Utjecaj dodatka šećera i modificiranih škrobova na tvari boje i arome pasta od maline

Pinkle, Tijana

Master's thesis / Diplomski rad

2016

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:109:779317

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Tijana Pinkle

UTJECAJ DODATKA ŠEĆERA I MODIFICIRANIH ŠKROBOVA NA TVARI BOJE I AROME PASTA OD MALINE

DIPLOMSKI RAD

Osijek, srpanj, 2016.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

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

Diplomski sveučilišni studij prehrambenog inženjerstva

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Procesi u prehrambenoj industriji
Tema rada je prihvaćena na VII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2015./2016. održanoj 22. travnja 2016.
Mentor: doc. dr. sc. *Anita Pichler*

Utjecaj dodatka šećera i modificiranih škrobova na tvari boje i arome pasta od maline

Tijana Pinkle,278-DI

Sažetak: Pri preradi namirnica u prehrambenoj industriji velika se važnost pridaje poznavanju svojstava tvari boje i arome. Prehrambeni proizvodi na bazi maline dobiju se od kaše koja predstavlja poluproizvod u procesu prerade maline. Radi ocjenjivanja organoleptičkih svojstava gotovih proizvoda potrebno je poznavati svojstva tvari boje i arome kaše. Cilj ovog rada je istražiti utjecaj dodatka šećera i modificiranih škrobova na zadržavanje tvari boje i arome pasta od maline te određivanje boje i arome, odnosno promjene boje i arome odmah nakon priprave navedenih pasti. U tu svrhu pripravljene su paste od maline sa različitim udjelima šećera i modificiranih škrobova. Sadržaj antocijana, polifenola, antioksidativna aktivnost te udio aromatičnih sastojaka određen je u svježoj kaši maline, pasteriziranoj kaši maline te u pastama maline s dodatkom šećera i modificiranih škrobova. Rezultati su pokazali da dodatak modificiranih škrobova znakovito utječe na očuvanje boje te na zadržavanje spojeva arome u odnosu na paste maline samo sa dodatkom šećera. Dodatak trehaloze u kombinaciji sa modificiranim škrobovima pozitivno je djelovao na očuvanje boje, sadržaj antocijana, polifenola te na aromu pripremljenih uzoraka.

Ključne riječi: pasta od maline, šećeri, modificirani škrobovi, boja, aroma

Rad sadrži: 79 stranica
24 slike
10 tablica
0 priloga
84 literaturne reference

Jezik izvornika: hrvatski

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

1.	izv. prof. dr. sc. *Mirela Kopjar*	predsjednik
2.	doc. dr. sc. *Anita Pichler*	član-mentor
3.	izv. prof. dr. sc. *Nela Nedić Tiban*	član
4.	doc. dr. sc. *Ivana Flanjak*	zamjena člana

Datum obrane: 11. srpnja 2016.

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 Technology
Subdepartment of Food Engineering
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program of Food Engineering Study

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Processes in Food Industry
Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VII held on April 22, 2016
Mentor: *Anita Pichler*, PhD, assistant prof.

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

Tijana Pinkle, 278-DI

Summary: Knowledge of the colour and aroma properties has great significance for food processing in food industry. Food products on raspberry basis are obtained from puree which is semi – product in the raspberry processing. Due to evaluation of organoleptic properties of final products it is necessary to understand the properties of colour and aroma puree. The objective of this study was to investigate the influence of sugars and modified starches addition on the colour and aroma retention of raspberry paste and determining above mentioned compounds immediately after pasta preparation. For this purpose, raspberry pastes are made with different contents of sugars and modified starches. The content of anthocyanins, polyphenols, antioxidant activity and aroma compounds were determined in fresh raspberry puree, pasteurized raspberry puree and in pastes with additives. Results showed that the addition of modified starches resulted in colour and aroma compounds retention in comparision to samples only with sugars addition. Trehalose in combination with modified starches had positive effect on colour degradation and anthocyanin, polyphenols and aroma compounds in samples.

Key words: Raspberry pasta, sugars, modified starches, colour, aroma

Thesis contains: 79 pages
24 figures
10 tables
0 supplements
84 references

Original in: Croatian

Defense committee:

1. *Mirela Kopjar*, PhD, associate prof. — chair person
2. *Anita Pichler*, PhD, assistant prof. — supervisor
3. *Nela Nedić Tiban,* PhD, associate prof. — member
4. *Ivana Flanjak* PhD, assistant prof. — stand-in

Defense date: July 11, 2016

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

Zahvaljujem se mentorici doc.dr.sc Aniti Pichler na savjetima, strpljenju i ohrabrenju pri izradi diplomskog rada. Hvala roditeljima i sestri na bezuvjetnoj podršci, motivaciji i mogućnosti da ostvarim ovaj uspjeh. Također, hvala prijateljima na svim savjetima i uspomenama koje ću vjerujem dugo pamtiti.

Bez svih vas bilo bi nemoguće ostavriti ovo i vi ste najvrijednije što sam studirajući stekla.

Sadržaj:

1. UVOD 1

2. TEORIJSKI DIO 3

2.1. MALINA 4

2.1.1. Kemijski sastav maline 5

2.2. VOĆNA KAŠA 9

2.3. SREDSTVA ZA ZASLAĐIVANJE 10

2.3.1. Saharoza 10

2.3.2. Fruktoza 11

2.3.3. Trehaloza 12

2.4. ŠKROB 13

2.4.1. Želatinizacija škroba 15

2.4.2. Modificirani škrobovi 17

2.5. TVARI BOJE 19

2.5.1. Antocijani 20

2.5.2. Stabilnost boje antocijana 21

2.5.3. Antioksidativna aktivnost 24

2.5.4. Gubitak antioksidanasa tijekom procesiranja i skladištenja hrane 26

2.6. TVARI AROME 27

2.6.1. Nositelji arome u voću 28

2.6.2. Podjela aromatičnih sastojaka u voću 29

2.6.3. Biosinteza aromatičnih tvari u voću 30

2.6.4. Promjene arome tijekom procesa prerade 30

2.6.5. Tvari arome maline 31

2.6.6. Biosinteza tvari arome maline 33

2.7. ODREĐIVANJE SASTOJAKA AROME PLINSKOM KROMATOGRAFIJOM 34

2.7.1. Plinska kromatografija 34

2.7.2. Spektrofotometrijske metode 39

3. EKSPERIMENTALNI DIO 42

3.1. ZADATAK 42

3.2. MATERIJAL I METODE 42

3.2.1. Priprema kaše i paste od maline 42

3.2.2. Analiza tvari boje i arome u pastama od maline 43

3.2.3. Određivanje sadržaja antocijana 44

3.2.4. Određivanje polimerne boje 44

4. REZULTATI 49

4.1. TABLIČNI PRIKAZ ANALIZOM DOBIVENIH REZULTATA 50

5. RASPRAVA 56

5.1. REZULTATI 57

6. ZAKLJUČCI 51

7. LITERATURA 64

Popis oznaka, kratica i simbola

DPPH	2,2-difenil-1 pikrilhidroazil
F	Fruktoza
GC	Plinska kromatografija
GC/MS	Plinska kromatografija sa maseno-selektivnim detektorom
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

Maline su bobičasti plodovi biljke iz porodice *Rosaceae*. Iako je njihova ekonomska važnost prepoznata tek u 20. stoljeću, ljudi ih odavnina kozumiraju zbog velikog sadržaja minerala, vitamina i prehrambenih vlakana, a male kalorijske vrijednosti.

Na boju i aromu maline utječu mnogi spojevi. Najveći utjecaj na aromu imaju kiseline i šećeri, dok na boju utječu antocijani, kvecertini i katehini. Tvari arome dijelimo na hlapljive tvari poput aldehida, ketona, alkohola i terpena te na nehlapljive tvari poput šećera, proteina i polisaharida koji sudjeluju u kemijskim reakcijama te oslobađaju i/ili stvaraju karakterističnu aromu.

Kemijski sastav maline i proizvoda od maline mijenja se ovisno o sorti, tehnološkom postupku koji se koristi za preradu i/ili konzerviranje te načinu konzumacije (svježi ili sušeni plodovi).

Škrobovi se u prehrambenoj industriji koriste za povezivanje različitih sastojaka, stvaranje filma, stabilizaciju pjene, želiranje, zadržavanje vlage, povećanje viskoznosti i zgrušnjavanje. Razlikujemo nativne i modificirane škrobove.

Šećeri se u prehrambenoj industriji koriste kao sredstva za zaslađivanje i imaju značajan utjecaj na aromu te kao konzervansi u proizvodnji marmelada, džemova i sl. Razlikujemo prirodne i umjetne zaslađivače.

Predmet istraživanja ovog rada je poluproizvod maline- pasta, koja se u prehrambenoj industriji koristi kao dodatak preljevima, voćnim sokovima, kao punjenje u konditorskoj industriji i sl., odnosno kaša maline s dodatkom šećera i modificiranih škrobova.

Cilj rada je istražiti utjecaj dodataka šećera i hidrokoloida na tvari boje i arome maline.

Rezultati istraživanja pokazali su da dodani šećeri i modificirani škrobovi imaju veliki utjecaj na boju i aromu maline.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. MALINA

Malina se u povijesti prvi puta spominje u kamenom dobu što dokazuju brojni pronađeni crteži. Prema vjerovanju prvo je pronađena u Grčkoj pa se zbog toga i naziva *Ideaeus* što u doslovnom prijevodu znači „sa planine Ida“ (Web 1).

Višegodišnja je grmolika biljka koja može narasti do 2 m u visinu iako najčešće ne prelazi visinu od 1 m. Pripada skupini bobičastog voća. Plodovi rastu u skupinama od najčešće 4 do 6 bobica u kojima se nalaze svijetlosmeđe sjemenke. Prema podatcima USDA (2016) botanička klasifikacija maline daje sljedeću kategorizaciju:

Carstvo: *Vegetabilia* (biljke)

Podcarstvo: *Tracheobionta* (cijevnjače ili vaskularne biljke)

Odjeljak: *Spermatophyta* (sjemenjače)

Pododjeljak: *Angiosperme* (golosjemenjače)

Divizija: *Magnoliophytina* (cvjetnice)

Razred: *Magnoliopsida* (dvosupnice)

Red: Rosales

Porodica: *Rosaceae* (ruže)

Rod: Rubus L.

Vrsta: *Rubus idaeus L.* (američka crvena malina)



Slika 1 Malina (*Rubus ideaus L.*) (Web 1)

Iako je sve više zastupljena kao kultivirana biljka može rasti i samoniklo u šumama, najčešće na brdsko-planinskim prostorima s dosta vlažnim i slabo kiselim tlom (Volčević, 2005.). Plodove, ovisno o sorti, donosi jednom ili dvaput godišnje kroz period od lipnja do kolovoza. Iako daje prinos od prve godine sadnje tek oko treće godine počinje donositi maksimalan prinos od oko 10 000 do 15 000 kg/ha (Web 1). Najvažnije vrste koje se koriste u komercijalne svrhe su:

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

Značajna proizvodnja započinje tek u 20. stoljeću (Volčević, 2005.). Prema podatcima FAOSTAT-a iz 2015. godine najveći proizvođač je Rusija sa proizvedenih 143 000 t, dok je Hrvatska prema istim podatcima imala proizvodnju od 1000 t.

U narodnoj medicini poznata su ljekovita svojstva listova maline koji se u obliku čaja koristi za ispiranje usne šupljine kod upala i infekcija, dok se ekstrakt plodova koristi za liječenje osipa i crvenila na licu (Web 2).

2.1.1. Kemijski sastav maline

Kemijski sastav maline definira odnos suhe tvari i vode u plodu. Važan je zbog određivanja svojstava, energetske i prehrambene vrijednosti dobivenih proizvoda te odabira tehnoloških postupaka poput prerade.

U radu smo koristili pastu od maline koja je poluproizvod maline koji se u prehrambenoj industriji koristi kao osnova za sokove, preljeve za sladoled, kao bojilo ili punilo u konditorskoj industriji i sl.

U **Tablici 1** je vidljivo da vodu čini 84,5%, dok suhu tvar čini 15,5% od čega je najviše ugljikohidrata.

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

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

Zbog velikog sadržaja vode malina ima malu energetsku vrijednost koja na 100 g iznosi 105 kJ odnosno 25 kcal (Pichler, 2011.). Značajna je zbog velike količine vitamina od kojih se posebno ističu vitamin C i E te minerala poput kalija, kalcija, magnezija i željeza. Antioksidativna aktivnost maline je 50% veća od antioksidativne aktivnosti jagode, 10 puta veća od rajčice i 3 puta veća od kivija (Beekwilder i sur., 2007.).

Ugljikohidrati

U **Tablici 1** vidljivo je da najveći postotak suhe tvari čine ugljikohidrati. Ugljikohidrati utječu na energetsku vrijednost ploda, ali i na aromu kojoj, zajedno s kiselinama, daju prepoznatljiv okus. Sadržaj ukupnih šećera u voću se kreće u rasponu od 3-20 %, dok je kod maline to 4,5% (Niketić-Aleksić, 1982.). Sadržaj ugljikohidrata ovisi o sorti, staništu, stupnju zrelosti, uvjetima skladištenja te načinu konzumacije ploda (svježi ili sušeni oblik).

Malina sadrži veći dio invertnog šećera od čega 80% čini fruktoza, a samo 20% glukoza dok je saharoza u neznatnim količinama (Niketić–Aleksić, 1982.).

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

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

Kiseline

Kiseline u plodu maline imaju vrlo bitnu ulogu jer utječu na aromatski profil ploda dajući kiselu notu. Utječu na proces tehnološkog procesiranja gdje mogu stvarati nepoželjne arome te istovremeno utječu na želirajuća svojstva pektina (Pichler, 2011.).

Prema podatcima USDA (2016) plod maline sadrži 20mg/100 g zasićenih masnih kiselina, 60mg/100 g monozasićenih te 38 mg/100 g polizasićenih kiselina.

Niketić-Aleksić (1982) navodi da su najzastupljenije kiseline u malini liminska (1,07-1,94%), dok se ostale kreću u vrijednostima ispod 0,5%, pa tako salicilne kiselina ima 0,11%, jabučne i oksalne kiseline 0,05%, dok se mravlja kiselina nalazi u najmanjoj količini od 0,002%. Kiseline su značajne za definiranje indeksa slasti odnosno odnosa šećera i kiselina koji za malinu iznosi od 3 do 5 ovisno o botaničkim i tehnološkim karakteristikama.

U dodatcima prehrani malina je izvor fitonutrijenata elagične kiseline koja sprječava štetno djelovanje radikala na stanične strukture u tkivima (Pichler, 2011.).

Za ljekovita svojstva maline bitna je elaginska kiselina koja se najčešće koristi za ispiranje rana ili tretiranje lice kod upala. Samo mali dio elaginske kiseline možemo pronaći u slobodnom obliku, a puno češće ju pronalazimo u obliku O-metil derivata, kao slobodne fenole ili kao konjugate 4-O-glikozida (Web 2).

Prehrambena vlakna

Prehrambena vlakna su biljne tvari koje su neprobavljive za enzime probavnog sustava, uključujući tvari staničnih stijenki biljaka (pektin, lignin, celuloza) kao i međustanične polisaharide (gume, sluzi) (Krešić, 2012.). Prema Mandić i Nosić (2009) prehrambena vlakna temeljem njihove topljivosti dijele se u dvije skupine:

- netopljiva prehrambena vlakna koja uključuju celulozu, hemicelulozu, lignin i neprobaljivi škrob
- topljiva prehrambena vlakna koja uključuju pektine, beta-glukane, gume i sluzi

Preporučen dnevni unos za odrasle osobe je 25-30 g/dan. Smanjeni unos uzrokuje pojavu „zapadnih bolesti“ u koje ubrajamo pretilost, smetnje probave, dijabetes tip 2 i sl., dok prevelik unos uzrokuje smanjenu adsorpciju minerala i vitamina (Katalinić, 2011.).

Prema podatcima USDA (2016) malina sadrži 6,5 g/100 g dijetnih vlakana što je stavlja u grupu namjernica s dobrim izvorom vlakana te se preporučuje kod redukcijskih dijeta ili kontroliranja prehrane kod dijabetesa tipa 2.

Minerali

Minerali su tvari koji se u našem organizmu nalaze u malim količinama, ali su neophodne za normalno odvijanje izmjene tvari. Čine 4,5 % mase tijela, a najveći dio nalazi se u kostima, tkivu, tjelesnoj tekućini, enzimima, hormonima i hemoglobinu (Lovrić, 2004.). Dijelimo ih u 3 osnovne skupine:

- makroelemente (kalcij, magnezij, kalij, fosfor, natrij, klor, sumpor i dr.) koje organizam treba u količini većoj od 100 mg/dan,
- mikroelemente (cink, mangan, željezo, fluor i dr.) čiji je unos manji od makroelemenata,
- elemente u tragovima (selen, brom, korom, silicij i dr.) (Mandić, 2007.).

Prema USDA (2016) najzastupljeniji minerali u malini su kalij, fosfor, kalcij i magnezij, dok se ostali minerali nalaze u manjim količinama prikazanim u **Tablici 3**.

Tablica 3 Minerali u plodu maline (mg/100 g) (USDA, 2016.)

Kalij	Fosfor	Kalcij	Magnezij	Natrij	Željezo	Mangan	Cink	Bakar	Selenij
151,00	29,00	25,00	22,00	1,00	0,69	0,67	0,42	0,69	0,0002

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. Nadalje, kako bi bila smještena u skupinu vitamina, promatrana komponenta, ne smije se sintetizirati u organizmu, već se mora unositi hranom (Mandić,2007.).

Prema podacima USDA (2016) u plodu maline u najvećoj količini ima vitamina C (26,2 mg/100 g), dok se vitamini skupine B te vitamini K i E nalaze u manjim količinama prikazanim u **Tablici 4**.

Tablica 4 Vitamini u plodu maline (mg/100 g) (USDA, 2016.)

Vitamin C	**Tiamin**	**Riboflavin**	**Niacin**	**Piridoksin**	**Vitamin E**	**Vitamin K**
26,2	0,03	0,04	0,6	0,06	0,0087	0,0078

Tvari boje

Tvari boje su tvari koje voću daju prepoznatljivu boju, a prvenstveno utječu na aromu, pokazuju zrelost, a u nekim slučajevima i sortne karakteristike. Najčešće boju voću daju pigmenti poput antocijana, flavonoida, karotenoida i drugih. Neki pigmenti nemaju samo ulogu boje već i nutritivnu ulogu kao npr. β- karoten (Pichler, 2011.).

