

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Tomaž PLANKAR

**HIDROLIZA SAHAROZE PRI PROIZVODNJI
KONCENTRIRANIH SADNIH IZDELKOV**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2010

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Tomaž PLANKAR

**HIDROLIZA SAHAROZE PRI PROIZVODNJI
KONCENTRIRANIH SADNIH IZDELKOV**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**HYDROLYSIS OF SUCROSE DURING PROCESSING
OF CONCENTRATED FRUIT PRODUCTS**

GRADUATION THESIS
University Studies

Ljubljana, 2010

POPRAVKI

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo na Katedri za tehnologije, prehrano in vino ter na Katedri za biokemijo in kemijo živil Oddelka za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za živilstvo je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Rajka Vidriha, za recenzentko pa doc. dr. Natašo Šegatin.

Mentor: prof. dr. Rajko Vidrih

Recenzentka: doc. dr. Nataša Šegatin

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Tomaž Plankar

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dd
- DK UDK 664.858:634.11:547.45(043)=163.6
- KG džemi/marmelade/jabolčna sadna kaša/dodajanje sladkorja/koncentriranje sadne kaše/hidroliza saharoze/HPLC/določanje sladkorjev/topna suha snov/saharoza/fruktoza/glukoza/jabolčna kislina/organske kisline
- AV PLANKAR, Tomaž
- SA VIDRIH, Rajko (mentor)/ ŠEGATIN, Nataša (recenzentka)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
- LI 2010
- IN HIDROLIZA SAHAROZE PRI PROIZVODNJI KONCENTRIRANIH SADNIH IZDELKOV
- TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
- OP XIII, 62 str., 14 pregl. 25 sl., 8 pril., 52 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Namen diplomske naloge je bil proučiti vpliv sestave jabolčne kaše in načina koncentriranja na hitrost hidrolize saharoze pri pripravi koncentriranih sadnih izdelkov. Med postopki koncentriranja smo vsebnost fruktoze, glukoze in saharoze določali s pomočjo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti. Določili smo, da jabolčna kaša vsebuje 12,5 g/100 g topne suhe snovi in 3,64 g/kg jabolčne kisline. Od sladkorjev je bilo prisotne največ fruktoze, najmanj pa glukoze. Ugotovili smo, da pri normalnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C hidrolizira 11,0 % skupne saharoze, pri znižanem tlaku in temperaturi 54 °C konvertira 6,2 % saharoze. Pri vzorcih, koncentriranih pri dveh pogojih nižje temperature in tlaka, ni zaznati značilnih razlik v hitrosti koncentriranja in deležu hidrolizirane saharoze. Čas koncentriranja pri znižani temperaturi in tlaku je opazno daljši v primerjavi s klasičnim koncentriranjem pri atmosferskem tlaku. Konverzija saharoze v modelni raztopini pri temperaturi 25 °C je neznatna, medtem ko pri 103 °C v 10 minutah hidrolizira 50 % saharoze.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- ND Dn
- DC UDC 664.858:634.11:547.45(043)=163.6
- CX jams/marmalades/apple fruit pulp/adding sugar/fruit pulp concentration/hydrolysis of sucrose/HPLC/sugars determination/total soluble solids/sucrose/fructose/glucose / malic acid/organic acids
- AU PLANKAR, Tomaž
- AA VIDRIH, Rajko (supervisor)/ ŠEGATIN, Nataša (reviewer)
- PP SI-1000, Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
- PY 2010
- TI SUCROSE HYDROLYSIS DURING PROCESSING OF CONCENTRATED FRUIT PRODUCTS
- DT Graduation Thesis (University Studies)
- NO XIII, 62 p., 14 tab. 25 fig., 8 ann., 52 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB The purpose of the thesis was to find out the influence of apple pulp composition and way of concentration on hydrolysis of sucrose during processing of concentrated fruit products. The contents of fructose, glucose and sucrose were analyzed by means of HPLC method. Apple pulp contained 12,5 g/100 g soluble solids and 3,64 g/kg of titratable acids. Among the sugars, fructose was the most dominant sugar followed by sucrose and glucose. During atmospheric evaporation at 103 °C, 11,0 % of total sucrose was hydrolyzed, while during evaporation at 54 °C under hypobaric conditions 6,2 % of sucrose were converted. In general, no significant differences in duration and amount of hydrolyzed sucrose were found among samples evaporated at two different low temperatures at corresponding hypobaric conditions. Evaporation at low temperature and hypobaric conditions requires significantly longer time compared to atmospheric conditions. Hydrolysis of sucrose in model solution at 25 °C is negligible as compared to temperature of 103 °C which results in degradation of 50 % of sucrose.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	IV
KEY WORDS DOCUMENTATION	V
KAZALO VSEBINE	VI
KAZALO PREGLEDNIC	IX
KAZALO SLIK	X
KAZALO PRILOG	XII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XIII
1 UVOD	1
1.1 NAMEN NALOGE	2
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 MARMELADE, DŽEMI	3
2.1.1 Pektin	6
2.1.2 Sladila	8
2.2 ZNAČILNOSTI JABOLK SORTE JONAGOLD	10
2.2.1 Kemijska sestava jabolk	12
2.2.1.1 Voda	13
2.2.1.2 Sladkorji	13
2.2.1.3 Lipidi	14
2.2.1.4 Proteini	14
2.2.1.5 Organske kisline	14
2.2.1.6 Aromatične snovi	15
2.3 OGLJIKOVI HIDRATI	16
2.3.1 Delitev ogljikovih hidratov	16
2.3.1.1 Glukoza	19
2.3.1.2 Fruktaza	20
2.3.1.3 Saharoza	21
2.4 TEKOČINSKA KROMATOGRAFIJA VISOKE LOČLJIVOSTI (HPLC)	23

