodatka T i MŠVK. Podjednak utjecaj na sadržaj karbonilnih sastojaka imao je dodatak saharoze i MŠVK, kao i F sa bilo kojim modificiranim škrobom (**Slika 21**).

Terpenoidi

Rezultati ranijih istraživanja istaknuli su terpenoide kao vrlo važnu skupinu aromatičnih sastojaka bobičastog voća (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 cis-linalool oksida, trans-linalool oksida, linaoola, 4-terpineola, α -terpineola, nerola, karvona i geraniola. Na **Slikama 16 i 17** prikazani su rezultati sadržaja odabranih terpenoida u uzorcima sa dodatkom šećera (pojedinačno i u smjesama) te šećera i modificiranih škrobova. Iz rezultata na **Slici 16** vidi se da dodatkom šećera u kašu kupine dolazi do povećanja sadržaja terpenoida u odnosu na pasteriziranu kašu kupine. Povećanje sadržaja terpenoida je podjednako dodatkom bilo kojeg šećera (S, F ili T).

Što se tiče dodatka šećera (S, F, T) i modificiranih škrobova (MŠT, MŠVK) na sadržaj terpenoida (**Slika 17**) vidi se da dodatkom modificiranih škrobova dolazi do povećanja sadržaja terpenoida u odnosu na uzorke sa dodatkom šećera. Najveći utjecaj na sadržaj terpenoida u kaši kupine imao je dodatak šećera T i MŠVK.

6. ZAKLJUČCI

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

- U kašama od kupine 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 trehaloze u kombinaciji sa dodatkom modificiranog škroba voštanog kukuruza.
- Na temelju rezultata istraživanja dobiven je dublji uvid u mehanizam djelovanja različitih smjesa šećera, posebice trehaloze te modificiranih škrobova kao dodataka koji omogućavaju bolje zadržavanje i očuvanje aromatičnih sastojaka tijekom pripreve kaše od kupine.
- 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.

7. LITERATURA

- Aljinović D: Fitokemijske karakteristike i primjena meda u farmakognoziji. Diplomski rad. Kemijsko tehnološki fakultet i Medicinski fakultet, Split, 2015.
- Babić J: Nastavni materijali. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2014.
- Barkijević M: Analiza sastava šećera HPLC metodom u uzorcima meda s područja Hrvatske. Diplomski rad. Agronomski fakultet, Zagreb 2017.
- Bassoli A, Merlini L: Sweetners , *Encyclopedia of food Science and Nutrition*, Academic press, Italija, 2003.
- BeMiller J N; Whistler R L: Carbohydrates: Food Chemistry. O. R. Fennema (ur.), Marcel Dekker, Inc. New York, 191-204, 1996.
- BeMiller, J. N.; Whistler, R. L.: Starch: Chemistry & Technology, 3rd Ed. Academic Press, SAD, Kanada, UK, 2009.
- Boutboul A, Lenfant F, Giampaoli P, Feigenbaum A, Ducruet V: Use of inverse gas chromatography to determine thermodynamic parameters of aroma- starch indicators. *Journal of Chromatography A* 969, str 9 - 16, 2002.
- Cerjan – Štefanović C, Drevenkar V, Jurišić B, Medić- Šarić M, Petrović M, Šegudović N, Švob V, Turina S: Kromatografsko nazivlje. HINUS i sekcija za kromatografiju HDKI, Zagreb, 1999.
- Denyer K, Johnson P, Zeeman S, Smith AM: The control of amylose synthesis, *Journal of Plant Physiology* 158:479-487, 2001.
- Dragović-Uzelac V, Levaj B: Nastavni materijali. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2013.
- Dujmović Purgar D, Šindrak Z, Voća S, Šnajder I, Vokurka A, Duralija B (2007). rasprostranjenost roda Rubus u Hrvatskoj. *Pomologica Croatica*. 13(2):105-114
- EFSA, European Food Safety Authority: European dietary reference values for nutrient intakes. EFSA, Brussels, 2010.
- Eliasson AC: Starch in Food. Woodhead Publishing Ltd., Sawston, 2004.
- FAO, Food and Agriculture Organisation of the United Nations. Food Energy – Methods of Analysis and Conversion Factors. Report of a Technical Workshop, FAO, Rim, 2002.