Kada promatramo tvari koje su kod maline odgovorne za boju govorimo o spojevima iz grupe flavonoida koji malinama daju prepoznatljivu crvenu boju. Boja u malinama mijenja se ovisno o sorti i stupnju zrelosti.

2.2. VOĆNA KAŠA

Prema Pravilniku o voćnim sokovima i njima sličnim proizvodima namjenjenim za konzumaciju (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. Dobivanje kaše ovisi o karakteristikama ploda na način da plod mora imati određenu tehnološku zrelost, ujednačenu veličinu, karakterističan miris, boju i okus koju zadržava u svim fazama proizvodnje te očišćen od svih primjesa dospjelih tijekom ubiranja i transporta. Proizvod ne smije sadržavati ostatke kore voća, koštice voća ili neke druge primjese (Lovrić i Piližota, 1994.). Najčešći postupak konzerviranja je pasterizacija, zamrzavanje te tretiranje sumporovim dioksidom odnosno sumpornom kiselinom i njenim solima (Pichler, 2011.).

Za pripremu voćnih kaša potrebno je voće oprati i probrati kako bi osigurali ujednačenu kvalitetu i odstranili 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 zbog lakše obrade na uređajima za pasiranje na kojima se odvajaju nejestivi dijelovi ploda. Ukoliko se kaša ne pasterizira, nakon toplinske obrade puni se u limenke. Ako se konzerviranje postiže zamrzavanjem, kaša se hladi na 30°C te se u uređajima za zamrzavanje tretira otopinom askorbinske kiseline zbog

postizanja bolje arome te sprječavanja promjena tijekom skladištenja. Kaša se zamrzava u obliku blokova te se oblaže folijom od polietilena i skladišti na -18°C (Lovrić i Piližota, 1994.).

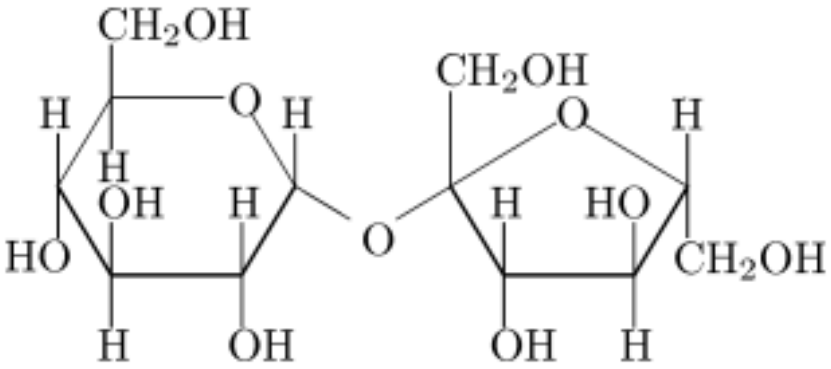
Voćne paste su poluproizvodi voća dobiveni pasiranjem voća uz dodatak šećera ili sladila, voćnih sokova, koncentrata i konzervansa. U prehrambenoj industriji koriste se za proizvodnju voćnih preljeva, sladoleda, kao punila u konditorskoj industriji i sl. Ovisno o sadržaju voća dijele se u kvalitetne skupine pa tako najniža skupina sadržava 30% voća, dok one najkvalitetnije i do 50% (Pichler, 2011.). Voće koje se koristi u proizvodnji može biti u svježem ili zamrznutom stanju.

2.3. SREDSTVA ZA ZASLAĐIVANJE

Sredstva za zaslađivanje su tvari koje su dodane proizvodu u svrhu formiranja ugodnog slatkog okusa kojima se poboljšava ukupna aroma proizvoda. Kemijski gledano zajedničko zaslađivačima je veći broj hidroksilnih skupina i α-amino kiselina u strukturi (Bassoli i Merlini, 2003.). Prema načinu dobivanja dijelimo ih na prirodna i umjetna. U prirodna se ubrajaju saharoza, fruktoza, glukoza, laktoza, maltoza, fruktozni i glukozni sirupi te šećerni alkoholi smanjene energetske vrijednosti poput sorbitola, manitola i ksitola (Ergović, 2001.). Prirodna sladila češće se koriste u prehrambenoj industriji zbog energetske vrijednosti te inhibitornog djelovanja na mikroorganizme ako se dodaju u većim količinama, dok se umjetna koriste najčešće kod ciljanih skupina poput dijabetičara i sportaša zbog manje energetske vrijednosti. Umjetna sladila su u pravilu slađa od prirodnih i u tu skupinu ubrajamo aspartam, saharin, dulcin, glucin i sl. (Bassoli i Merlini, 2003.).

2.3.1. Saharoza

Saharoza je disaharid opće formule $C_{12}H_{22}O_{11}$ u kojoj su dva monosaharida, glukoza i fruktoza, međusobno povezani α1-β2 glikozidnom vezom prikazanom na **Slici 2.**



Slika 2 Kemijska struktura saharoze (Web 3)

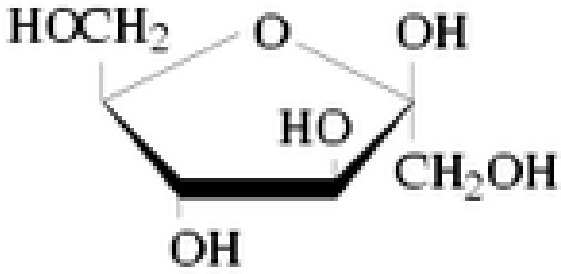
Saharoze najviše ima u šećernoj repi (16-20%) i u šećernoj trsci (14-26%), pa je zbog toga još dobila ime tršćani ili repin šećer. Proizvođači danas najčešće koriste proces rafiniranja radi izolacije saharoze iz šećerne trske i šećerne repe (Jašić, 2010.). Molarna masa iznosi 342,2965 g/mol, a njena gustoća je 1,59 g/cm^3. Talište joj je na temperaturi od 186 °C, a pri temperaturi od 200 °C prelazi u smeđe obojeni karamel.

Hidrolizom s enzimima i/ili niskim pH daje jednaku količinu dva spomenuta monosaharida. Zbog visoke energetske vrijednosti koristi se kao jeftini izvor energije u prehrani. Topljiva je u vodi gdje se nalazi u cikličkoj strukturi, ali netopljiva u većini organskih otapala (Huberlant, 1993.). Topljivost saharoze povećava se porastom temperature. Granica kod koje prestaje otapanje šećera i uspostavlja se dinamička ravnoteža između brzine otapanja i kristalizacije zove se granična topljivost, a takva otopina predstavlja zasićenu otopinu šećera (Babić, 2007.).

Osim glavne funkcije – arome, koristi se i kao konzervans u proizvodnji npr. marmelada i džemova jer djeluje inhibitorno na mikroorganizme.

2.3.2. Fruktoza

Fruktoza pripada jednostavnim šećerima odnosno po kemijskoj strukturi je keto heksoza opće formule $C_6H_{12}O_6$ prikazanoj na **Slici 3**. Molarna masa iznosi 180,16 g/mol, a njena gustoća je 1,69 g/cm^3.



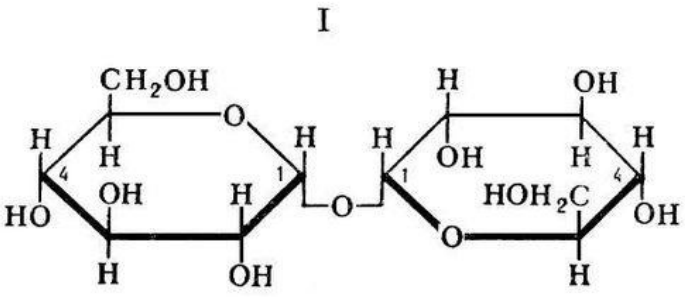
Slika 3 Kemijska struktura fruktoze (Web 4)

Relativna slatkoća, koja se mjeri s obzirom na saharozu za koju se uzima 1,0, za fruktozu iznosi 1,3. Ovisno o formi fruktoze relativna slatkoća može se povećati i do 1,7 ili smanjiti ukoliko fruktozu otapamo u vodi. Talište fruktoze iznosi 103°C, a vrelište 440°C (Babić, 2007.).

Budući da je monosaharid u tkivima se brže razgrađuje pa joj je uporaba u sportskim napitcima i dodatcima prehrani za sportaše široko rasprostranjena. U prirodi se najčešće nalazi u voću, povrću i medu pa se često naziva i voćni šećer.

2.3.3. Trehaloza

Trehaloza pripada skupini disaharida koju čine dvije jedinice glukoze međusobno povezane α-1,1 glikozidnom vezom prikazanoj na **Slici 4**.



Slika 4 Kemijska struktura trahaloze (Web 5)

Ubraja se u nereducirajuće šećere pa tijekom tehnoloških procesa ne reagira s aminokiselinama te ne dolazi do Milardovih reakcija. Ima manju kalorijsku vrijednost i slabije je slatkoće nego saharoza za oko 45 % (Zhou i sur.,2006.). U prehrambenoj industriji često se

upotrebljava zajedno sa saharozom zbog postizanja punoće okusa. U prirodi se nalazi u morskim plodovima, medu, te pekarskim proizvodima (Megazyme, 2005.). Promatrajući stabilnost s obzirom na pH vrijednosti Patist i Zoerb (2005) dokazali su da je trehaloza stabilna u širokom rasponu pH vrijednosti i temperature te da ima znatno višu temperaturu staklastog prijelaza (115 °C) od saharoze čija temperatura staklastog prijelaza iznosi 60°C.

2.4. ŠKROB

Škrob je polisaharidni ugljikohidrat izgrađen od atoma ugljika, vodika i kisika u omjeru 6:10:5, opće formule $(C_6H_{10}O_5)_n$. Nastaje asimilacijom ugljikova dioksida i vode uz sunčevu svjetlost (fotosinteza) u listovima zelenih biljaka te se skladišti u sjemenkama, plodovima ili podzemnim dijelovima biljaka u obliku škrobnih granula koje biljka koristi kao rezervnu hranu tijekom mirovanja, klijanja ili rasta. Definira se kao prah bijele boje, bez mirisa, brašnastog okusa koji se ne otapa u hladnoj vodi. Osnovne sirovine iz kojih se proizvodi škrob su kukuruz, krumpir, tapioka, pšenica i riža.

Nativni i modificirani škrobovi se u prehrambenoj industriji koriste za povezivanje različitih sastojaka, stvaranje filma, stabilizaciju pjene, želiranje, zadržavanje vlage, zgrušavanje, konzerviranje i slično (Denyer i sur., 2001.; Wischmann i sur.,2002.). Širokoj upotrebi u prehrambenoj industriji doprinosi i niska cijena te velika dostupnost s obzirom na veliki broj namirnica iz kojih se može dobiti.

U prirodi škrob nalazimo u obliku granula (zrnaca) koje služe za identifikaciju. Naime, granule škroba mogu biti okrugle, ovalne ili poligonalne ovisno o botaničkoj vrsti sirovine.



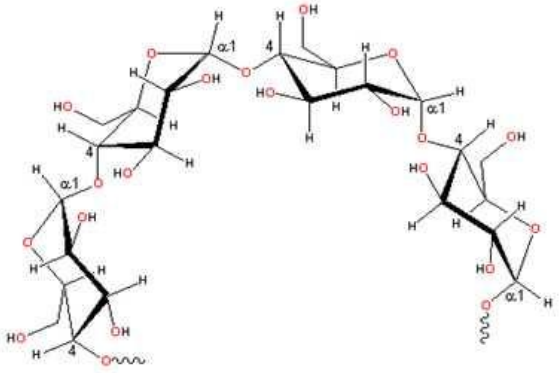
Slika 5 Različiti oblici granula škroba (Web 6)

Škrobna granula sastoji se od dvije strukturne komponente-amiloze i amilopektina. Amiloza čini unutarnji dio granule i odgovorna je za neuređena područja, dok amilopektin čini vanjski dio granule i povezuje se s uređenijim dijelom granule (Babić, 2007.). Odnos amiloze i amilopektina je različit ovisno o vrsti biljke. Osim amiloze i amilopektina u škrobu se mogu nalaziti i proteini, vitamini ili minerali.

Amiloza

Amiloza je linearni polisaharid u kojemu se molekule α-D-glukoze povezane α-1,4 glikozidnim vezama. Čini 20-30% škrobne granule.

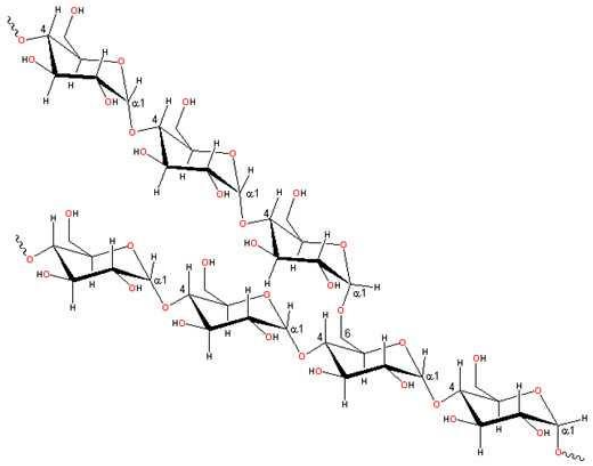
Metoda određivanja zasniva se na mogućnosti smještanja molekule joda unutar zavojnice amiloze te tvorbe kompleksa amiloza-jod karakterističnog plavog obojenja (Tester i sur., 2004.).



Slika 6 Struktura amiloze (Web 6)

Amilopektin

Amilopektin je razgranata molekula u kojemu su α-D-glukoze povezane α-1,4 i α-1,6 glikozidnim vezama (Tester i sur., 2004.). Čini 70 - 80 % molekule škroba, a s molekulskom masom od 10^7 do 10^9 jedna je od najvećih molekula u prirodi. Udio amilopektina u pšenici kreće se od 75-100% (Belitz i sur., 2009.).



Slika 7 Struktura amilopektina (Web 6)

Za razliku od amiloze, amilopektin je topljiv u vodi jer njegova razgranata struktura spriječava nastajanje uzvojnice. U reakciji sa jodom daje blijedocrveno obojenje (Tester i sur., 2004.).

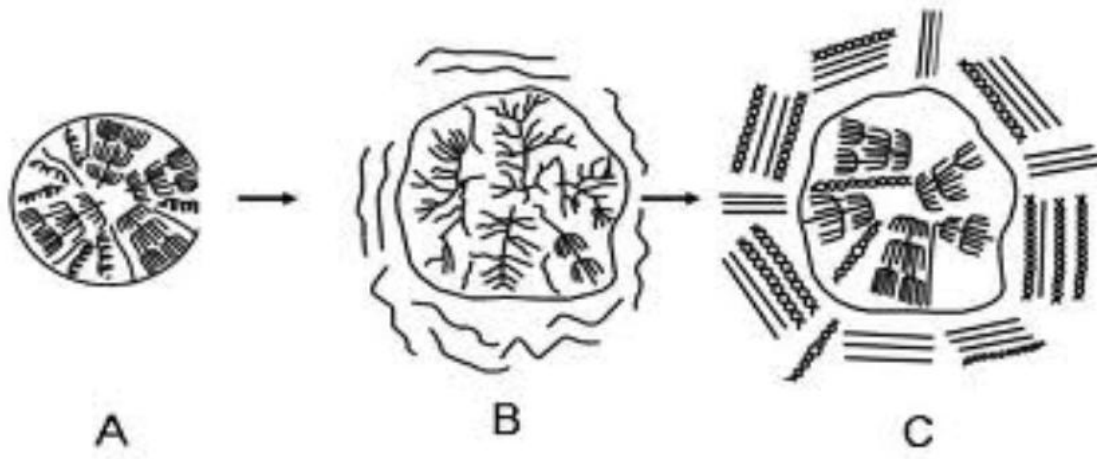
2.4.1. Želatinizacija škroba

Škrobne granule netopljive su u hladnoj vodi, no porastom temperature škrobne suspenzije dolazi do želatinizacije i postupnog otapanja škrobnih granula.

Vasanthan i Bhatty (1988) definiraju želatinizaciju kao proces prelaska škrobnih granula iz uređene strukture u neuređenu strukturu uz povišenu temperaturu i vodu. 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.). Otopljena amiloza i amilopektin te neotopljeni dijelovi granula daju pastu koja hlađenjem povećava svoj viskozitet i nastaje gel (Denyer i sur,2001.).

Na svojstva želatinizacije utječe i količina vode, jačina miješanja te prisutnost različitih tvari u otopini poput šećera, hidrokoloida, kiselina i sl. (Spigno i De Faveri, 2004.). Zbog prisutnosti drugih otopljenih sastojaka nerijetko dolazi do interakcije škroba s polisaharidima, mono-, di- ili oligosaharidima, tvarima arome ili konzervansima zbog čega dolazi do promjene škroba ili samih sastojaka koji su bili uključeni u interakciju.

Hlađenjem škrobne suspenzije smanjuje se energija sustava. Nakon hlađenja započinju interakcije među molekulama (povezivanje škroba vodikovim vezama) te se taj proces naziva retrogradacija škroba kao što je prikazano na **Slici 8** (Hoover, 2001.).



Slika 8 Retrogradacija i želatinizacija škroba a) škrobna granula prije želatinizacije i retrogradacije b) želatinizirana škrobna granula c) retrogradirana škrobna granula (Web 6)

Dolazi do vezivanja susjednih polimera vodikovim mostovima što rezultira smanjenjem topljivosti (Šubarić, 1994.). Osim molekularnih interakcija na retrogradaciju utječe i podrijetlo škroba, koncentracija škroba u suspenziji, temperatura, pH te količina i vrsta drugih tvari poput lipida, šećera i sl. Zbog slabe kristaličnosti retrogadirani škrobovi imaju nižu temperaturu i entalpiju želatinizacije.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.

2.4.2. Modificirani škrobovi

Modificirani škrobovi su oni škrobovi koji imaju izmijenjenu kemijsku i/ili fizikalnu strukturu u odnosu na nativni škrob u cilju poboljšanja općih osobina škroba (Babić, 2007.).

Nativni škrob zauzima 20 % svjetske proizvodnje škrobova zbog očitih ograničenja vezanih za retrogradaciju i nestabilnost u kiselim uvjetima koja rezultiraju nestabilnom strukturom i sinerezom, problema vezanih uz želatinizaciju i viskoznost (Web 6). U cilju rješavanja navedenih problema provode se različiti postupci izmjene izvorne strukture nativnih škrobova koje uključuju tretiranje kemijskim, fizikalnim, enzimskim ili kombiniranim postupcima. Enzimska modifikacija uključuje hidrolizu škroba u dekstrine i maltodekstrine upotrebom amilolitičkih enzima (Beltz i sur., 2009.). Kemijska modifikacija je najraširenija i zasniva se na principu reagiranja slobodnih OH skupina sa različitim kemijskim reagensima (Gunaratne, 2004.). Fizikalna modifikacija najčešće uključuje termički tretman škroba i preželatinizaciju (Beltz i sur., 2009.).