2.4.1	Rezervoar mobilne faze	25
2.4.2	Razplinjevalec mobilne faze	25
2.4.3	Črpalke.....	25
2.4.4	Injektor.....	26
2.4.5	Kromatografska kolona.....	27
2.4.6	Detektor.....	27
2.4.6.1	RI detektor	28
2.4.7	Inštrument za zapis signala	29
3	MATERIALI IN METODE DELA	30
3.1	MATERIALI.....	30
3.2	METODE DELA.....	30
3.2.1	Priprava vzorcev jabolčnih kaš in modelnih raztopin.....	30
3.2.2	Določanje topne suhe snovi v vzorcih.....	34
3.2.3	Določanje vsebnosti skupnih kislin.....	34
3.3.4	Določanje vsebnosti sladkorjev s HPLC	35
3.3.4.1	Predpriprava vzorcev za HPLC analizo	35
3.3.4.2	Priprava standardnih raztopin glukoze, fruktoze in saharoze	39
3.3.5	Kvantitativno vrednotenje kromatogramov.....	39
3.3.5.1	Kvantizacija z umeritveno krivuljo	39
3.3.5.2	Kvantizacija z metodo eksternega standarda.....	41
3.3.6	Statistična analiza.....	42
4	REZULTATI.....	44
4.1	VSEBNOST TOPNE SUHE SNOVI V JABOLČNI KAŠI	44
4.2	REZULTATI ANALIZ DOLOČANJA SKUPNIH KISLIN	44
4.3	DOLOČANJE VSEBNOSTI GLUKOZE, FRUKTOZE IN SAHAROZE V VZORCIH	44
4.3.1	Kvantizacija z umeritveno krivuljo.....	44
4.3.2	Metoda eksternega standarda.....	46
5	RAZPRAVA IN SKLEPI.....	55
5.1.	RAZPRAVA	55
5.2.	SKLEPI	57