- Georgilopoulos DN, Gallois AN., Volatile flavour compounds in heated blackberry juices, Z Lebensm Unters Forsch. Vol 185, broj 4, 299-306.
- Hadelan, L: Višekriterijsko odlučivanje u poredbenoj analizi sustava proizvodnje kupine. Doktorski rad. Agronomski fakultet, Zagreb, 2010.
- Kaume L, Howard R L, Devareddy L: The Blackberry Fruit: A Review on Its Composition and Chemistry, Metabolism and Bioavailability, and Health Benefits. Journal of Agricultural and Food Chemistry 60: 5716 – 5727, 2012.
- Kopjar M: Aroma. Nastavni materijali. Prehrambeno - tehnološki fakultet, Osijek, 2014.
- Lovrić T, Piližota V: Poluproizvodi od voća i povrća, U Konzerviranje i prerada voća i povrća. Nakladni Zavod Globus, Zagreb:80–82, 1994.
- Luterotti S. (2009). Uvod u kemijsku analizu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb, 222-224
- Mandić D: Nastavni materijali. KBC Osijek, 2018.
- Mandić M, Nosić M: Funkcionalna svojstva prehrambenih dodataka. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2009.
- Mandić M: Dijetoterapija. Prehrambeno-tehnološki fakulte, Osijek, 2014.
- Mandić M: Znanost o prehrani: Hrana i prehrana u čuvanju zdravlja. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2007.
- Moslavac T: Koncentriranje modela otopina alkohola, estera i aldehida reverznom osmozom. Doktorski rad. Prehrambeno- tehnološki fakultet, Osijek, 2006.
- MPRH, Ministarstvo poljoprivrede RH: Pravilnik o voćnim sokovima i njima sličnim proizvodima namjenjenim za konzumaciju. Narodne novine 46/07, 2007.
- Niketić - Aleksić G: Tehnologija voća i povrća. Institut za prehrambenu tehnologiju i biokemiju, Beograd, 1982.
- O'Brien Nabors L: Alternative sweeteners, CRC Press, New York, 2014.
- Papić J, Biološki aktivne tvari prirodnih aroma, Hrvatski časopis za javno zdravstvo, Vol 3, Broj 10, 2007.

- 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, Osijek, 2011.
- Pinkle T: Utjecaj dodatka šećera i modificiranih škrobova na tvari boje i arome pasta od maline. Diplomski rad. Prehrambeno- tehnološki fakultet, Osijek, 2016.
- Primorac LJ: Nastavni materijali. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2005.
- Rako A: Kromatografske analitičke tehnike. Završni rad. Prehrambeno- biotehnološki fakultet, Zagreb, 2010.
- Skoog DA, West DM, Holler FJ: Osnove analitičke kemije. Školska Knjiga, Zagreb, 1999.
- Šubarić D, Babić J i Ačkar Đ: Modificiranje škroba radi proširenja primjene, *Radovi Zavoda za znanstveni i umjetnički rad u Požegi*, 1(2012), str. 247-258
- Tester RF, Morrison WR: Swelling and Gelatinization of Cereal Starches, I.: Effects of Amylopectin, Amylose, and Lipids. *Cereal Chem.* 67(6): 551-557, 1990.
- Trajković T, Mirić M, Baras J, Šiler S: Analiza životnih namirnica, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, 1983.
- Turemis N, Kafkas E, Kafkas S, Kurkcuoğlu M i Baser K.H.C.: Determination of aroma compounds in blackberry by gc/ms analysis, *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 39, No. 2, 2003.
- USDA, United States Department of Agriculture: National Resources Conservation Service, 2018. <http://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome>, [20.8.2018.]
- Velić, D: Razvoj i standardizacija proizvodnje ekoloških kupinovitih vina. Priručnik, VIP projekt, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2015.
- Vranić K: Svojstva trehaloze i njena primjena u prehrambenoj industriji, Diplomski rad, Agronomski i prehrambeno-tehnološki fakultet, Mostar, 2015.
- Web 1 <https://www.agroklub.com/sortna-lista/voce/kupina-12/>[20.8.2018.]
- Web 2 <https://hr.wikipedia.org/wiki/Kupina>[20.8.2018.]

Web 3. <https://sl.wikipedia.org/wiki/Saharoza>[4.9.2018.]

Web 4 <https://www.shtreber.com/monosaharidi>[4.9.2018.]

Web 5 <http://sweetadventure.rs/wp-content/uploads/2017/10/tablica-1.pdf>[8.9.2018.]

Web 6 <https://cs.wikipedia.org/wiki/Trehal%C3%B3za>[4.9.2018.]

Web 7 <https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/skrob> [13.9.2018.]

Web 8 <http://www.maturski.org/HEMIJA/Skrob2.html>[13.9.2018.]

Web 9 https://sh.wikipedia.org/wiki/Datoteka:Amylopektin_Sessel.svg[13.9.2018.]

Web 10 <http://www.wikiwand.com/sh/Hidroksimetilfurfural>[13.9.2018.]

Web 11 <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/image/fl.html?cid=119838>[13.9.2018.]

Web 12 <http://www.stenutz.eu/chem/solv6.php?name=3%2C4-dimethoxy-1-allylbenzene>[13.9.2018.]

Web 13 <https://petraratajc.com/2017/03/18/gcms/>[13.9.2018.]

Weneen H, Tjan S B: 3- Deoksyglucosone as flavour precursor. U Trend sin flavour precursors.

H. Maarse, D.G Van Der Heij (ur.), Elsevier Science B.V., str. 327-337,1994.

Wischmann B., Norsker M, Adler- Nissen J: Foodproduct development to evaluate starch as food ingridiant. Nahrung/Food 46,167-173, 2002.

Wu W L, Gu Y (1995) Blackberry introduction and cultivation. Hort. Abs. 65, 5