Svojstva modificiranih škrobova ovise o sljedećim čimbenicima:

- sirovini (kukuruz, voštani kukuruz, krumpir, tapioka),
- postupku modifikacije (kemijski, fizikalno ili enzimski),
- omjeru amiloze i amilopektina,
- stupnju polimerizacije,
- prirodi supstituirane grupe,
- stupnju supstitucije,
- fizikalnom obliku (preželatinizirani, granulirani) i
- prisutnosti stranih komponenti (proteini, masne kiseline i dr.).

Za proizvodnju modificiranih škrobova najčešće se upotrebljavaju škrobovi kukuruza, voštanog kukuruza, krumpira i tapioke koji se koriste kao zgušnjivači u umacima, marinadama i sl.

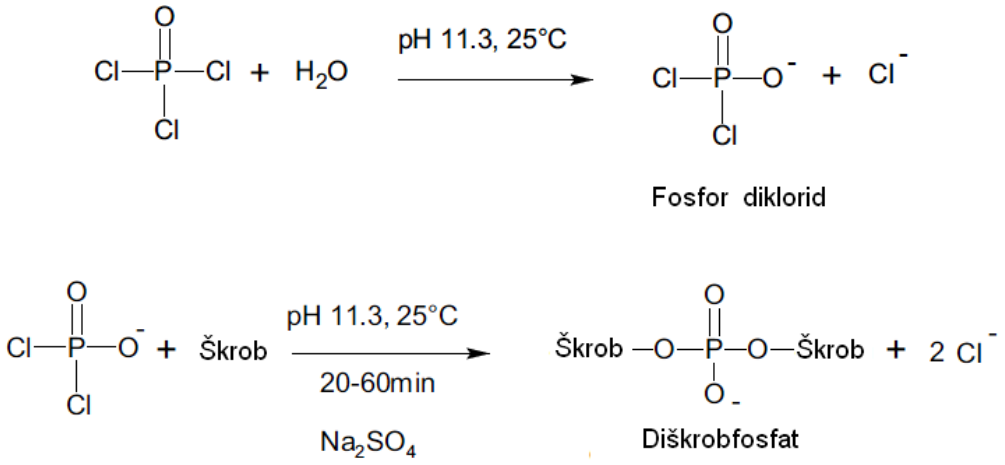
U istraživanju su korištena dva modificirana škroba:

- hidroksipropilirani škrob tapioke (HPŠ) komercijalnog naziva *Textra* i
- hidroksipropil di-škrob fosfat voštanog kukuruza (HPDŠF) komercijanog naziva *Frigex W*

HPŠ pripada supstituiranim škrobovima koji nastaju uvođenjem funkcionalne skupine u makromolekulu škroba. Svojstva ovise o vrsti modificiranog škroba te stupnju suspsitucije (SS). SS se prikazuje količina supstiuiranih hidroksilnih skupina unutar škroba pri čemu je maksimalni broj 3 što znači da su sve tri hidroksilne skupine na svakoj molekuli glukoze supstituirane. Karakteristična fizikalno - kemijska svojstva su niža temperatura želatinizacije, visoka topljivost te stabilnost prilikom kuhanja i skladištenja. Paste koje su dobivene od HPŠ su manje podložne retrogradaciji, sinerezi te zamućivanju pri nižim temperaturama. Škrobni esteri imaju široku primjenu u prehrambenoj industriji gdje se koriste za postizanje teksture i stabilnosti.

Texstra se na tržištu javlja u bijeloj i bež boji, lako se raspršuje u vodi, a otapa se na temperaturama od 65 do 67°C. Dodatkom 2-3% Texstre u proizvode sa smanjenim udjelom šećera dobiva se jednaka tekstura i okus kao kod dodavanja 20-25% šećera (Lebell, 1995.).

HPDŠF pripada dvostruko modificiranim škrobovima koji se proizvode na dva različita postupka modifikacije. Najprije se propilen oksidom provodi esterifikacija škroba odnosno uvodi se hidroksipropilna skupina, a zatim se vrši umrežavanje natrijevim tripropilfosfatom prikazanim na **Slici 9**.



Slika 9 Umrežavanje škrobova s fosfor oksikloridom (Pichler,2011.)

Na **Slici 9** je vidljivo umrežavanje škroba kojim dolazi do stvaranja mostova i veza između i unutar molekula škroba. Umreženi škrobovi niskog stupnja umreženja imaju značajno višu viskoznost nakon želatinizacije u odnosu na nativni škrob pa su stoga dobivene paste stabilne viskoznosti na povišenim temperaturama. Škrobovi sa visokim stupnjem umreženja želatiniziraju pri višim temperaturama i dobivene paste imaju višu viskoznost u odnosu na nativne škrobove.

Umreženi škrobovi se koriste kada je potrebna stabilna, vrlo viskozna pasta pri viskoj temperaturi ili niskom pH. Nerijetko se kombiniraju s drugim tipovima modifikacija poput esterifikacije, preželatinizacije i sl.

2.5. TVARI BOJE

Boju definiramo kao ljudsku percepciju različito obojenih materijala- žuto, zeleno-plavo, itd. Bojilom smatramo bilo koju tvar, prirodnog ili sintetičkog podrijetla, koja imitira boju. Hrana je obojena zbog svoje sposobnosti da reflektira ili emitira određenu količinu energije pri valnim duljinama koje stimuliraju retinu oka. Kvaliteta i intenzitet radijacije u vidljivom dijelu spektra (380 nm-780 nm) odgovorni su za osobnu percepciju boje (Peterson i Johnson, 1978.).

Nerijetko određena boja utječe i na percepciju arome potrošača. Očekuje se da će npr. crveno obojeni proizvodi imati aromu crvenog voća poput jagode, maline ili višnje ukoliko se radi o voćnim proizvodima, a aromu rajčice ili cikle ukoliko se radi o povrću.

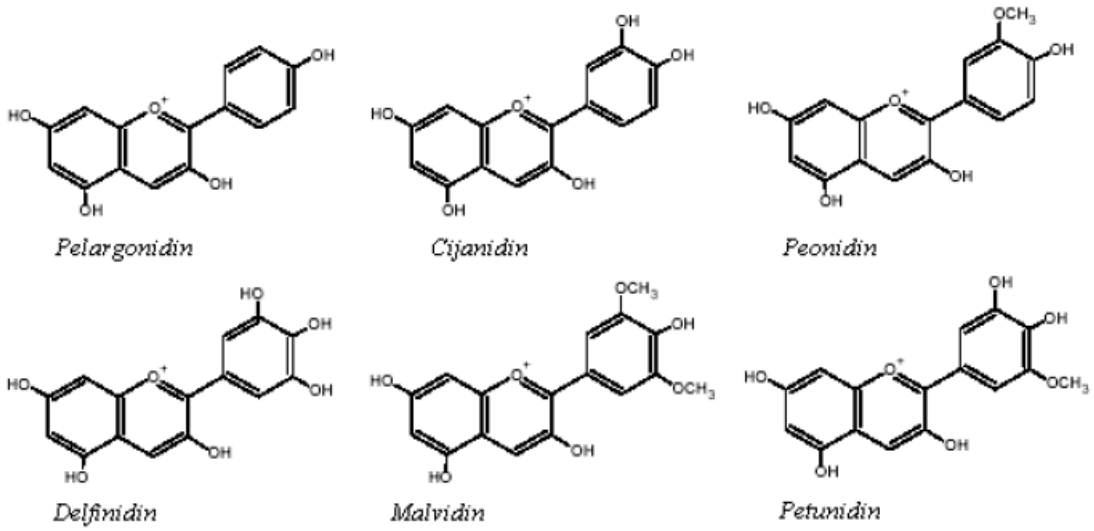
Za boju u voću najčešće su odgovorni pigmenti koji se nalaze u tkivima biljaka (Potter, 1978.). Obojenje može biti rezultat prisustva organskih pigmenata u tkivima ili optičkih efekata zraka svjetlosti (Peterson i Johnson, 1978.). Boja može nastati i kemijskim reakcijama reducirajućih šećera.

Prirodni pigmenti su vrlo osjetljivi na promjene tijekom zrenja voća, kao i na promjene tijekom procesiranja. Za razliku od njih, sintetičke tvari boje vrlo su stabilne u uvjetima procesiranja. Klorofil, jedan od najpoznatijih biljnih pigmenata, procesiranjem i u dodiru s kisikom gubi svoja svojstva (Potter, 1978.).

Funkcionalna uloga pigmenata je različita. Kao što je već navedeno, klorofil sudjeluje u fotosintezi, mioglobin nosi kisik, antocijani su poznati nosači elektrona.

2.5.1. Antocijani

Kong i sur. (2003) definiraju antocijane kao dio velike i široko rasprostanjenje skupine sastojaka poznate kao flavonoidi koji imaju osnovnu strukturu C_6-C_3-C_6. Glavni dio molekule antocijana je antocijanidin koji je povezan s monosaharidima (glukoza, arabinoza, ksiloza) te je kao takav odgovoran za boju. Antocijanidin se još naziva i flavilium kation te sadrži konjugirane dvostruke veze odgovorne za adsorpciju svjetla pri valnim duljinama oko 500nm, što omogućava pigmentu da se ljudskom oku čini crvenim (Pichler, 2011.). Danas je poznato 22 različita antocijanidina od kojih je 6 (**Slika 10**) značajno za hranu (Francis, 1989.). Međusobno se razlikuju po broju hidroksilnih i metoksilnih grupa na B prstenu flavilium kationa.



Slika 10 Najznačajniji prirodni antocijanidini (Kopjar, 2007.)

Antocijani imaju nisku stabilnost u svim proizvodima što ograničava njihovu upotrebu u prehrambenoj industriji kao prirodna bojila. Glavni uvjeti koji utječu na njihovu stabilnost su čimbenici procesiranja kao što su svjetlost, pH i temperatura (Socaciu, 2008.). Prisutnost hidroksilnih i metoksilnih skupina utječe na percepciju boje. Boja se mijenja od blijedo

ružičaste prema plavoj s porastom hidroksilnih skupina (Mazza i Brouillard, 1987.). Povećanjem pH vrijednosti dolazi do smanjenja inteziteta boje i koncentracije flavilium kationa zbog hidratacije preko nukleofilnih veza, te nastaje bezbojni karbonilni oblik. Svjetlost i kisik potiču degradativne promjene antocijana te se zbog toga preporuča čuvanje u tamnim posudama koje su hermetički zatvorene (Pichler, 2011.). Osnovna uloga antocijana je zaštita organizma od antioksidativnog djelovanja (Kopjar, 2007.).

Antocijana u malini ima 20-60 mg/100 g te su najzastupljenije tvari boje u malini (Opačak, 2006.).

2.5.2. Stabilnost boje antocijana

Antocijani su vrlo nestabilne molekule u matriksu hrane. Na stabilnost boje antocijana uvelike utječe pH, otapalo, temperatura, koncentracija antocijana i struktura, kisik, svjetlost, enzimi i drugi prisutni sastojci.

Utjecaj strukture

Glikozilne jedinice i acilne grupe vezane na aglikon, te mjesto vezanja imaju značajan utjecaj na stabilnost i reaktivnost antocijana. Mjesto substitucije na antocijanidinu, te broj i pozicija hidroksilnih i metoksilnih grupa na aglikonu utječu na kemijsko ponašanje antocijana. Povećana hidroksilacija na aglikonu stabilizira antocijanidin; delfinidin je stabilniji od cijanidina u zakiseljenom metanolu. Ipak, postoje odstupanja od pravila utjecaja hidroksilacije aglikona na stabilnost molekule. U pufer otopini pH 3,1 cijanidin 3-glukozid je bio stabilniji od pelargonidin 3-glukozida, ali je delfinidin 3-glukozid bio manje stabilan nego cijanidin 3-glukozid. Također, petunidin 3-glukozid, sa dvije hidroksilne grupe na B prstenu je bio manje stabilan nego peonidin 3-glukozid koji ima samo jednu hidroksilnu skupinu u istom prstenu (Pichler, 2011.). Povećanjem metilacije hidroksilnih skupina smanjuje se stabilnost antocijana.

Prisutnost hidroksilnih i metoksilnih skupina ne utječe samo na stabilnost antocijana, već i na percepciju boje. Boja antocijana se mijenja od ružičaste prema plavoj kako se broj hidroksilnih skupina povećava (Pichler, 2011.). Glikozilnom substitucijom postiže se stabilnija

antocijanin molekula, ali na stabilnost utječe i sama pozicija glikozilacije ali i vrsta glikozilne jedinice.

pH

Antocijani su stabilniji u kiselom mediju nego u alkalnom mediju. Pokazuju široki raspon boja ovisno o pH vrijednosti. Ionska priroda antocijana omogućava promjenu strukture molekula s obzirom na pH, što rezultira različitim bojama i nijansama boja pri različitim pH vrijednostima (Kopjar, 2007.).

U vrlo kiselom mediju crveni flavilium kation je dominantan oblik. Povećanjem pH dolazi do smanjenja intenziteta boje i koncentracije flavilium kationa zbog hidratacije preko nukleofilnih veza, te nastaje bezbojni karbinolni oblik. Karbinolni oblik gubi konjugirane dvostruke veze između A i B prstena i ne absorbira vidljivu svjetlost. Također dolazi do brzog gubitka protona s flavilium kationa kako pH dalje raste i nastaje obojeni gvinoidalni oblik. Relativna količina svakog oblika varira ovisno o pH i strukturi svakog antocijana (Kopjar, 2007.).

Temperatura

Na stabilnost antocijana utječe i temperatura. Brzina degradacije antocijana proporcionalno se povećava s povećanjem temperature tijekom procesiranja i skladištenja. Povećanje temperature u pH intervalu 2-4 izaziva gubitak glikozilnih jedinica antocijana hidrolizom glikozidne veze, što dovodi do gubitka boje antocijana s obzirom da su aglikoni manje stabilni od svojih glikozidnih oblika. Stvaranje halkona prvi je korak tijekom termičke degradacije antocijana (Pichler, 2011.). Termička degradacija vodi ka stvaranju smeđih pigmenata, posebno u prisustvu kisika.

Kisik

Kisik pojačava utjecaj drugih degradacijskih procesa antocijana. Štetan utjecaj kisika na antocijane se može manifestirati kroz direktnu oksidaciju i/ili indirektnu oksidaciju gdje oksidirane komponente medija dalje reagiraju s antocijanima, te se stvaraju bezbojni ili smeđi produkti (Kopjar, 2007.). Antocijani reagiraju i sa radikalima kisika odnosno s peroksi radikalima. U takvim reakcijama antocijani djeluju kao antioksidansi, te se smatra da je to

svojstvo antocijana odgovorno za njihov pozitivan utjecaju na kardiovaskularna oboljenja (Kopjar, 2007.).

Svjetlost

Svjetlost utječe na antocijane na dva različita načina. Neophodna je za biosintezu antocijana, ali i ubrzava njihovu degradaciju (Pichler, 2011.). Boja antocijana očuvana je mnogo bolje kada se proizvodi čuvaju u mraku.

Askorbinska kiselina

Obogaćivanje voćnih sokova s askorbinskom kiselinom je uobičajena metoda zaštite od oksidacije i povećanje nutritivne vrijednosti proizvoda. Askorbinska kiselina ima nekoliko različitih uloga u stabilizaciji boje antocijana. Degradacija antocijana je ubrzana prisustvom askorbinske kiseline jer ubrzava polimerizaciju pigmenata i uzrokuje obezbojenje. Smatra se da je mehanizam degradacije antocijana direktna kondenzacija između askorbinske kiseline i antocijana (Pichler, 2011.).

Šećeri

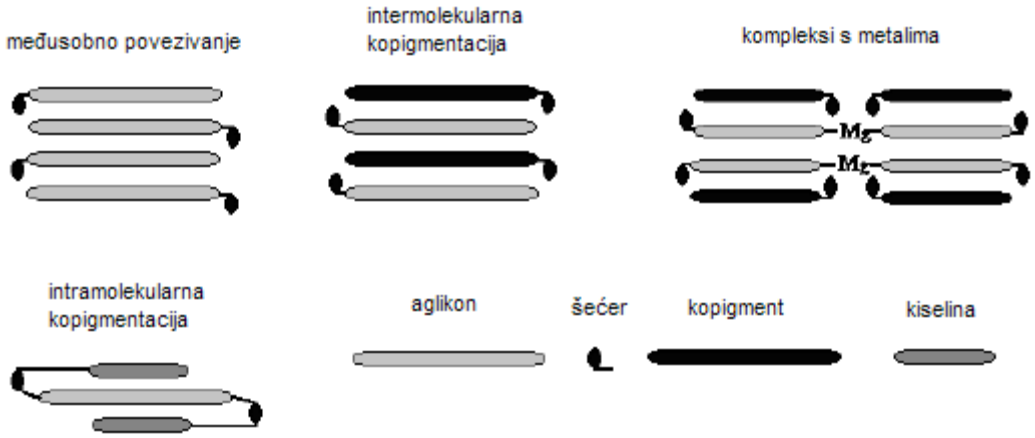
Šećeri su prirodno prisutni u voću, a vrlo često se dodaju tijekom procesiranja različitih proizvoda na bazi voća. Šećer, kao i njegovi produkti degradacije smanjuju stabilnost antocijana. Reakcijom između antocijana i degradacijskih produkata šećera i askorbinske kiseline nastaju smeđi pigmenti (Kopjar, 2011.). Također je utvrđeno da šećer može i štititi antocijane. Saharoza štiti antocijane tijekom skladištenja zamrzavanjem i sprječava posmeđivanje i stvaranje polimera vjerojatno zbog inhibicije enzimskih reakcija, ili pak smanjenja aktiviteta vode (Pichler, 2011.).

Kopigmentacija

Boja antocijana se može stabilizirati i pojačati kopigmentacijskim reakcijama. Iako su antocijani obojeni u prirodi, njihov obojeni oblik je jako stabiliziran drugim prirodnim komponentama tzv. kopigmentima, koji postoje u stanicama cvijeća i voća (Pichler, 2011.).
Kopigmentacija može biti vrlo korisna, odnosno prirodan način za poboljšanje boje prehrambenih proizvoda bogatih antocijanima. Uočeno je da je kopigmentacija intenzivnija u

sokovima bobičastog voća nego s čistim antocijanima tih sokova, a što upućuje na činjenicu da i druge tvari soka imaju ulogu u fenomenu kopigmentacije (Kopjar, 2007.).