6	POVZETEK	58
----------	-----------------------	-----------

7	VIRI	60
----------	-------------------	-----------

ZAHVALA

PRILOGE

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Vsebnost sadja v izdelkih (Pravilnik o kakovosti džemov, ...kaše, 2004) ..	3
Preglednica 2: Faktorji, ki vplivajo na čvrstost gela pri želiranih sadnih izdelkih (Vibhakara in Bawa, 2006).....	7
Preglednica 3: Razvrstitev najpomembnejših sladil glede na njihovo poreklo in stopnjo sladkosti (Batič in sod., 1993)	9
Preglednica 4: Priporočene vrednosti za škrob, trdoto, vsebnost sladkorja in organskih kislin pri nekaterih sortah jabolk v tehnološki zrelosti (Štampar in sod., 2009)	11
Preglednica 5: Povprečna kemijska sestava jabolk (Štampar in sod., 2009; Souci in sod., 2000)	12
Preglednica 6: Povprečne vrednosti sladkorjev v plodovih jabolk (Črček, 2007; (*) Štampar in sod., 2009)	13
Preglednica 7: Klasifikacija prehranskih ogljikovih hidratov (Peris-Tortajada, 2004)	17
Preglednica 8: Primerjava metod HPLC in GLC pri analizi sladkorjev (Paris-Tortajada, 2000: 289).....	23
Preglednica 9: Vsebnosti snovi v konzumnem belem sladkorju (Pravilnik o kakovosti sladkorjev, 2001)	30
Preglednica 10: Vzorci jabolčnih kaš in modelnih raztopin glede na dodatek saharoze	31
Preglednica 11: Faktorji za preračunavanje organskih kislin.....	35
Preglednica 12: Površine kromatografskih vrhov standardnih raztopin fruktoze, glukoze in saharoze z masno koncentracijo 1,25 gL ⁻¹ , 2,5 gL ⁻¹ in 5 gL ⁻¹	45
Preglednica 13: Retencijski časi in površine vrhov standardov fruktoze, glukoze in saharoze z masno koncentracijo 5 g/L.....	45
Preglednica 14: Površine vrhov sladkornih standardov (A _F , A _G in A _S) z masno koncentracijo 5 g/L	46

KAZALO SLIK

Slika 1: Sistem za koncentriranje marmelad pri znižanem tlaku (Jams..., 2009).....	5
Slika 2: Struktura homogalakturonana (Ridley in sod., 2001: 931).....	6
Slika 3: Relativna sladkost sladkorjev v odvisnosti od temperature (Alexander, 1998: 40).	9
Slika 4: Jabolka cv. Jonagold	10
Slika 5: Delitev ogljikovih hidratov (Požar, 2003)	18
Slika 6: Struktura α -D-glukoze - Fisherjeva in Haworthova projekcija (Sreeranjit in Lal, 2003)	19
Slika 7: Metabolne poti glukoze (Macdonald, 2003)	20
Slika 8: Struktura α -D-fruktoze (Moreau in sod., 2000).....	20
Slika 9: Struktura disaharida saharoze (Alexander, 1998)	21
Slika 10: Hidroliza saharoze (Moreau in sod., 2000).....	22
Slika 11: HPLC sistem (Hancock, 1984, cit. Po Kregar, 1996: 622)	24
Slika 12: Komponente HPLC sistema (Forgacs in Cserhati, 2003)	24
Slika 13: Grafični prikaz pretoka pri dvoglavi črpalki z ekscentričnim pogonom (Žorž, 1991)	26
Slika 14: Shema RI detektorja - Milton Roy (Miller, 1987: 207)	28
Slika 15: Shema naprave za koncentriranje jabolčne kaše pri znižani temperaturi in tlaku	33
Slika 16: Hodogram priprave vzorca pred HPLC analizo	37
Slika 17: Umeritvena krivulja za kromatografsko določitev glukoze, fruktoze in saharoze	40
Slika 18: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju jabolčne kaše z dodatkom saharoze pri normalnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C.....	47
Slika 19: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri upočasnjenem koncentriranju jabolčne kaše z dodatkom saharoze pri normalnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C	48
Slika 20: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju jabolčne kaše brez dodatka saharoze pri normalnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C	49

Slika 21: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju jabolčne kaše z dodatkom saharoze pri znižanem zračnem tlaku (0,2 bar) in temperaturi 60 °C	50
Slika 22: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju jabolčne kaše z dodatkom saharoze pri znižanem zračnem tlaku (0,15 bar) in temperaturi 54 °C	51
Slika 23: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju modelne raztopine MR1 pri normalnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C.....	52
Slika 24: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri hidrolizi saharoze v modelni raztopini MR2 pri sobni temperaturi	53
Slika 25: Spremljanje hitrosti razpada saharoze pri različnih načinih koncentriranja jabolčnih kaš in modelnih raztopin.....	54

KAZALO PRILOG

Priloga A: Ločba fruktoze, glukoze in saharoze na koloni Spherisorb–NH₂, pri pretoku mobilne faze (acetonitril/voda, 85/15) 1,5 ml/min in občutljivosti detektorja za razliko lomnega količnika

Priloga B: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju jabolčne kaše z dodatkom saharoze pri normalnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C

Priloga C: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri upočasnjem koncentriranju jabolčne kaše z dodatkom saharoze pri normalnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C

Priloga D: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju jabolčne kaše brez dodatka saharoze pri normalnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C

Priloga E: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju jabolčne kaše z dodatkom saharoze pri znižanem zračnem tlaku (0,2 bar) in temperaturi 60 °C

Priloga F: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju jabolčne kaše z dodatkom saharoze pri znižanem zračnem tlaku (0,15 bar) in temperaturi 54 °C

Priloga G: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju modelne raztopine MR 1 pri normalnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C

Priloga H: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri hidrolizi saharoze v modelni raztopini MR2 pri sobni temperaturi

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

ACN	acetonitril
°Brix	topna suha snov (%)
CA	kontrolirana atmosfera
GLC	porazdelitvena kromatografija plin–tekoče (Gas–liquid chromatography)
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (angl. High Performance Liquid Chromatography)
I. D.	notranji premer (Inside Diameter)
MR1	modelna raztopina 1
MR2	modelna raztopina 2
NA	normalna atmosfera
RS	relativna sladkost
SD	standardna deviacija
t_r	retencijski čas
γ	masna koncentracija (g/L)
γ_G	masna koncentracija glukoze (g/L)
γ_F	masna koncentracija fruktoze (g/L)
γ_S	masna koncentracija saharoze (g/L)

1 UVOD

Marmelada je živilo, sestavljeno iz sadja in sladkorja. Namesto sladkorja se lahko uporablja med, za korekcijo okusa pa se dodajajo kisline ali kis. Izraz marmelada zasledimo proti koncu 13. stoletja, za prvi pisni zapis pa velja Nostradamusov Traktat o lepotilih in sladkorninah iz leta 1555. Do sredine 19. stoletja je francoski izraz "cofit" (sladkornina) označeval sadje v sladkornem sirupu, sadni pire, kandirano sadje in sadje, kuhano v sladkorju. Danes se je izraz "confiture" ohranil le za sadje, kuhano v sladkorju, kar ustreza našemu džemu oziroma marmeladi. Ob odkritju tehnološkega postopka pridobivanja sladkorja iz sladkorne pese, ki je v 19. stoletju pocenil izdelavo marmelad, so le-te postale široko uporabna družinska poslastica (Furet, 1999).

Na kvaliteto marmelad in džemov poleg ustrezne izbire sadja, vsebnosti topne suhe snovi (65–71 %), vsebnosti pektina (0,5–1,5 %) in ustrezne pH vrednosti (2,7–3,6) (Vibhakara in Bawa, 2006), vpliva tudi način koncentriranja sadne kaše. Za izdelavo visoko kakovostnih želiranih proizvodov poteka postopek koncentriranja v posebnih vakuumskih koncentradorjih pri znižanem tlaku in temperaturah med 60 in 65 °C (Baker in sod., 2005). Prednosti pred klasičnim koncentriranjem pri temperaturi 105 °C in običajnem zračnem tlaku so krajši čas koncentriranja in boljše senzorične lastnosti končnega izdelka.