Kopigmentacija se može odvijati na nekoliko načina. Najznačajniji mehanizmi kopigmentacije su formiranje intermolekularnih i intramolekularnih kompleksa. Međusobno povezivanje i stvaranje metalnih kompleksa su također mogući mehanizmi za stvaranje kopigmenata.



Slika 11 Interakcije antocijana (Pichler, 2011.)

2.5.3. Antioksidativna aktivnost

Epidemiološke studije pokazale su jasnu pozitivnu povezanost između unosa voća i povrća i smanjenog broja srčanih bolesti, tumora i drugih degenerativnih bolesti kao i usporavanja starenja. Povećanjem eksperimentalnih, kliničkih i epidemioloških podataka koji pokazuju pozitivne efekte antioksidanasa, njihova važnost i uloga poprimaju novu pozornost (Pichler, 2011.). Osim nutritivnih i senzorskih svojstava, hrana a posebno neki njezini sastojci imaju zaštitnu ulogu. Posebno je to slučaj s hranom koja sadrži prirodne antioksidanse.

Antioksidansi su tvari koje usporavaju procese oksidacije u organizmu. Neki od antioksidanasa su enzimi i proteini dok su drugi male molekule antioksidanasa. Vitamini i polifenoli su poznati kao prehrambene komponente u voću i povrću koje posjeduju antioksidativnu aktivnost (Pichler, 2011.). Fenolne tvari kao npr. vitamin E i flavonoidi su tipični antioksidansi.

Sastav jagodastog i bobičastog voća je od velikog interesa zbog sadržaja fenolnih tvari koje pozitivno utječu na zdravlje. Bobičasto voće, kojem pripada i malina, je važan izvor

antioksidanasa (Pichler, 2011.). Maline pokazuju visoki sadržaj fenolnih komponenata i visoku antioksidativnu aktivnost u usporedbi sa drugim biljnim sirovinama (Pichler, 2011.).

Uz prirodne antioksidanse razvijeni su i sintetski antioksidansi koji se u praksi koriste kao aditivi, nadomjesci i lijekovi, ali je opće prihvaćena činjenica da su prirodni antioksidansi vrijedniji, učinkovitiji i sigurniji od sintetskih.

Antioksidativna aktivnost ovisi ne samo o strukturnim svojstvima antioksidanatsa već i o mnogim drugim čimbenicima kao što su temperatura, svjetlost, tip supstrata, fizikalno stanje sistema, kao i o brojnim mikrokomponentama koje djeluju kao prooksidansi ili sinergisti (Pichler, 2011.).

Antocijani uvelike doprinose antioksidativnim svojstvima voća koje ga sadrži. Kao pigmenti odgovorni su za crvenu, plavu i ljubičastu boju. Cijanidin je najčešće prisutan antocijanidin, a 3-glukozid najaktivniji antioksidans. Glikozilacija i hidroksilacija kostura antocijanidina utječe na antioksidativnu aktivnost (Kopjar, 2007.).

Antioksidansi u hrani se mogu definirati kao bilo koji sastojak koji može odgoditi, zaustaviti ili spriječiti kvarenje hrane ili stvaranje nepoželjne arome kao posljedice oksidacije. Dodatak antioksidansa nakon tog vremena smatra se neučinkovitim s obzirom da je do kvarenja već došlo. Antioksidansi mogu inhibirati ili usporiti oksidaciju na dva načina: ili uklanjanjem slobodnih radikala, u tom slučaju se sastojak definira kao primarni antioksidans, ili mehanizmom koji ne uključuje direktno uklanjanje slobodnih radikala, u tom slučaju sastojak se definira kao sekundarni antioksidans. Primarni antioksidansi su fenolne tvari. Sekundarni antioksidansi djeluju putem različitih mehanizama. Uobičajeno je da sekundarni antioksidansi pokazuju antioksidativnu aktivnost samo u prisustvu neke druge manje komponente npr. limunska kiselina postaje aktivna samo u prisustvu metalnih iona, a askorbinska kiselina je aktivna u prisustvu tokoferola ili nekih drugih primarnih antioksidanasa (Pichler, 2011.).

Glavne reakcije degradacije su oksidacija i razgradnja oksidacijskih produkata što dovodi do smanjenja nutritivne vrijednosti i senzorske kvalitete. Zaustavljanje tih oksidacijskih procesa vrlo je bitno za proizvođače hrane odnosno za sve osobe uključene u prehrambeni lanac. Oksidacija se može inhibirati na različite načine kao što su uklanjanje kisika, upotreba niskih temperatura, inaktivacija enzima koji kataliziraju oksidaciju, upotreba prikladne ambalaže, itd..

Druge metode zaštite od oksidacije su upotreba specifičnih aditiva koji inhibiraju oksidaciju. Njihov pravilan naziv je inhibitori oksidacije ali danas češće se koristi naziv antioksidansi. Ovi inhibitori predstavljaju skupinu tvari različite kemijske strukture i različitog mehanizma djelovanja.

Najznačajniji mehanizam djelovanja antioksidanasa je njihova reakcija sa slobodnim radikalima lipida tvoreći tako inaktivne produkte. Aditivi s ovim svojstvom su antioksidansi u pravom smislu. Obično oni reagiraju s peroksi ili alkoksi slobodnim radikalima koji nastaju raspadanjem lipidnih hidroperoksida. Drugi inhibitori stabiliziraju lipidne hidroperokside sprečavajući njihovo raspadanje na slobodne radikale. Raspadanje hidroperoksida je katalizirano teškim metalima koji djeluju kao helirajući agensi inhibirajući oksidaciju. Neke tvari odnosno sinergisti posjeduju antioksidativnu aktivnost, ali mogu poboljšati aktivnost pravih antioksidanasa. Druga grupa spojeva razgrađuje lipidne hidroperokside ne stvarajući radikale već smanjujući sadržaj slobodnih radikala. Singleton kisik oksidira lipide mnogo brže nego triplet kisik, tako da tvari koje vežu singleton kisik imaju važan inhibirajući učinak na oksidaciju lipida.

Antioksidativna aktivnost ovisi o mnogo čimbenika kao što su sastav lipida, koncentracija antioksidansa, temperatura, prisustvo drugih antioksidansa i o drugim sastojcima hrane kao što su proteini i voda (Pichler, 2011.).

2.5.4. Gubitak antioksidanasa tijekom procesiranja i skladištenja hrane

Poznato je da se mnogi antioksidansi hrane značajno gube tijekom procesiranja hrane (sterilizacije, pasterizacije, dehidratacije), ali i tijekom skladištenja te rukovanjem hrane kod kuće i kuhanjem. Tijekom termičkog tretiranja hrane, osim što dolazi do gubitka nutritivne vrijednosti hrane, dolazi i do različitih kemijskih reakcija između sastojaka hrane, odnosno do kemijskih promjena koji su rezultat i Maillardovih reakcija. Ove reakcije, koje se događaju kondenzacijom šećera sa slobodnim amino kiselinima, proteinima ili peptidima, dovode do formiranja vrlo različitih smeđih melanoidina. Razvoj određenog stupnja posmeđivanja kao posljedice zagrijavanja je poželjno za mnoge prehrambene proizvode. Procesiranje, kao i kemijske reakcije koje mogu ali i ne moraju biti izazvane termičkim tretiranjem hrane mogu izazvati gubitak prirodnih antioksidansa u prehrambenim proizvodima. Iako se prirodni

antioksidansi gube tijekom zagrijavanja, sveukupna antioksidativna aktivnost nekog proizvoda se može zadržati ili čak i povećati stvaranjem novih antioksidanasa (Kopjar, 2007.). Sirovine koje se koriste za pripremu hrane već sadrže tvari koje inhibiraju oksidaciju lipida, ali se i drugi prirodni antioksidansi mogu dodati prije samog procesiranja. Tijekom posljednjih desetljeća razvio se veliki interes za prirodne antioksidanse zbog tendencije da se izbjegava upotreba umjetnih aditiva. Jedno od nepoželjnih svojstava prirodnih antioksidanasa jest njihova osjetljivost na kisik, a posebno prilikom izlaganja svjetlu, visokoj temperaturi i sušenju. Promjene antioksidansa se nastavljaju i tijekom skladištenja prehrambenih proizvoda.

Usprkos velikoj važnosti antioksidansa, malo je objavljenih podataka o njihovim promjenama, interakcijama s drugim sastojcima hrane i utjecaju tih promjena na otpornost hrane na oksidaciju. Općenito, aktivnost prirodnih antioksidansa uvelike ovisi o kompleksnosti hrane.

2.6. TVARI AROME

Kemijski gledano aroma voća je rezltat hlapljivih spojeva odgovornih za miris i nehlapljivih spojeva koji više utječu na okusni doživljaj voća, pa stoga pod samim pojmom arome podrazumijeva se doživljaj mirisnih i okusnih karakteristika (Pozderović, 1984.). U nehlapljive komponenete ubrajamo celulozu, šećere, proteine i slično, dok alkohole, etere, aldehide, ketone i sl. ubrajamo u hlapljive komponente. Kao jedna od najvažnijih kvalitetnih osobina aroma ima velik utjecaj na kvalitetu i prihvatljivost hrane (Kopjar, 2014.). Na aromu utječe niz čimbenika od kojih su najvažniji zrelost voća, vrsta voća, kemijski sastav voća i količina hlapljivih i nehlapljivih komponenti, temperatura i tehnološki procesi obrade u kojem aroma ovisi o kemijskim reakcijama između komponenti voća. Do danas istražene su mnoge tvari koje pridnose aromi voća, no ne može se sa sigurnošću utvrditi koji je od navedenih sastojaka nositelj pojedine arome (Weneen i Tjan, 1994.).

Vrijednost arome ili aromatičnost se definira kao kvocijent udjela tvari u namjernici i praga osjetljivosti mirisa (Web 7).

Aroma je svojstvena svakoj vrsti voća te, uz teksturu, uvelike utječe na organoleptičku i senzorku ocjenu voća (Heath, 1978.). Tvari arome nemaju biološku funkciju u biljkama, već većina tvari arome nastaje kao posljedica degradacijskih promjena (Kopjar,2014.).

2.6.1. Nositelji arome u voću

Aromatični sastojci nalaze se u različitim koncentracijama u voću i ovisno o tome pridonose aromatskom profilu voća. Obično se tvari arome detektiraju pri nižim koncentracijama nego što se prepoznaju (Kopjar, 2014.).

Aroma u voću može biti uzrokovana malim molekulama poput aldehida i ketona, velikim molekulama poput šećera i kiselina te interakcijom između malih i velikih molekula. Općenito aromatične tvari u voću su podložne isparavanju i sublimaciji te se najčešće izdvajaju procesom uparavanja.

Škrob i njegovi derivati osim kao aditivi primjenjuju se i 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.).

Male molekule kao što su alkoholi, aldehidi i kiseline su vrlo hlapljive molekule koje daju oštru, estersku, jaku, difuznu, kemijsku notu. Njihova nota je poželjna ukoliko su razrijeđeni. Veće molekule navedenih spojeva su blaže i poželjnije i u većim koncentracijama (Kopjar, 2014.).

Produžena alkilna skupina daje masnu odnosno uljnu notu (Kopjar, 2014) i često ju nalazimo u orašastim plodovima. Uljnoj noti mogu pridonjeti i ketoni. Ketoni odgovorni za aromu voća najčešće nastaju alkoholnom oksidacijom.

Milardovim reakcijama mogu nastati nepoželjne arome uzrokovane interakcijama među molekulama aminokiselina i šećera uz povišenu temperaturu (Klapec i Šarkanj, 2015.). Osim Milardovim reakcijama nepoželjne arome u voću mogu nastati i procesom fermentacije.

2.6.2. Podjela aromatičnih sastojaka u voću

Moslavac (2003) tvari arome stavlja u sljedeće kategorije:

- aromatski kompleks karakterističan za odliku voća u kojemu je kemijski kompleks arome karakterističan za određenu vrstu voće,
- aromatski kompleks karakterističan za vrstu voća gdje prisutnost kemijskog spoja daje određenu karakteristiku sorte te se bez njegovog prisustva ne dobiva prepoznatljiva aroma sorte,
- opći aromatski kompleks koji čine teže aromatične tvari koje se u većini slučajeva zadržavaju i preradom,
- nosači arome su tvari poput voskova ili lipida koji predstavljaju otapalo za pojedine aromatske komponente,
- nepoželjni aromatski kompleks koji čine tvari nastale fermentacijom ili drugim nepoželjnim kemijskim reakcijama.

Također budući da su tvari arome često hlapljive komponente možemo ih podijeliti i prema hlapljivosti na sljedeće skupine

- lako hlapljive komponente,
- srednje hlapljive komponente i
- slabo hlapljive komponente.

Tvari arome ne mogu se podijeliti prema kemijskoj strukturi jer svrstavanje pojedinog sastojka pojedinoj kemijskoj skupini ne predstavlja uvjet za određeni aromatski karakter. Ista funkcionalna skupina može davati različita aromatska svojstva pa su tako npr. ketoni zbog posjedovanja dvije slobodne grupe daju jaču aromu nego aldehidi koji posjeduju jednu slobodnu skupinu iako oba spoja imaju istu CHO funkcionalnu skupinu.

2.6.3. Biosinteza aromatičnih tvari u voću

Biosinteza je proces koji uključuje izmjenu tvari složenim kemijskim i biokemijskim reakcijama u tkivima biljaka. Biosinteza se događa u zrelom i prezrelom voću gdje se metaboličkim putem iz živih stanica voća i njihovih razgradnih produkata stvaraju različiti hlapljivi i nehlapljivi aromatični sastojci poput estera, alkohola, spojeva sa sumporom, terpena i karbonilnih spojeva (Pichler, 2011.).

Biosintezu aromatičnih tvari Moslavac (2003) dijeli na primarne tvari arome voća i povrća koje uključuju produkte izmjene tvari djelovanjem enzima tijekom zrenja iz prekusora arome i sekundarne tvari arome voća i povrća koje nastaju kao posljedica hidrolitičkih i oksidacijskih reakcija aromatičnih tvari. Preksusori arome maline su mnogobrojni, a među najvažnijaima su glikospojevi, deoksiglukozoni kao intermedijari u Milardovim reacijama i važni u formiranju pirazina, geranil pirofosfat za pirazine i furane (Pichler, 2011.; Čović, 2010.).

Na vrstu i količinu nastalih tvari utječu kemijska struktura i koncentracija prekusora arome, enzimi, temperatura, vanjski čimbenici i sl (Forgacs i Cserhati,2003.).

2.6.4. Promjene arome tijekom procesa prerade

Proces prerade općenito intenzivira tvari arome jer tijekom prerade dolazi do usitnjavanja voća čime se razaraju stanice te aromatične tvari migriraju iz ploda u sok u kojem se daljnjim tehnološkim procesima dodatno aktiviraju.

Za tvorbu aromatskih spojeva najznačajniji su procesi toplinske obrade koji se provode u cilju dobivanja i pojačavanja arome, ali i konzerviranja proizvoda. Budući da je većina aromataskih sastojaka termolabilna, procese treba provoditi kontinuirano na temperaturama koje optimalno djeluju na oslobađanje aromatičnih sastojaka te u što kraćem vremenu. Važnu ulogu ima i kisik koji sudjeluje u procesima oksidacije i hidrolize (Čović, 2010.). Ukoliko se proces prerade ne provodi pravilno, može doći i do gubitka arome zbog podložnosti hlapljenja i sublimacije određenih sastojaka, ali i stvaranja neugodne arome procesima poput fermentacije, Milardovih reakcija ili Steckerove razgradnje aminokiselina (Čović, 2010.).

2.6.5. Tvari arome maline

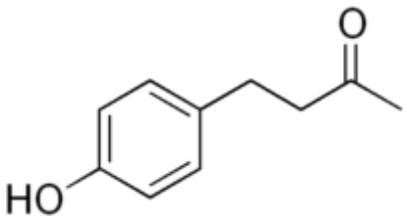
Zbog povećanog izvoza maline te razvoja novih proizvoda na bazi njene arome, aroma je definirana kroz niz istraživanje gdje su proučavani njeni sastojci. Prema **Tablici 5** vidimo da aroma maline najviše ovisi o terpenoidima, aldehdima i ketonima (Forgacs i Cserhati,2003.).

Tablica 5 Tvari arome maline (Fogacs i Cserhati, 2003.)

Tvari arome	**Udio (%)**
Ketoni i aldehidi	27
Terpenoidi	30
Alkoholi	23
Esteri	13
Furanoni	15

Velika prisutnost ketona bitan je čimbenik u proizvodnji proizvoda od maline jer se oni uvijek dodaju kada treba intenzivirati aromu maline. Također degradirano tkivo proizvodi velike količine acetaldehida (Casabianca i Graff, 1994.).

Aroma maline općenito opisana je kao mješavina nekoliko mirisnih nota: ananas, limun, cvjetni misrisi, ljubičice. Za miris maline najznačajniji je keton maline (**Slika 12**) čija je prisutnost 3 puta veća u divljih sorti nego kultiviranih (Čović,2010.).



Slika 12 Keton maline (Web 8)

Aroma kultiviranih sorti malina

Marsse (1991) navodi da je aroma kultiviranih sorti maline određena prisustvom fenolnog ketona 1-(-4-hidroksifenil)-3-butanonom udruženim s iononima, β-demascenenom te mestifuranonom. Fenolni keton 1-(-4-hidroksifenil)-3-butanonon se naziva keton maline i otakriven je 1921. Godine. To je crveno obojena tvar koja lako kristalizira na temperaturi tališta od 82°C s intenzivnim karakterom koji podsjeća na konzervirane maline (Marsse, 1991.).

Jononi su bistre do žućkaste tekućine temperature tališta 126-128°C koje karakterizira tipičan cvjetni miris na ljubičicu (Web 8). Razlikujemo dva oblika α i β- jonone. A-jonon ima snažniji cvjetni miris te se u malini nalazi u čistom stanju u obliku L i D-izomera i služi za identifikaciju arome maline. Aroma je karaktristična za svaku vrstu i podvrstu, a na nju također utječu i esteri i laktoni (Maarse, 1991.).

Tvari arome divlje maline

Općenito možemo reći da je aroma divljih vrsta izraženija nego ona kuliviranih. Mahler i Qian (2006) su u divljoj malini identificirali veći udio kiselina te pronašli razliku između kemijskog sastava. Naime, pronađene su 3-metil i 3-metil-3-butanska kiselina i veći udio alkohola. Zbog većeg udjela hlapljivih tvari veće su i promjene prilikom tehnoloških procesa.