Saharoza je disaharid, sestavljen iz dveh monosaharidov, α -D-glukoze in β -D-fruktoze. Saharoza pod vplivom toplote, kisline ali encimov hidrolizira na obe monomeri. Pri našem delu smo opazovali vpliv sestave jabolčne kaše in režima koncentriranja na hitrost hidrolize saharoze.

1.1 NAMEN NALOGE

- Glavni namen naloge je bil raziskati vpliv različnih faktorjev na hitrost hidrolize saharoze med postopkom koncentriranja jabolčne kaše.
- S pomočjo HPLC metode smo zasledovali vsebnost sladkorjev in preučevali vpliv načina koncentriranja na hitrost konverzije saharoze v glukozo in fruktozo.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

- Predvidevamo, da bo hitrost zviševanja suhe snovi v vzorcih odvisna od načina koncentriranja jabolčnih kaš in modelnih raztopin.
- S HPLC metodo lahko uspešno brez dolgotrajne predhodne priprave vzorcev določimo vsebnost saharoze, glukoze in fruktoze.
- Predvidevamo, da bo stopnja konverzije saharoze odvisna od načina koncentriranja vzorcev jabolčne kaše in modelnih raztopin.
- V postopku koncentriranja jabolčne kaše pri znižanem tlaku in temperaturi bo delež razpadle saharoze najmanjši.

2 PREGLED OBJAV

2.1 MARMELADE, DŽEMI

Pravilnik o kakovosti džemov, želejev, marmelad in sladkane kostanjeve kaše (2004) predpisuje minimalne pogoje glede kakovosti in označevanja, ki jih morajo pri proizvodnji in v prometu izpolnjevati posamezni sadni izdelki.

Preglednica 1: Vsebnost sadja v izdelkih (Pravilnik o kakovosti džemov, ...kaše, 2004)

	Vsebnost sadja/ 1000 g končnega izdelka	Opis izdelka
Džem	min. 350 g sadja	Iz sadne pulpe in/ali sadne kaše ene ali več vrst sadja, sladkorjev in vode.
Ekstra džem	min. 450 g sadja	Iz nezgoščene sadne pulpe ene ali več vrst sadja, sladkorjev in vode.
Žele	min. 350 g sadnega soka	Mešanica sladkorjev in sadnega soka in/ali vodnih ekstraktov iz ene ali več vrst sadja.
Ekstra žele	min. 450 g sadnega soka	Količina sadnega soka in/ali vodnih ekstraktov za proizvodnjo 1000 g izdelka ne me biti manjša od količin, določenih za ekstra džeme.
Marmelada	min. 200 g citrusov	Mešanica vode, sladkorjev in ene ali več vrst proizvodov, pridobljenih iz citrusov: pulpe, kaše, soka, vodnega ekstrakta in lupine.
Domača marmelada	min. 300 g sadnega deleža	Ustrezno želirana mešanica sladkorjev in sadne kaše.
Ekstra domača marmelada	min. 450 g sadne kaše	Ustrezno želirana mešanica sladkorjev in sadne kaše.

Suwa–Stanojević (1999) opisuje marmelado kot izdelek iz pasiranega svežega sadja ali sadnih polizdelkov, ki ima dodan sladkor. Za pripravo industrijske marmelade se običajno uporablja sadna pulpa ali sadna kaša. Marmelada mora vsebovati vsaj 67 % suhe snovi, od tega 7 % suhe snovi sadja, medtem ko Pravilnik o kakovosti ... (2004) predpisuje najmanj 60 % topnih snovi, razen v primerih, ko je bil sladkor delno ali v celoti nadomeščen s sladili.

Običajni sladkor je lahko nadomeščen z glukozo ali glukoznim sirupom (10 % skupne količine sladkorja). Na ta način zmanjšamo sladkost, izboljšamo konzistenco, preprečimo kristalizacijo in dosežemo lepši videz marmelade (Suwa–Stanojević, 1999).