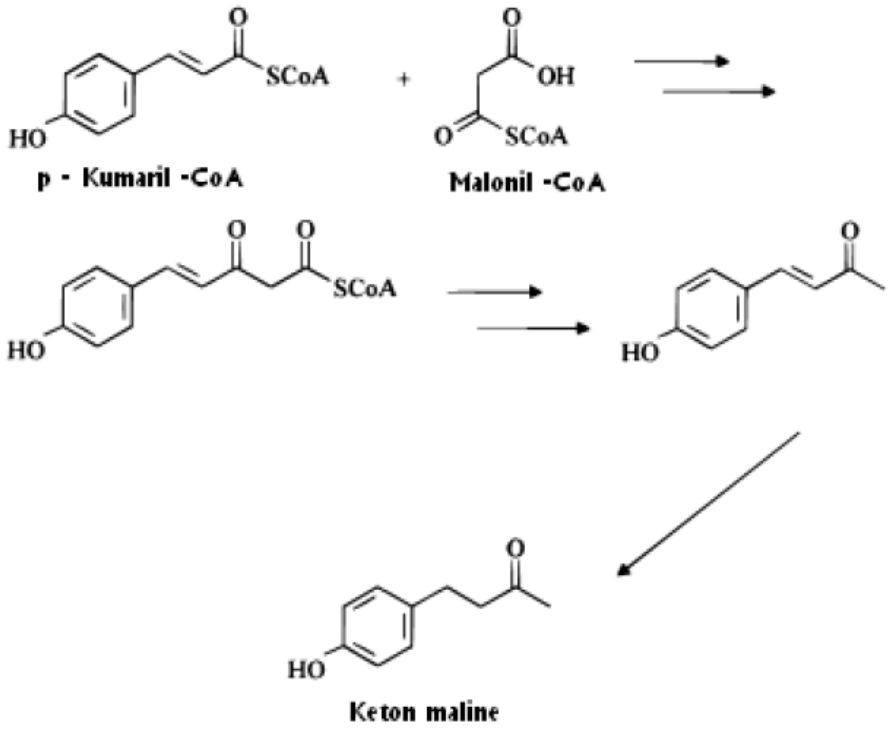
Čović (2010) navodi i prisustvo mnogih fenola poput eugenola, 4-vinilfenola, 2-metoksi-4-vinilfenola, 2-metoksi-5-vinilfenola, 3,4-dimetilbenaldehida, (E)-cinamil alkohola te 4-(3-metoksi-4-hidroksifenil)-butan-2-ona. Nadalje, divlja malina sadrži manji udio α i β jonona,ali je udio hlapljivih tvari 3-4 puta veći.

Unatoč benifitima u vidu arome, divlja malina se slabije koristi u prehrambenoj industriji zbog većih zahtjeva za uzgoj i manjeg prinosa.

2.6.6. Biosinteza tvari arome maline

Ekonomski značaj maline doprinosi većem broju istaživanja biosinteze spojeva arome. Shamaila i sur. (1993) proučavali su senzorsku, kemijsku i plinski evaluaciju različitih sorti maline (Chicotin, Chilliwack, Skeena i Tulameen) u kojem su pomoću plinske kromatografije intentificirali niz sastojaka od kojih su najzastupljeniji α-piren, sabinen, Y-piren, α jonon, β jonon i kariofilen. Udio hlapljivih, izražen u postotcima, ovisio je od sorti te je utvrđeno da najveći postotak zauzima benzaldehid (11-31,8%), Y-piren (12,2-20 %), etil heptanon (4-11,5%), β-mircen (13,2-15,2%) te α-piren (4-11,5%), dok se ostali satojci nalaze u koncentracijama ispod 1%.

Značajno je bilo i proučavanje biosinteze ketona maline koji su u svom radu prikazali Borejsza –Wyscok i Hrazdina (1994.).



Slika 13 Biosinteza ketona maline (Pichler, 2011.)

Za biosintezu su bili značajna dva enzima, p-hidroksifenilbut-3-en-2-on sintaza i p-hidroksifenil-but-3-en-2-on reduktaza. Istraživanje je potvrdilo aktivnost oba enzima u ekstkaktu soka i tkiva, a produkti njihovih reakcija identificirani su HPLC metodom.

2.7. ODREĐIVANJE SASTOJAKA AROME PLINSKOM KROMATOGRAFIJOM

2.7.1. Plinska kromatografija

Kromatografija je fizikalna metoda separacije u kojoj se sastojci smjese raspodjeljuju između dviju faza, od kojih je jedna uvijek stacionarna, a druga pokretna (mobilna) (Cerjan-Stefanović i sur., 1999.). Postojanje stacionarne i mobilne faze glavo je obilježje svih koromatografskih metoda. Mobilna faza je plinovita, tekuća ili tekućina u superkritičnim uvjetima te joj je cilj prenositi komponente uzorka kroz stacionarnu fazu koja je u formi gela ili tekućine (ali čvršća od mobilne faze), a odjeljivanje dvaju faza se temelji na razlikama u brzini kretanja komponenti kroz stacionarnu fazu (Čupurdija, 2008.).

Kromatografija se koristi u svrhu:

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

Kromatografske metode mogu se podjeliti prema obliku kromatografske metode na plošnu i kolonsku kromatografiju te prema tipovima mobilnih i stacionarnih faza na plinsku kromatografiju (GC), tekućinsku kromatografiju (LC, HPLC) i fluidnu kromatografiju u superkritičnim uvjetima.

Plinska kromatografija (GC) je metoda razdjeljivanja višekomponentnih sustava pomoću kapilarne kolone koja je podvrgnuta određenoj temperaturi ili temperaturnom rasponu, a kao mobilna faza se koristi inertni plin. Na taj način se, na odgovarajućoj koloni, mogu vrlo

uspješno razdvojiti smjese tvari. U plinskoj kromatografiji uzorak se injektira na početak kromatografske kolone, gdje isparava bez raspada (Cerjan-Stefanović i sur., 1999.)

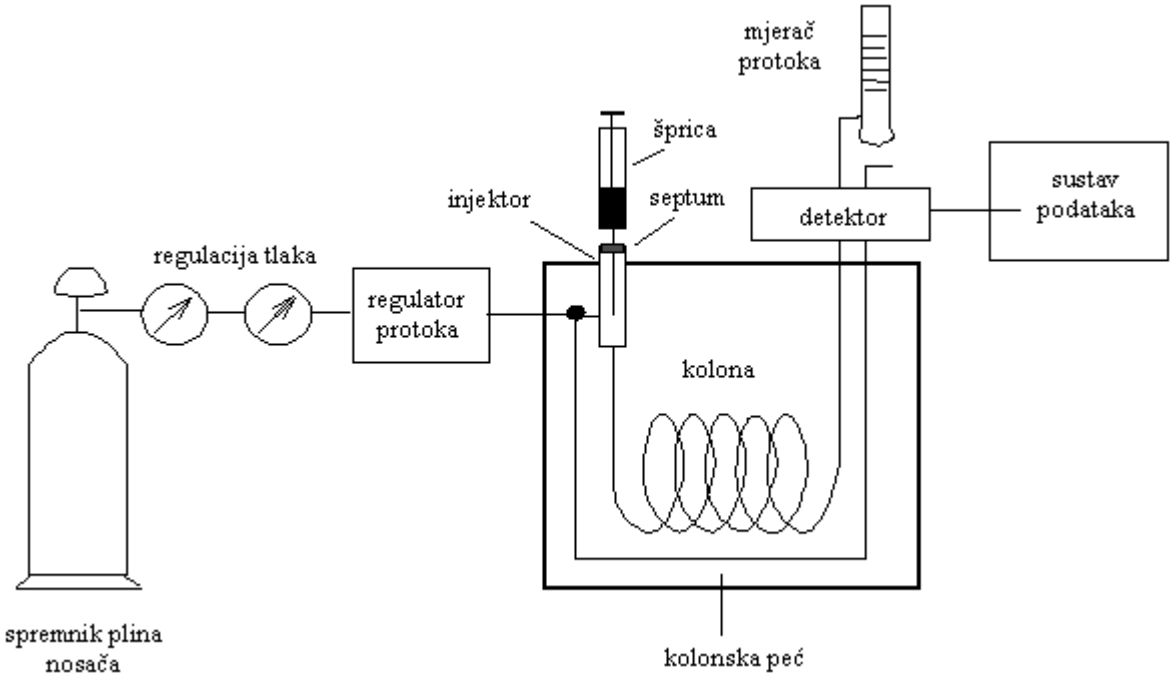
Odvajanje koponenata smjese može se provesti na sljedeće načine:

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

Analizirana tvar ne reagira s mobilnom fazom te zbog toga njegova brzina kretanja kroz kolonu ne ovisi o kemijskoj strukturi mobilne faze. Stacionarna faza odjeljuje komponente različitih molekulskih masa. Kod molekula male molekulske mase za odjeljivanje komponenti koristi se čvrsta tvar velike specifične površine na koju se adsorbiraju analizirane komponente. Kod molekula velike molekulske mase za odjeljivanje komponenti koristi se tekuća faza nanesena na površinu čvrstog nosača adsorpcijom ili kemijskim vezanjem. Eluiranje se obavlja pomoću protoka inertnog plina kao mobilne faze. Analizirana tvar se ubrizgava kao tekućina koja zbog visoke temperature u kromatografu prelazi u plinovito stanje. Temperatura ulaza instrumenta postavlja se za 50°C višu temperaturu od temperature vrelišta najslabije hlapljive komponente iz analizirane smjese (Cerjan-Stefanović i sur., 1999.).

Uređaj u kojem se vrši plinska kromatografiranja naziva se plinski kromatograf (**Slika 14**) čine ga sljedeći djelovi:

- spremnik plina nosača koji može biti boca ili generator,
- uređaj za unošenje uzorka (injektor sa špricom i septumom),
- kromatografska kolona smještena u prostoru peći,
- detekror koji utvrđuje određenu komponentu u struji plina nosača i
- sustav za ispis podataka (Deur–Šiftar, 1973.).



Slika 14 Kromatograf (Deur-Šiftar, 1973.)

Plin nositelj

Plin nositelj može biti bilo koji kemijski inertan plin, no najčešće se koriste helij, dušik i vodik pri čemu izbor ovisi o vrsti detektora koji se na plinskoj kromatografiji upotrebljava. Helij se upotrebljava uz detektore s toplinskom vodljivošću, a dušik uz detektor s plamenom ionizacijom (Deur-Šiftar, 1973.). Nadalje plin treba biti suh i pročišćen kako ne bi došlo do oštećenja uređaja, ne smije sadržavati ugljikovodike, mora imati reguliran tlak i protok te biti što jeftiniji (Moslavac, 2003.).

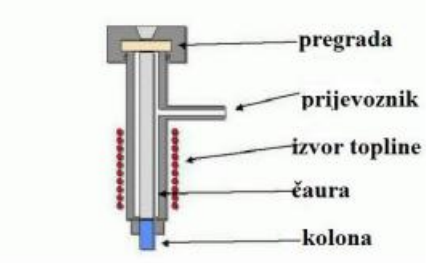
Plin nositelj, za razliku od mobilne faze u drugim tipovima kromatografije, nema interakcija s analiziranim komponentama nego ima ulogu transportnog sredstva (nosača) za komponente. Inertni plinovi se u ovom načinu analize koriste jer pri visokim temperaturama ne reagiraju s analiziranim komponentama iz smjese pa tako fizikalna i kemijska svojstva komponenti ostaju konstantna. Plin nosilac ne smije prebrzo nositi uzorak kroz kolonu jer se time smanjuje vrijeme za uspostavljanje ravnoteže među fazama, a time i vjerojatnosti odvajanja komponenti smjese. Ukoliko se prijenos odvija presporo dolazi do difuzije molekula plina i uzoraka u svim smjerovima, što rezultira izlaženjem komponenti u širem vremenskom intervalu. Za njega je karakterističan protok i tlak plina što se isto može staviti u odgovarajući

režim ili da jedan od parametara jednostavno ostane konstantan. Na taj način kromatograf može raditi pri konstantnom tlaku ili pri konstantnom protoku. Zbog temperaturnog režima oba parametra ne mogu istovremeno biti konstantni. Temperatura mjesta gdje se unosi uzorak mora biti konstantna (Deur-Šiftar, 1973.).

Injektor

Injektor (**Slika 15**) je uređaj za unošenje uzorka koji je spojen s kolonom, a može biti izravni, premosni, kolonski te injektor s isparivačem (Cerjan-Stefanović i sur., 1999.). Temperatura injektora mora biti viša od temperature kolone. Najčešće se radi o vrlo visokim temperaturama (150°C-290°C) što omogućava nagli prelazak tekućeg uzorka u plinovito agregatno stanje (Čupurdija, 2008.).

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



Slika 15 Injektor (Čapurdija, 2008.)

Kromatografske kolone

Kromatografska kolona predstavlja osnovu kromatografskog sustava. Smještena u termostatiranoj pećnici s mogućnošću zagrijavanja i kontrole temperature. Može biti izrađena od različitih materijala poput metala, plastike, stakla ili kvarca. Kao nosači koriste se inertne tvari, otporne na visoke temperature koje se sastoje od kuglastih zrnaca jednolične granulacije i malog promjera koje ne apsorbiraju sastojke uzorka. Kolone se dijele na

- preparativne;
- analitičke,

- punjene,
- mikropunjene i
- kapilarne (Deur-Šiftar, 1973.).

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

Kolona je definirana duljinom, promjerom i debljinom adsorpcijskog filma. Dimenzije kapilarnih kolona se kreću od 15m-60m, promjeri kolona kao i adsorbirani film mogu biti 0.25µm-0.50µm. Kolona se izabire prema grupama spojeva koji se analiziraju (Čupurdija, 2008.). Uporabom duljih kolona povećava se razmak među odijeljenim sastojcima smjese tako da se mogu odjeliti i sastojci koji izlaze zajedno. Duljina kolone ograničena je jakim padom tlaka i protoka kolone. Bolja djelotvornost kolone postiže se smanjenjem njezina promjera. Poznavajući sastav smjese koju kromatografiramo na osnovu podataka iz literature može se predvidjeti koju tekuću nepokretnu fazu treba upotrijebiti. Efikasnost kolone ovisi o tome koliko se puta uspostavlja ravnoteža između nepokretne i pokretne faze (Deur-Šiftar, 1973.)

Temperatura

Za svaku vrstu spojeva postoji optimalna temperatura na kojoj se odabrana kolona najbolje razdvaja. Ta temperatura približno je jednaka vrelištu odjeljivanog uzorka. Prihvatljivo vrijeme eluiranja (2-30 min) postiže se pri temperaturi jednakoj prosječnom vrelištu uzorka ili višoj. Povišenjem temperature smanjuje se vrijeme eluiranja (Moslavac, 2003.).

Detektor

Detektor je uređaj koji mjeri promjenu u sastavu eluata mjerenjem fizikalnih i kemijskih svojstava (Cerjan-Stefanović i sur., 1999.). Detektori u plinskoj kromatografiji s obzirom na selektivnost mogu biti:

- univerzalni – detektiraju svaki sastojak u eluatu osim za čistu mobilnu fazu npr. detektor toplinske vodljivosti

- selektivni – daju odziv samo na određene grupe komponenata u eluatu npr. plameno-ionizacijski detektor, alkalijski plameno-ionizacijski detektor, detektor zahvata elektrona, foto-ionizacijski detektor, plameno fotometrijski detektor, detektor elektrolitiĉke vodljivosti.

2.7.2. Spektrofotometrijske metode

Spektroskopske metode zasnivaju se na analizi energije elektromagnetskog zračenja koju ispitivana tvar emitira ili apsorbira. Kod apsorbcijskih metoda analizirana tvar apsorbira energiju i iz osnovnog stanja prelazi u pobuđeno stanje. Kod emitirajućih metoda analizirana tvar predaje energiju i iz pobuđenog stanja vraća se u osnovno stanje.

Spektometar masa sastoji se od sustava za uvođenje uzorka, ionskog izvora, masenog analizatora i detekcijskog sustava. U uređaju se analizirana tvar bombardira snopom elektrona i dolazi do ionizacije zbog kidanja kemijskih veza pri čemu se tvar razlaže na ione i fragmente karakteristične za svoju vrstu. Nastale tvari se u analizatoru masa analiziraju djelovanjem magnetnog i električnog polja prema odnosu mase i naboja što omogućava mjerenje relativne količine iona.

Spektar masa predstavlja dijagram sa relativnim intenzitetima signala za različite odnose naboja i mase te predstavlja karakteristiku spoja. Na osnovu dobivenog broja tvar se analizira, a ukupni spektar smjese je rezultat linearnog zbrajanja komponenata (Young i sur., 1996.).

SPME analize

SPME analiza razvijena je u 20. stoljeću i predstavlja miroekspresiju na čvrstoj fazi. Sastoji se iz dvije faze - adsorpcije i desorpcije. Na analizu utječu vrsta uzorka, vrijeme ekstrakcije, ionska jakost, pH, temperatura estrakcije i desorpcije te vrijeme desorpcije.

Zbog ekonomske prihvatljivosti ima široku primjenu u prehrambenoj industriji, a najviše se koristi u analizi vina i alkoholnih pića. Širokoj primjeni pridonosi i jednostavna aparatura koja se sastoji od kućišta u kojem se nalazi igla koja štiti punilo tijekom upotrebe i čuvanja. Proces

je vrlo brz jer se odvija u jednoj fazi. Jedini nedostatak je stroga kontola temperature i vremena adsorpcije koji direktno utječu na pouzdanost rezultata.

Tehnika kombinira estrakciju i koncentriranje pa je omogućen direktan prijenos adsorbiranih sastojaka na injektor plinskog kromatografa te se spriječava ulazak kisika i vlage u kolonu.

Osim navedenih faktora, na točnost analize utječe i sol jer se osjetljivost SPME tehnike značajno mijenja s povećanjem njene koncentracije. Utjecaj na aromatične sastojke može biti različit pa tako sol može povećavati adsorpciju (benzaldehid), smanjivati (limonen), povećavati na početku, a kod veće koncentracije zaustavljati adsorpciju (etil-acetat) ili povećavati na početku, a kod veće koncentracije smanjivati (kapronska kiselina) (Pichler, 2011.).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Istražiti pripravu 9 različitih pasta od maline 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 kaše i paste od maline

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

- kaša maline i 27% saharoze (S),
- kaša maline, 17% saharoze i 10% fruktoze (SF),
- kaša maline, 25,4% saharoze i 1,6% trehaloze (ST),
- kaša maline, 27% saharoze i 1% hidroksipropiliranog škroba tapioke,
- kaša maline, 27% saharoze i 1% hidroksipropil di-škrob fosfata voštanog kukuruza ,
- kaša maline, 17% saharoze, 10 %fruktoze i 1%hidroksipropiliranog škroba tapioke,
- kaša maline,17% saharoze, 10% fruktoze i 1% hidroksipropil di-škrob fosfata voštanog kukuruza ,
- kaša maline, 25,4% saharoze, 1,6% fruktoze i 1% hidroksipropiliranog škroba tapioke,
- kaša maline,25,4% saharoze, 1,6% fruktoze i 1% hidroksipropil di-škrob fosfata voštanog kukuruza.

Tako dobivene smjese sirovina korištene su za pripremu pasta od maline termičkom obradom. Smjesa je zagrijavana 15 minuta na 80°C uz konstantno miješanje. Nakon toga je

još vruća pasta punjena u sterilne bočice od 0,2 L, zatvarana i pasterizirana u vodenoj kupelji na 85°C, 15 min.

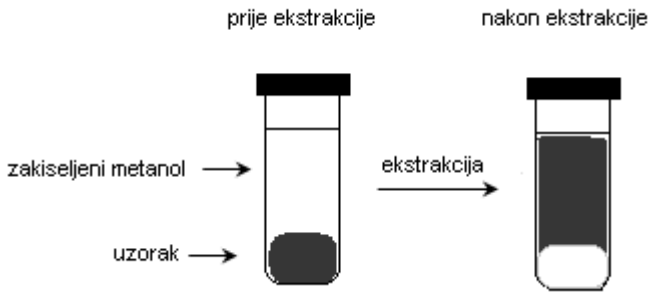
Dodaci:

- saharoza,
- fruktoza, 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 tvari boje i arome u pastama od maline

Ekstrakcija uzoraka

Uzorci su ekstrahirani sa zakiseljenim metanolom (metanol:koncentrirana HCl=49:1). Izvagano je 0,2 g uzorka u kivetu, te je dodano 1,2 mL zakiseljenog metanola te se vršila ekstrakcija na sobnoj temperaturi 60 min. Nakon toga su uzorci centrifugirani 5 min pri 12000 okretaja. Ekstrakt je korišten za određivanje antocijana, polifenola, degradacije antocijana i antioksidativne aktivnosti.



Slika 16 Ekstrakcija uzorka paste od maline (Pichler, 2011.).

3.2.3. Određivanje sadržaja antocijana

Za određivanje antocijana primijenjena je pH-diferencijalna metoda. pH-diferencijalna metoda se zasniva na strukturnoj transformaciji kromofora antocijana u ovisnosti o promjeni pH. Antocijani podliježu reverzibilnoj strukturnoj transformaciji s promjenom pH koja se manifestira promjenom spektra absorbancije. Metoda omogućava brzo i točno mjerenje ukupnih antocijana, bez obzira na prisutnost polimeriziranih, degradiranih pigmenata i drugih tvari koje bi mogle smetati.

Antocijani su određivani metodom prema Giusti i Wrolstadu (2001.) s malom modifikacijom. Otpipetirano je 0,2 mL ekstrakta uzorka u dvije kivete, u jednu je dodano 1 mL pufera pH 1, a u drugu 1 mL pufera pH 4,5. Nakon stajanja od 15 min uzorcima je pomoću spektrofotometra mjerena absorbanca pri valnim duljinama od 508 nm i 700 nm. Sadržaj antocijana je izračunat prema slijedećoj formuli:

$$c_{(antocijana)}\ (mg/kg) = (A \times M \times FR \times 1000) / \varepsilon \times l$$

gdje je:

A-absorbancija uzorka, a izračunava se prema izrazu:

$A = (A_{508} - A_{700})_{pH\ 1} - (A_{508} - A_{700})_{pH\ 4,5}$

M-449,2

FR-faktor razrjeđenja

ε-molarna absorptivnost; 26 900

l-duljina kivete; 1 cm

(M i ε su uzeti za dominantnu vrstu antocijanina odnosno za cijanidin-3-glukozida).

3.2.4. Određivanje polimerne boje

Polimerna boja odnosno smanjenje intenziteta crvene boje (A_{508}) i povećanje posmeđivanja (A_{420}) se izračunava prema formuli:

Gustoća boje kontrolnog uzorka (tretiranog vodom):

$\text{Gustoća boje} = [(A_{420} - A_{700}) + (A_{508} - A_{700})] \times FR$

Boja nastala polimerizacijom (uzorak tretiran bisulfitom):

Boja nastala polimerizacijom = $[(A_{420}–A_{700})+(A_{508}–A_{700})$ x FR

FR–faktor razrjeđenja

% boje nastale polimerizacijom=boja nastala polimerizacijom/gustoća boje x 100

Određivanje sadržaja polifenolnih spojeva

Koncentracija ukupnih fenola se određuje Folin-Ciocalteu metodom. Folin-Ciocalteu metoda temelji na kolornoj reakciji fenola s Folin-Ciocalteu reagensom, te mjerenjem nastalog intenziteta obojenja (apsorbance) pri valnoj duljini od 765 nm (Ough i Amerine, 1988). Folin-Ciocalteu reagens je smjesa fosfowolframove i fosfomolibden kiseline a pri oksidaciji fenolnih tvari ove kiseline se reduciraju u wolframov oksid i molibdenov oksid koji su plavo obojeni. Folin-Ciocalteu reagens (1:10) pripremljen je tako da je otpipetirano 3,3 ml Folin-Ciocalteu reagensa u odmjernu tikvicu od 100 ml i do oznake dopunjeno s destiliranom vodom. Otpipetirano je 0,2 ml uzorka soka određenog razrijeđenja, te dodano 1,8 ml destilirane vode, 10 ml Folin-Ciocalteu reagensa te nakon stajanja 30 sekundi do 8 minuta dodano 8 ml 7,5 % Na_2CO_3 (ukupni volumen mora biti 20 ml). Za slijepu probu otpipetira se 2 ml destilirane vode u epruvetu, te doda 10 ml Folin-Ciocalteu reagensa i 8 ml 7,5 % Na_2CO_3. Nakon stajanja u mračnom prostoru 2-20 sati, pri čemu dolazi do razvijanja boje, mjeri se apsorbanca na spektrofotometru pri valnoj duljini od 765 nm. Sadržaj polifenolnih spojeva je interpoliran pomoću kalibracijske krivulje galne kiseline i izražen u g galne kiseline/L uzorka.

Određivanje antioksidativne aktivnosti

Glavni mehanizam djelovanja antioksidansa u hrani je uklanjanje radikala. Voće i povrće, kao jedna od važnijih komponenti uravnotežene prehrane, glavni su izvor antioksidanasa potrebnih ljudskom organizmu.

Nekoliko metoda je razvijeno za određivanje antioksidativne aktivnosti na osnovi uklanjanja sintetskih radikala u polarnom organskom otapalu (npr. metanolu) pri sobnoj temperaturi. One koje su najčešće koriste 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) i 2, 2'-azinobis (3-etilbenztiazolin-sulfonska kiselina) (ABTS) radikale.

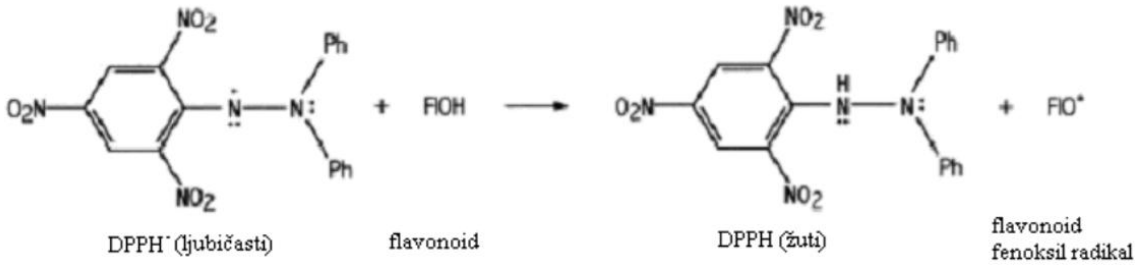
Antioksidativna aktivnost je određivana primjenom 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) reagensa. Kod DPPH testa, uklanjanje DPPH radikala je praćeno smanjenjem absorbancije na

515 nm, do koje dolazi zbog smanjenja količine antioksidansa (AH) ili reakcije s radikalima ($R^{\cdot}$).

Prva reakcija s DPPH radikalima odvija se s nekom od fenolnih tvari, ali spora sekundarna reakcija može izazvati progresivno smanjenje absorbance, te se ravnotežno stanje ne može postići nekoliko sati.

$DPPH^{\cdot} + AH \rightarrow DPPH\text{-}H + A^{\cdot}$

$DPPH^{\cdot} + R^{\cdot} \rightarrow DPPH\text{-}R$



Slika 17 Reakcije DPPH radikala s flavonoidima (Haenen i sur.,1997.)

Za određivanje antioksidativne aktivnosti primjenjena je metoda po Shimadu i sur. (1992.) s malim modifikacijama (Shimada i sur., 1992.). U kivetu je otpipetirano 0,2 mL uzorka, 2 mL metanola i 1 mL otopine DPPH. Reakcijska smjesa je ostavljena stajati 15 min te je absorbancija mjerena na spektrofotometru pri valnoj duljini od 517 nm. Za slijepu probu umjesto uzorka dodan je metanol.

Antioksidativna aktivnost je izračunata prema slijedećem izrazu:

$$aa\ (\%) = \left(1 - \frac{A_1}{A_0}\right) * 100$$

gdje je:

A_0–absorbancija slijepe probe

A_1–absorbancija uzorka

Analiza arome pasta od maline plinskom kromatografijom primjenom SPME analize

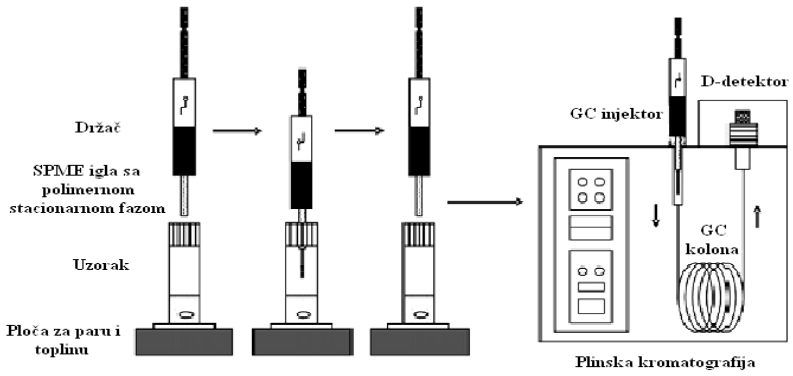
Priprema uzorka za analizu:

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

Postupak

U bočicu od 10 ml odvaže se 5 g uzorka paste maline. Doda se 1 g NaCl radi bolje adsorpcije aromatičnih sastojaka. U bočicu se ubaci magnet te se hermetički zatvori teflonskim čepom. Bočica se postavi u posudu s vodom te se, uz stalno miješanje uzorka magnetskom miješalicom, aromatični sastojci adsorbiraju na polimernu stacionarnu fazu (unutar igle). Prije samog ispuštanja igle u nadprostor uzorka, uzorak se 10 min 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 min. Po završetku adsorpcije igla s adsorbiranim sastojcima odmah se stavlja u injektor plinskog kromatografa te slijedi njihova toplinska desorpcija (**Slika 18**).

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



Slika 18 Korištenje SPME metode

Uvjeti rada plinskog kromatografa

Parametri ekstrakcije:

Temperatura ekstrakcije: 25˚C,

Vrijeme ekstrakcije: 25 min,

Tip mikroekstrakcije igle: 100 µm PDMS (Supelco).

GC–MS analitički uvjeti:

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

Početna temperatura: 40˚C (5 min),

Temperaturni gradijent: 4˚C/ min,

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

Konačna temperatura: 230˚C,

Temperatura injektora: 250˚C,

Temperatura detektora: 280˚C,

Desorpcija uzorka u injektor: 5 min.

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

4. REZULTATI

4.1. TABLIČNI PRIKAZ ANALIZOM DOBIVENIH REZULTATA

Tablica 6 Utjecaj dodataka različitih šećera (pojedinačno i u smjesama) na promjenu koncentracije antocijana i polifenola, polimerne boje i antioksidativne aktivnosti

	Paste od maline				
	Polazna kaša maline	Pasta bez dodataka	S	SF	ST
Polifenoli (mg/g)		$1,54^{a}$±1,08	$2,71^{b}$±0,17	$2,71^{b}$±0,44	$3,18^{c}$±0,29
Antocijani (mg/100g)	$98,09^{e}$±1,64	$38,21^{a}$±1,35	$45,65^{b}$±1,47	$51,25^{c}$±1,29	$66,49^{d}$±1,61
Polimerna boja %	$8,10^{a}$±0,09	$21,64^{d}$±0,59	$19,57^{c}$±0,35	$18,69^{c}$±0,74	$13,63^{b}$±1,54
Antioksidacijska aktivnost %		$87,76^{a}$±0,91	$87,87^{a}$±0,73	$88,64^{b}$±0,03	$89,58^{c}$±0,29

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

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

Tablica 7 Utjecaj dodataka različitih šećera i modificiranih škrobova na promjenu koncentracije antocijana i polifenola, polimerne boje i antioksidativne aktivnosti

	Paste od maline					
	S+MŠT	S+MŠVK	SF+MŠT	SF+MŠVK	ST+MŠT	ST+MŠVK
Polifenoli (mg/g)	$2,81^{a}$±0,21	$3,01^{b}$±0,02	$3,24^{c}$±0,19	$3,31^{d}$±0,07	$3,49^{e}$±0,21	$4,05^{f}$±0,48
Antocijani (mg/100g)	$52,75^{a}$±0,86	$60,89^{b}$±1,71	$73,19^{c}$±1,21	$74,30^{c}$±1,75	$81,01^{d}$±1,29	$85,41^{e}$±1,69
Polimerna boja %	$15,73^{c}$±0,27	$15,69^{c}$±0,71	$13,32^{b}$±0,31	$12,43^{a,b}$±1,72	$12,00^{a,b}$±1,48	$11,25^{a}$±0,97
Antioksidacijska aktivnost %	$88,11^{a}$±1,02	$88,85^{b}$±0,24	$89,42^{c}$±0,95	$90,39^{d}$±1,27	$91,04^{e}$±0,52	$92,12^{f}$±0,72

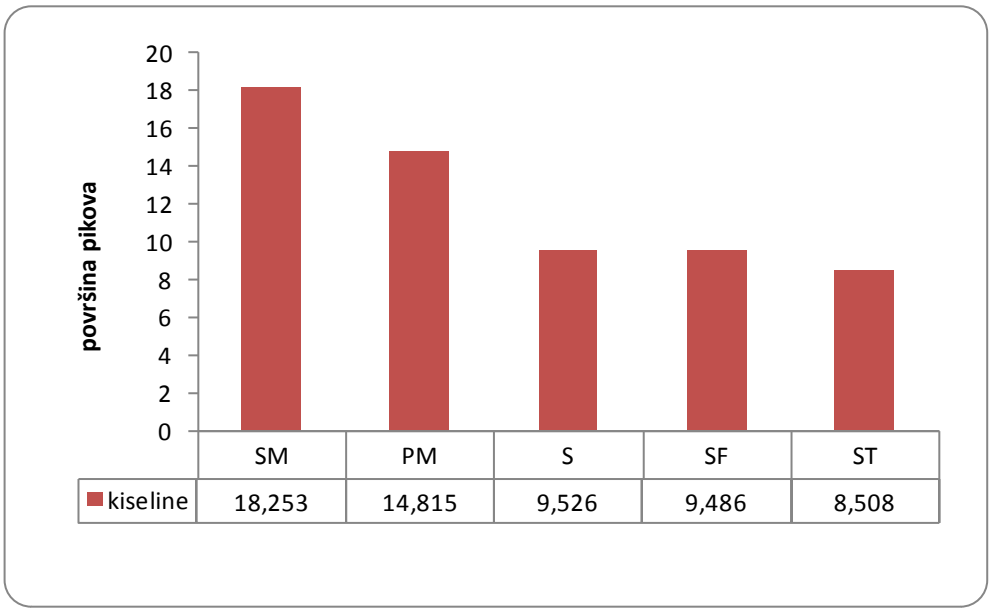
(S, saharoza; F, fruktoza; T, trehaloza; MŠT–modificirani škrob tapioke; MŠVK–modificirani škrob voštanog kukuruza)

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

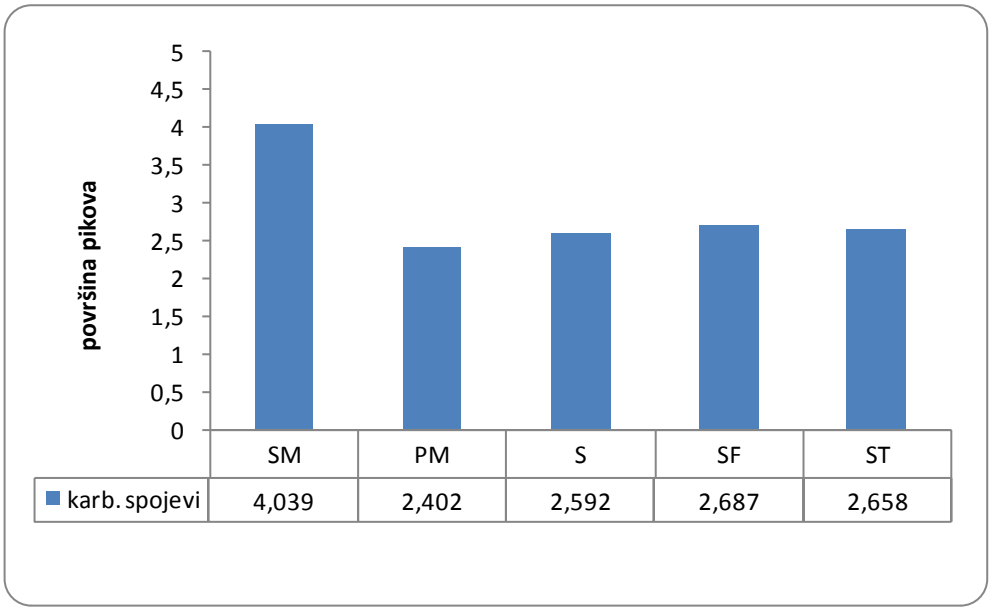
Tablica 8 Aromatični sastojci identificirani u pastama maline

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

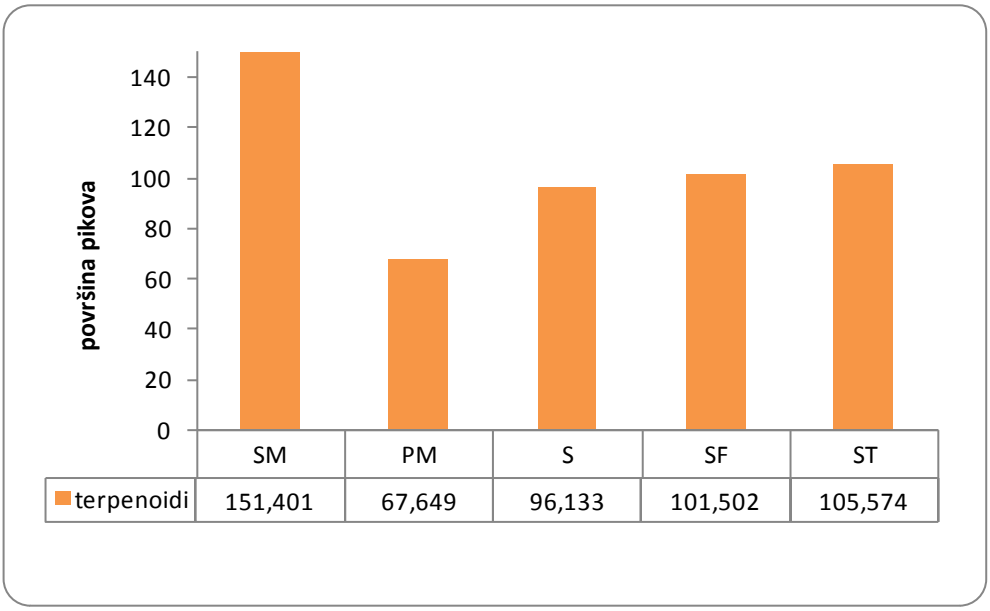
*vrijeme zadržavanja aromatičnih sastojaka (retencijsko vrijeme) (min)



Slika 19 Zadržavanje kiselina u svježoj i pasteriziranoj kaši maline te pastama maline sa dodatkom šećera S, SF, ST (pojedinačno i u smjesama)



Slika 20 Zadržavanje karbonilnih spojeva u svježoj i pasteriziranoj kaši maline te pastama maline sa dodatkom šećera S, SF, ST (pojedinačno i u smjesama)



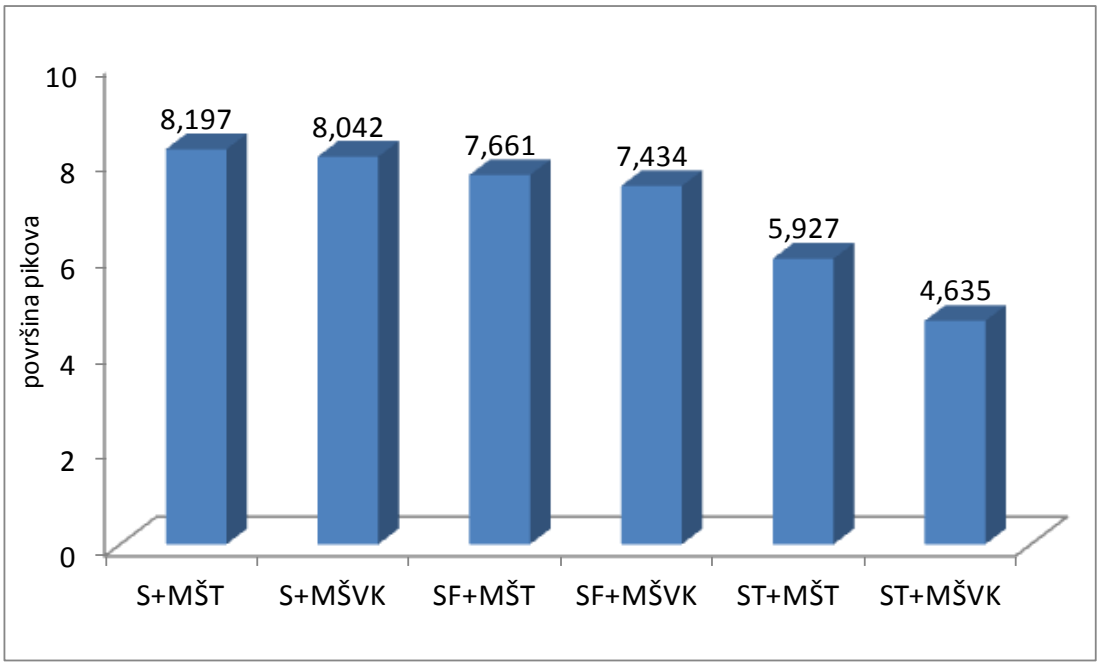
Slika 21 Zadržavanje terpenoida u svježoj i pasteriziranoj kaši maline te pastama maline sa dodatkom šećera S, SF, ST (pojedinačno i u smjesama)

Tablica 9 Utjecaj dodatka različitih šećera i pasterizacije na zadržavanje α-jonona, α-jonola, β-jonona i heksanske kiseline u kaši i pastama od maline (izraženo u površinama pikova)

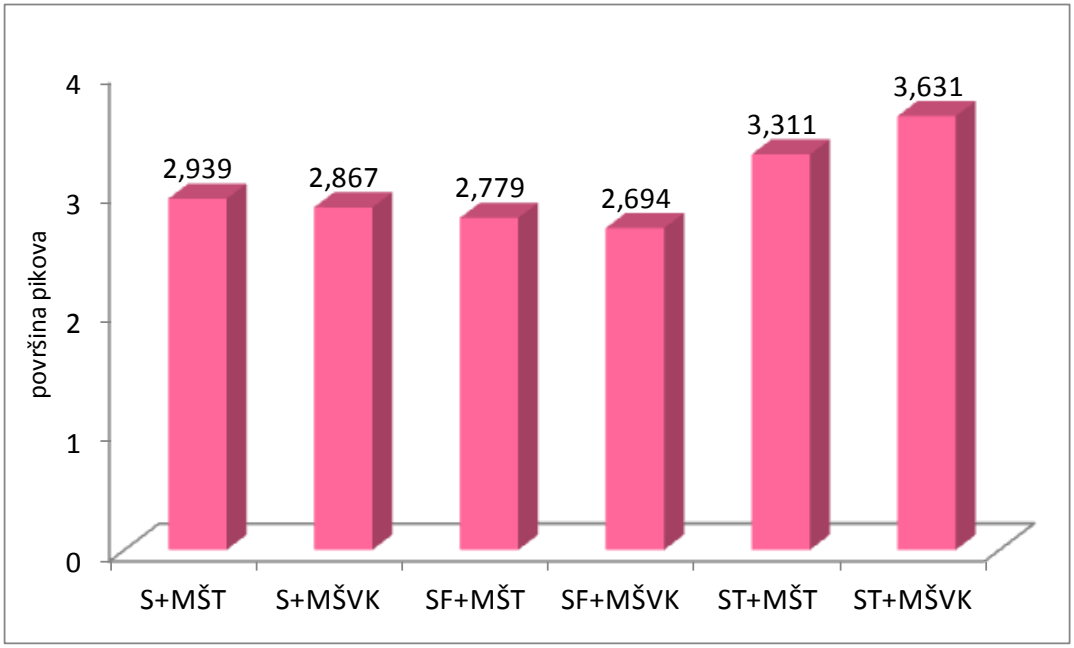
Uzorak	A-jonon	A- jonol	B- jonon	Heksanska kiselina
Svježa kaša maline	239,350^{d}±7,81	171,981^{d}±3,59	360,633^{d}±1,55	17,356^{a}±1,67
Pasterizirana kaša maline	118,21^{a}±2,41	99,64^{a}±1,93	155,77^{a}±0,84	36,293^{b}±1,13
S	131,342^{b}±5,21	115,748^{c}±1,89	177,808^{b}±4,08	30,346^{b}±3,11
SF	144,182^{c}±3,71	107,536^{b}±4,18	182,119^{b,c}±3,58	32,905^{b}±2,51
ST	150,112^{c}±3,31	102,990^{a,b}±2,39	184,071^{c}±2,79	31,956^{b}±2,74

(S saharoza; F fruktoza; T trehaloza)

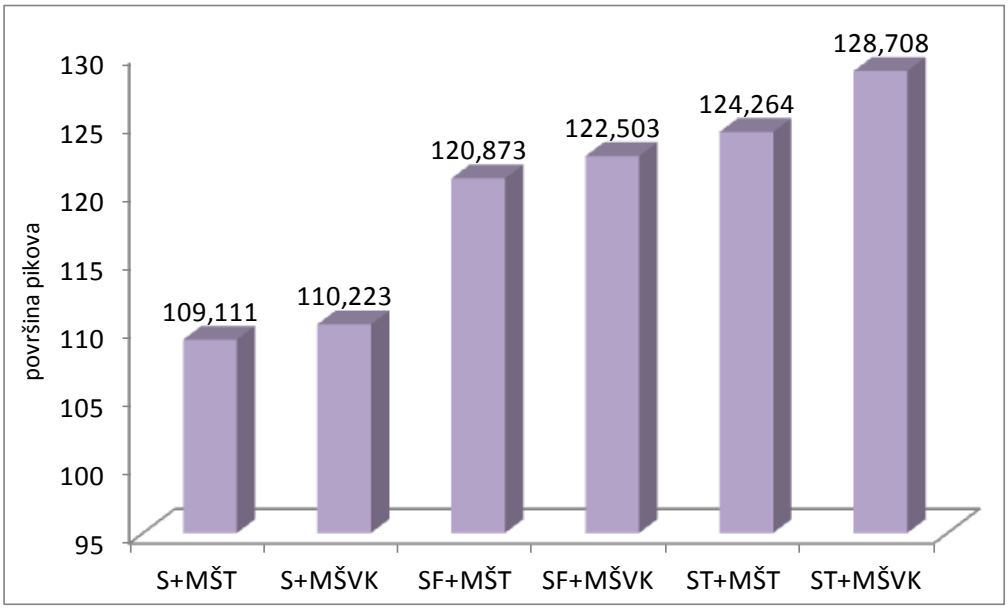
Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-d) su statistički značajno različite (P<0,05)



Slika 22 Zadržavanje kiselina u pastama maline sa dodatkom šećera S, SF, ST i modificiranih škrobova MŠT I MŠVK



Slika 23 Zadržavanje karbonilnih spojeva sa dodatkom šećera S, SF, ST i modificiranih škrobova MŠT I MŠVK



Slika 24 Zadržavanje terpenoida u pastama maline sa dodatkom šećera S, SF, ST i modificiranih škrobova MŠT I MŠVK

Tablica 10 Utjecaj dodatka različitih šećera i modificiranih škrobova na zadržavanje α-jonona, α-jonola, β-jonona i heksanske kiseline u pastama od maline (izraženo u površinama pikova)

Uzorak	A-jonon	A- jonol	B- jonon	Heksanska kiselina
S +MŠT	174,539^{b}±4,65	92,057^{c}±1,48	211,155^{b}±8,42	29,268^{c}±0,18
S+MŠVK	173,586^{b}±3,04	89,313^{b,c}±2,86	209,837^{b}±1,54	28,614^{b,c}±1,22
SF+ MŠT	166,816^{a}±0,76	87,283^{b}±2,88	199,273^{a}±1,51	26,514^{b}±1,43
SF+MŠVK	182,573^{c}±1,32	86,477^{b}±3,87	226,329^{c}±1,62	22,857^{a,b}±3,69
ST+MŠT	196,525^{d}±2,51	78,311^{a}±5,94	243,318^{d}±5,94	21,359^{a}±1,77
ST+MŠVK	215,909^{e}±1,03	73,442^{a}±2,23	259,632^{e}±2,23	18,780^{a}±2,03

(S, saharoza; F, fruktoza; T, trehaloza; MŠT – modificirani škrob tapioke; MŠVK – modificirani škrob voštanog kukuruza)

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

5. RASPRAVA

5.1. REZULTATI

Rezultati istraživanja dodataka šećera (saharoze, S; saharoze i fruktoze, SF; saharoze i trehaloze, ST) i modificiranih škrobova (modificirani škrob tapioke, MŠT; modificirani škrob voštanog kukuruza, MŠVK) na zadržavanje tvari boje te pojedinih aromatičnih sastojaka različitih pasta od maline prikazani su u **Tablicama 5 - 10** te na **Slikama 19-24**.

Antocijani

U **Tablicama 6 i 7** prikazana je promjena koncentracije antocijana, polimerne boje, koncentracije polifenola te antioksidativne aktivnosti s promjenom vrste dodataka u pastu maline.

Iz rezultata u **Tablici 6** vidljivo je da dodatkom trehaloze dolazi do značajnog povećanja zadržavanja antocijana u uzorcima pasta od maline. Također se može vidjeti da zamjena jednog dijela saharoze trehalozom daje znatno veći utjecaj na zadržavanje antocijana nego sama saharoza ili smjesa saharoze i fruktoze. Poznato je da veća koncentracija šećera u voćnim proizvodima utječe na stabilnost antocijana (Wrolstad i sur., 1990.). Ovaj utjecaj se može objasniti činjenicom da dodatak šećera smanjuje aktivitet vode. Čak i neznatne promjene u koncentraciji šećera i aktiviteta vode mogu utjecati na stabilnost pigmenata.

Iz rezultata u **Tablici 7** vidljivo je da dodatak modificiranih škrobova također utječe na zadržavanje antocijana. Uzorci pasta maline sa dodatkom šećera i modificiranog škroba voštanog kukuruza (MŠVK) ima veće zadržavanje antocijana nego uzorci sa dodatkom šećera i modificiranog škroba tapioke (MŠT). Najveće zadržavanje antocijana imao je uzorak sa dodatkom smjese šećera saharoze i trehaloze te MŠVK. Povećanje zadržavanja antocijana vjerojatno je posljedica različitih interakcija između sastavnih komponenata uzrokovanih različitim dodacima prilikom pripreme uzoraka. Jedan od značajnih procesa vjerojatno je želatinizacija škroba koja se odvija prilikom pripreme uzoraka.

Visoke temperature utječu na smanjenje polimerne boje, a uzorci su pripremljeni pri visokoj temperaturi. Dodatak šećera, pojedinačni i u smjesama te modificiranih škrobova u pastu maline utjecao je na zadržavanje antocijana u odnosu na uzorak bez ikakvih dodataka.

Polifenoli

Najnovija istraživanja naglašavaju ulogu polifenolnih komponenti viših biljaka koje mogu djelovati kao antioksidansi, ili putem drugih mehanizama koji doprinose antikarcinogenom ili kardioprotektivnom djelovanju (Huang i Ferrano, 1992.; Newmark, 1992.).

Promjena koncentracije polifenola istraživana je u svim uzorcima pasta od maline (**Tablice 6,7**). Iz rezultata se može vidjeti da promjena koncentracije polifenola slijedi trend promjene koncentracije antocijana. Veća koncentracija polifenola je zamijećena kod uzorka pripravljenog sa smjesom šećera saharoze i trehaloze i u uzorcima iste smjese šećera, ali u kombinaciji sa MŠVK.

Antioksidativna aktivnost

Posljedica procesiranja i skladištenja hrane je gubitak nutrijenata gdje postoji vrlo malo dostupnih podataka o potencijalnim interakcijama prirodnih i sintetskih antioksidanasa sa drugim sastojcima hrane tijekom industrijskog procesiranja hrane, kuhanja i skladištenja. Iz **Tablica 6 i 7** također je vidljivo da antioksidacijska aktivnost uzoraka slijedi trend porasta koncentracije antocijana i polifenola. Uzorci sa smjesom šećera saharoze i trehaloze imali su veću antioksidacijsku aktivnost od ostalih što se podudara sa većom koncentracijom antocijana i polifenola u uzorcima.

Polimerna boja

Što se tiče polimerne boje (**Tablice 6 i 7**) rezultati su obrnuti od rezultata za sadržaj antocijana, polifenola i antioksidativnu aktivnost. Sadržaj antocijana i polifenola kao i antioksidativna aktivnost su rasli sa dodatkom smjese saharoze i trehaloze u uzorke pasta od maline, dok je polimerna boja opadala. Uzrok smanjenja koncentracije antocijana je povećanje degradacije (npr. zbog djelovanja visoke temperature prilikom pripreme uzoraka). Kako je koncentracija antocijana u uzorcima sa dodatkom trehaloze veća, degradacija je manja.

Tvari arome

Kao što se može vidjeti u **Tablici 8** u pastama maline identificirano je osamnaest aromatičnih sastojaka. Radi boljeg prikaza i uočavanja razlika u zadržavanju pojedinih identificiranih aromatičnih sastojaka, sastojci su podijeljeni u tri skupine. To su kiseline, karbonilni spojevi i terpenoidi.

Najveći dio svih aromatičnih sastojaka prisutan je u svježoj kaši maline, dok je u pasteriziranoj kaši kao i pripravljenim pastama došlo do većih ili manjih gubitaka aromatičnih sastojaka.

U **Tablici 8** može se vidjeti da su u pastama maline identificirane octena, heksanska, oktanska, nonanska i dekanska kiselina. Heksanska kiselina doprinosi nepoželjnoj aromi voća (Ulrich, 1997.). Određena je u vrlo maloj količini u svježoj kaši maline kao i u pasteriziranoj te u svim pastama.

Tablica 9 pokazuje da pasterizacija kao i dodatak bilo koje kombinacije šećera utječe na povećanje sadržaja heksanske kiseline u odnosu na svježu kašu maline. Nakon dodatka modificiranih škrobova i šećera u voćne kaše došlo je do smanjenja sadržaja heksanske kiseline (**Tablica 10**). Značajno manji sadržaj heksanske kiseline zamijećen je dodatkom šećera ST i modificiranog škroba voštanog kukuruza (MŠVK).

Općenito, sadržaj kiselina u svim pastama je značajno manji u odnosu na svježu kašu maline. Dodatak šećera S i SF podjednako utječe na smanjenje sadržaja kiselina u odnosu na pasteriziranu kašu maline, dok je utjecaj šećera ST veći (**Slika 19**).

U pastama maline sa dodatkom šećera i modificiranih škrobova, najmanji utjecaj na smanjenje sadržaja kiselina ima saharoza sa bilo kojim modificiranim škrobom. Smjese (SF+MŠT i SF+MŠVK) kao i ST+MŠT imaju nešto veći utjecaj na smanjenje sadržaja kiselina, dok najveći utjecaj ima ST+MŠVK (**Slika 22**). Najveći dio svih aromatičnih sastojaka prisutan je u svježoj kaši maline, dok je u pasteriziranoj kaši kao i pripravljenim pastama došlo do većih ili manjih gubitaka aromatičnih sastojaka.

Karbonilni spojevi

Iz skupine karbonilnih spojeva u radu je ispitivano djelovanje na 2-nonanona, 2-undekanona i 2-dodekanona. Navedeni sastojci zadržani su u svim pastama maline. Na **Slici 20** prikazano je zadržavanje karbonilnih spojeva u svježoj i pasteriziranoj kaši maline, te u pastama maline sa

dodacima šećera (pojedinačno i u smjesama). Vrijednosti su se kretale u rasponu od 2,402 u pasteriziranoj kaši maline pa do 2,658 u pasti maline sa dodatkom ST (izraženo u površinama pikova). U literaturi se često svježa, zelena mirisna voćna nota vezuje uz prisustvo karbonilnih sastojaka (Fischer i Hammerschmidt, 1992; Mallowicki i sur., 2008). Toplinskom obradom ili smrzavanjem dolazi do smanjenja udjela tih sastojaka pa su zamjetne razlike u aromi u odnosuna svježe voće (Douillard i Guichard, 1990; Schieberle, 1994.). Karbonilni sastojci su u približno istom sadržaju zadržani u pastama maline sa dodatkom šećera (S, SF i ST) (**Slika 20**). Dodatak bilo koje kombinacije dodanog šećera nije doprinio puno većem zadržavanju karbonilnih sastojaka u odnosu na pasteriziranu kašu maline.

Smjesa šećera i modificiranih škrobova također je utjecala na sadržaj karbonilnih sastojaka. Najmanje zadržavanje je uočeno kod dodatka SF i modificiranog škroba voštanog kukuruza, a najveće kod dodatka ST i modificiranog škroba voštanog kukuruza. Podjednak utjecaj na sastojke je imao dodatak šećera S i SF sa bilo kojim modificiranim škrobom (**Slika 23**).

Terpenoidi

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

Na **Slici 21** i **Slici 23** prikazani su rezultati sadržaja odabranih terpenoida u uzorcima sa dodatkom šećera (pojedinačno i u smjesama) te šećera i modificiranih škrobova. Iz rezultata na **Slici 21** vidi se da dodatkom šećera u pastu maline dolazi do povećanja sadržaja terpenoida u odnosu na pasteriziranu kašu maline. Povećanje sadržaja terpenoida je podjednako dodatkom bilo koje kombinacije šećera (S, SF ili ST).

U **Tablici 9** prikazan je utjecaj dodataka šećera (S, SF, ST) na zadržavanje α-jonona, β-jonona i α-jonola. Iz rezultata se vidi da smjesa šećera ST ima najveći utjecaj na zadržavanje α i β-jonona (najzastupljeniji terpenoidi u malini) u odnosu na uzorak pasterizirane kaše maline, dok na zadržavanje α-jonola najviše utječe dodatak šećera saharoze.

Što se tiče dodatka šećera (S, SF, ST) i modificiranih škrobova (MŠT, MŠVK) na sadržaj terpenoida (**Slika 24**) vidi se da dodatkom modificiranih škrobova dolazi do povećanja

sadržaja terpenoida u odnosu na uzorke sa dodatkom šećera (pojedinačno i u smjesama). Najveći utjecaj na sadržaj terpenoida u pasti maline imao je dodatak smjese šećera ST i MŠVK. Sadržaj terpenoida u tom uzorku bio je 1,22 puta veći nego u uzorku sa dodatkom smjese šećera ST.

U **Tablici 10** prikazan je utjecaj dodatka šećera (S, SF, ST) i modificiranih škrobova (MŠT, MŠVK) na zadržavanje α-jonona, β-jonona i α-jonola. Iz rezultata se vidi da smjesa šećera ST i MŠVK ima najveći utjecaj na zadržavanje α i β-jonona, dok na zadržavanje α-jonola najviše utječe dodatak šećera S i MŠT.

6. ZAKLJUČCI

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

- Antocijani su vrlo nestabilni pigmenti te je zamijećen utjecaj dodatka modificiranih škrobova u kombinaciji s različitim smjesama šećera na zadržavanje tih pigmenata u uzorcima pasta od maline. Uočen je i pozitivan utjecaj dodatka trehaloze na zadržavanje boje te sadržaja antocijana i polifenola.
- Najmanje promjene su uočene u uzorku paste maline sa dodatkom saharoze i trehaloze te modificiranog škroba voštanog kukuruza koji je imao najveći sadržaj antocijana i polifenola. Najveće promjene su se dogodile u uzorku sa dodatkom saharoze koji je imao najmanji sadržaj antocijana i polifenola.
- Promjena u antioksidativnoj aktivnosti slijedi trend zadržavanja antocijana i polifenola.
- U pastama od maline sa ispitivanim dodacima u odnosu na pasteriziranu kašu puno je veće zadržavanje ukupne arome i pojedinih aromatičnih sastojaka.
- Najveće zadržavanje ukupne arome postignuto je dodatkom šećera saharoze i trehaloze u kombinaciji sa dodatkom modificiranog škroba voštanog kukuruza.
- Na temelju rezultata istraživanja dobiven je dublji uvid u mehanizam djelovanja različitih smjesa šećera, posebice smjese saharoze sa trehalozom te modificiranog škroba kao dodataka koji omogućavaju bolje zadržavanje i očuvanje aromatičnih sastojaka tijekom priprave paste od maline.
- Sposobnost trehaloze da zadržava hlapive aromatične molekule odgovorne za karakterističnu aromu voća otvara mogućnosti primjene istih u razvoju novih proizvoda ili pak poboljšanju postojećih proizvoda s ciljem poboljšanja kvalitete.

7. LITERATURA

Babić J: Utjecaj acetiliranja i dodataka na reološka i termofizikalna svojstva škroba kukuruza i tapioke. *Doktorski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2007.

Bassoli A, Merlini L: Sweetners. *Eciklopedia of food Science and Nutrition*. Academic press, Italija, 2003.

Beekwilder J, Van der Meer I, Sibbesen O, Broekgaarden M, Qvist I, Mikkelsen J, Hall R: Microbial production of natural raspberry ketone. *Biotechnology Jurnal* **10:**1270-1277, 2007.

Beltz H-D,Grosch W, Schiebrele P: Aroma compounds. *Food Chemistry* 4th revised and estende Edition, Springer, Berlin, 2009.

Borejsza – Wysock W, Hrazdina G: Biosynthesis of p-hydroxyphenylbutan-2-one in raspberry fruits and tissue cultures. *Phytochemistry* **35**:623-628, 1994.

Boutboul A, Lenfant F, Giampaoli P, Feigenbaum A, Ducruet V: Use of inverse gas chromatography to determine termodynamic parametars of aroma- starch indicators. *Jurnal of Chomatograpy A* **969:**9-16, 2002.

Casabianca H, Graff J: Enantiometric and isotopic analysis of flavour compaunds of some raspberry cultivars. *Journal Chomatographic A* **684:**360-365, 1994.

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.

Čović M: Utjecaj skladištenja na aromu pasta od maline s dodatkom šećera i hidrokoloida. *Diplomski rad*. Prehrambeno- tehnološki fakultet, Osijek: 5-32, 2010.

Čupurdija E: Kromatografija u analizi vode. *Diplomski rad*. Prehrambeno- biotehnološki fakultet, Zagreb, 2008.

Denyer K, Johnson P, Zeeman S, Smith AM: The control of amylose synthesis. *Journal of Plant Phiciology* **158:**479-487, 2001.

Deur-Šiftar Đ: Chomatography. U *Nouvels Research Domine Composes of Macromolekulars*, Ceausecsu E (aut.), USA, 1973.

Douillard C, Guichard E: The aroma of strawberry (Fragaria ananassa): characterisation of some cultivars and influence of freezing. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **50**: 517-531, 1990.

Ergović M: Utjecaj skladištenja na reološka svojstva kaše maline sa dodatkom šećera, modificiranih škrobova i hidrokoloida. *Diplomski rad.* Prehrambeno- tehnološki fakultet, Osijek, 2001.

FAOSTAT, Food and agloculture Organization of United Nations: Statistic devision, 2015. http://faostat3.fao.org/home/E [20.6.2016.]

Fischer N, Hammerschmidt FJ: A contribution to the analysis of fresh strawberry flavour. *Technologie und Chemie der Lebensmittel* **14**: 141-148,1992.

Forgacs E, Cserhati T: Chomatography. U *Enciklopedia of Food Sciences and Nutrition*, Academic press, Institute of Chemistry, Budimpešta, 2003.

Francis J: Food colorant-antocyanins. Crtitical Review in *Food Science and Nutrition* **28:**273-314, 1989.

Giusti MM, Wrolstad RE: Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. U *Current Protocols in Food Analytical Chemistry.* R.E. Wrolstad, S.J. Schwartz (ur.). John Wiley & Sons, Inc. New York, NY. Pogl. 1.2.1 – 1.2.13., 2001.

Gunaratne A: Physical and chemical modification of some cereals, tuber and root starches heating rate**.** *Journal of Food Engineering* **62:**337-344, 2004.

Haenen G.R, Paquay J.B,Korthouwer R.E, Bast A: Peroxynitrate scaveing by flavonoids. *Biochemical and Biophysical Research Communication* **236:**591-593, 1997.

Heath H.B: Flavour technology:profiles, products and application. Westport, Avi publishing company, 1978.

Honkanen E, Hirvi T: The Flavour of Berries. U *Food Flavours Part C.* I.D. Morton, A.J. Macleod (ur.), Elsevier, Amsterdam, 134-147, 1990.

Hoover R: Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A review. *Carbohydrate Polymers* **45:**253-267,2001.

Huang MT, Ferrano T: Phenolic compounds in food and cancer prevention. U *Phenolic Compounds in Food and health II: Antioxidants and Cancer Prevention*. American Chemical Society, Washington DC: 8-34, 1992.

Huberlant J: Sucrose-properties and dermination. U *Eciklopedia of food Science and Nutrition*, Academic press, Belgija, 1993.

Jašić M: Uvod u biološki aktivne komponente hrane. *Interna skripta za studente*. Tehnološki fakultet,Tuzla, 2010.

Katalinić V: Temeljno znanje o prehrani. *Sveučilišni priručnik*, Kemijsko – tehnološki fakultet, Split: 39-41, 2011.

Klapec T, Šarkanj B: Kemijske i fizikalne opasnosti vezane uz hranu. Prehrambeno- tehnološki fakultet, Osijek: 59, 2015.

Kong J M, Chia L S, Goh N K, Chia T F, Brouillard R: Analisyis and biological activities of anthocyanins. *Phitochemistry* **64**:623-633,2003.

Kopjar M: Aroma. *Nastavni materijali*. Prehrambeno- tehnološki fakultet, Osijek,2014.

Kopjar M: Utjecaj dodatka trehaloze na kvalitetu paste od jagoda. *Doktorski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2007.

Krešić G: Trendovi u prehrani. *Diplomski rad*, Fakultet za menadžment u turizmu i ugostiteljstvu, Opatija, str.120, 2012.

Larsen M, Poll L, Callesen O, Lewis M: Relations between the aroma compounds and the sensory evaluation of 10 raspberry varieties (*Rubus idaeus*) L. *Acta Agriculture Scandinavia* **41**: 447-454, 1991.

Lebell F: Preparated food-New modified tapioca starch improbe saurces and marinades. USA, 1995.

Lovrić T, Piližota V: *Poluproizvodi od voća i povrća*, U Konzerviranje i prerada voća i povrća.Nakladni Zavod Globus, Zagreb:80–82, 1994.

Lovrić T: *Procesi u prehrambenoj industriji s osovama prehrambenog inženjerstva*. Hinus, Zagreb, 2004.

Maarse H: Volatile Compounds in Food and Beverages. *CRC Press*,1991.

Mahler S, Qian M: Quantification of raspberry aroma by stir soptive extraction gas chomatography-mass spectometry. *Hort. Crops Research* 2, 2006.

Malowicki SMM, Martin R, Qian MC: Comparison of sugar, acids, and volatile composition in raspberry bushy dwarf virus-resistant transgenic raspberries and the wild type 'Meeker' (*Rubus idaeus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**: 6648–6655, 2008.

Mandić M, Nosić M: Funkcionalna svojstva prehrambenih dodataka. Prehrambeno- tehnološki fakultet, Osijek, 2009.

Mandić M: Znanost o prehrani: Hrana i prehrana u čuvanju zdravlja. Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek, 2007.

Mazza G, Brouillard R: Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. *Food Chemistry* **25:**207-225, 1987.

Megazyme M : *Traheloze assay procedur*e, 2005. https://www.megazyme.com/downloads/en/data/K-TREH.pdf [10.6.2016.]

Moslavac T: Koncentriranje modela otopina alkohola, estera i aldehida reverznom osmozom. *Doktorski rad*. Prehrambeno- tehnološki fakultet, Osijek, 2003.

MPRH, Ministarstvo poljoprivrede RH: Pravilnik o voćnim sokovima i njima sličnim proizvodima namjenjenim za konzumaciju. Narodne novine 46/07, 2007.

Newmark HL: Plant phenolic compounds as in hibitors of mutagenesis and carcinogenesis. U *Phenolic Compounds in Food and health II: Antioxidants and Cancer Prevention.* American Chemical Society, Washington, DC, 48-52, 1992.

Niketić-Aleksić M: *Tehnologija voća i povrća*. Institut za prehrambenu tehnologiju i biokemiju, Beograd, 1982.

Opačak D: Utjecaj skladištenja na kemijski sastav pasterizirane kaše maline sa dodatkom šećera, modificiranih škrobova i hidrokolida. *Diplomski rad*, Prehrambeno- tehnološki fakultet, Osijek, 2006.

Ough CS, Amerine MA: *Phenolic Compounds. Methods for Analysis of Musts and Wines.*(2nd ed.). New York: John Wiley & Sons Inc.:196-221, 1988.

Patist A, Zoerb H: Preservation mechanisms of trehalose in food and biosystems. Colloids and Surfaces. *Biointerfaces* **40***:*107-114, 2005.

Peterson MS, Johanson AH: *Enciklopedia of food science*. The Avi publishing company, Inc. Vestport, Conneticunt, 1978.

Pichler A: Utjecaj dodataka i skladištenja na kvalitetu, reološka i termofizikalna svojstva paste od maline. *Doktorski rad*, Prehrambeno – tehnološki fakultet, Osijek: 3-7, 12-17, 31-35, 66-78, 2011.

Potter NN: *Food Science*. The Avi publishing company, Inc. Vestport, Conneticunt, 1978.

Pozderović A: Proučavanje fenomena zadržavanja odnosno gubitka tvari arome voća tijekom liofilizacije na model sistema. *Doktorski rad.* Prehrambeno- biotehnološki fakultet, Zagreb, 1984.

Pyysalo T, Honkanen E, Hirvi T: Volatiles of Wild Strawberries, Fragaria vesca L., Compared to Those of Cultivated Berries, Fragaria x ananassa cv. Senga Sengana. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **27**: 19-22, 1979.

Rako A: Kromatografske analitičke tehnike. *Završni rad.* Prehrambeno- biotehnološki fakultet, Zagreb, 2010.

Schieberle P: Heat-induced changes in the most odour-active volatiles of strawberries. U *Trends in Flavour Research.* H. Maarse, D. G. Van der Heij (ur.), Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, 345-351, 1994.

Shamaila MG, Daubeny B.S, Anderson A: Sensory, chimica and gas chromatographic evaluation of five raspberry cultivars. Food Research Institute, 1993.

Shimada K, Fujikawa K, Yahara, Nakamura T: Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 945–948, 1992.

Singh N, Singh J, Kaur L, Singh Sodhi N, Singh Gill B: Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sorces. *Food Chemistry* **81**:219-231, 2003.

Socaciu C: Food colorants, *CRC Press*, Rumunjska, 2008.

Spigno G, De Faveri DM: Gelatinization kinetics of rice starch studied by non-isothermal colorimetric technique: influence of extraction metoda, water concentration and heating rate. *Journal of Engineering,* str 284-309,2004.

Stanković D: *Opšte voćarstvo*. Izdavačko – štamparsko poduzeće Minerva, Subotica- Beograd, str. 18-20, 1973.

Šubarić D: Proučavanje promjena reoloških svojstava smjesa hidrokoloida i škrobova pri niskim temperaturama. *Magistarski rad*. Pregrambeno- biotehnološki fakultet, Zagreb, 1994.

Tester RF, Karkalas JK, Qi X: Starch – composition, fine structure and architectrure. *Journal of Cereal Science* **39**:151-165, 2004.

Ulrich D, Hoberg E, Rapp A, Kecke S: Analysis of strawberry flavour-discrimination of aroma types by quantification of volatile compounds. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A* **205**: 218-223, 1997.

USDA, United States Department of Agroculture: *National Resources Conservation Servise*, 2016. http://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome,pristupljeno 10.6.2016

Vasanthan T, Bhatty R: Enhancement of Resistant Starch in Amylomaize, Barley, Field Pea and Lentil Starches. Starch **50**:286-291, 1988.

Volčević B: Jagoda, malina, kupina. Bjelovar, Neron, 2005.

Web 1 http://www.gospodarski.hr/Publication/2015/2/polana-novost-u-sortimentu-maline/8146#.V2jVlNJ97rc [20.6.2016.]

Web 2 http://zdravzivotzasve.blogspot.hr/2015/03/malina-kao-lijek-ljekovita-svojstva-maline.html [12.6.2016]

Web 3 https://hr.wikipedia.org/wiki/Saharoza [20.6.2016.]

Web 4 https://hr.wikipedia.org/wiki/Fruktoza [20.6.2016.]

Web 5 https://sr.wikipedia.org/wiki/Trehaloza [20.6.2016.]

Web 6 http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/skrob [18.6.2016.]

Web 7 http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/aromaticne-tvari-voca-i-povrca [18.6.2016.]

Web 8 https://sh.wikipedia.org/wiki/Keton_maline [15.6.2016.]

Weneen H, Tjan S B: 3-Deoksyglucosone as flavour precusor. U *Trend sin flavour precusors*. H. Maarse, D.G Van Der Heij (ur.), Elsevier Science B.V., 327-337,1994.

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

Wrolstad RE, Skrede G, Lea P, Enersen G: Influence of sugar on anthocyanin pigment stability in frozen strawberries. *Journal of Food Science* 55: 1064-1065,1990.

Wrolstad RE, Skrede G, Lea P, Enersen G: Influence of sugar on anthocyanin pigment stability in frozen strawberries. *Journal of Food Science* **55**: 1064-1065,1990.

Young H, Gilbert J M, Murray S H, Ball R D: Causal Effect of aroma compounds on Royal Gala Apple Flavours. *Journal of the Science of Food Aroculture* **71**:329-337, 1996.

Zhou A, Benjakul S, Pan K, Gong J, Liu X: Cryoprotective effects of trehalose and sodium lactate on tilapia surimi during frozen state. *Food Chemistry* **96:**96-103,2006.