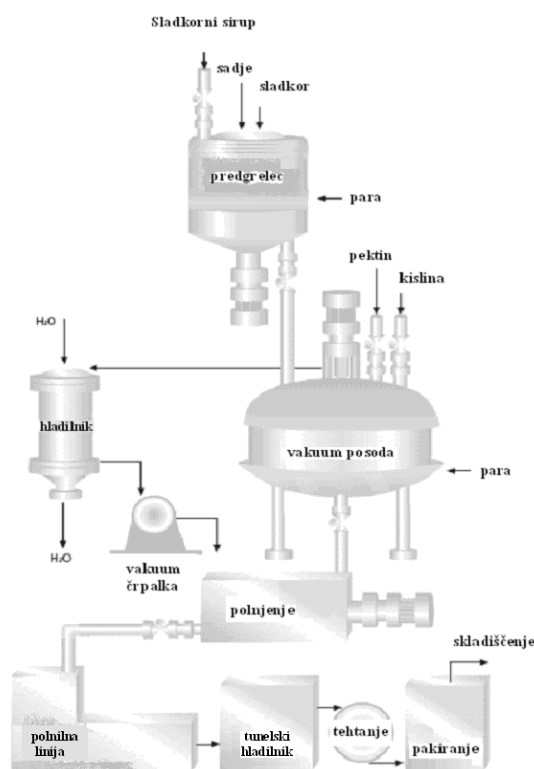
Pri koncentriranih sadnih izdelkih lahko kot alternativo sladkorju uporabimo med, dovoljeno je tudi dodajanje sadnih sokov, sokov citrusov, eteričnih olj citrusov, pektina, likerjev, aromatičnih zelišč in začimb (Pravilnik o kakovosti ..., 2004).

Za džeme je značilno, da so koščki sadja vidni v želirani tekočini. Postopek termične obdelave je daljši, zlasti če je džem pripravljen iz sadnih koščkov z olupki ali lupinicami. Čas, ki je potreben, da dosežemo zahtevan delež suhe snovi v izdelku, je odvisen od vsebnosti vode in sladkorja v sadju ter od samega načina koncentriranja (Furet, 1999).

Pri industrijski proizvodnji džemov in marmelad uporabljamo dva osnovna načina koncentriranja:

- koncentriranje v odprtih sistemih pri atmosferskem zračnem tlaku in
- vakuumsko saržno koncentriranje (Baker in sod., 2005).

Pilgrim in sod. (1991) navajajo, da poteka klasično koncentriranje pri običajnem zračnem tlaku pri temperaturi okoli 105 °C, medtem ko vakuumsko saržno koncentriranje poteka pri temperaturah med 60 in 65 °C (Baker in sod., 2005). Prednosti vakuumskega postopka se odražajo v krajšem času koncentriranja, boljši teksturi, barvi in okusu končnega izdelka. Poleg navedenega s koncentriranjem v vakuumskih uparjalnikih eliminiramo SO₂ (E 220), s katerim je bil sadni polizdelek konzerviran (Suwa–Stanojević, 1999). Izguba hlapnih arom je manjša (Watanabe in sod., 1991), zaradi nižje temperature ne poteče karamelizacija sladkorjev, manjša je tudi oksidacija komponent v postopku koncentriranja. Postopek koncentriranja pri nižjih temperaturah je primeren za proizvodnjo visoko kakovostnih džemov z večjo vsebnostjo celih koščkov sadja. Koncentriranju sledi pasterizacija na ploščnem izmenjevalcu pri 85 do 95 °C in nato hlajenje na temperaturo aseptičnega polnjenja (Baker in sod., 2005).



Slika 1: Sistem za koncentriranje marmelad pri znižanem tlaku (Jams..., 2009)

Furet (1999) razvršča džeme v tri glavne skupine:

➤ Običajni džemi

Zanje je značilna hitra in enostavna priprava, saj se mešanica sladkorja in sadja termično obdela krajši čas na višji temperaturi. Najprimernejše sadje za pripravo običajnih džemov je sadje z visoko vsebnostjo vode (npr. agrumi). Postopek ni primeren za jabolka in jagode, saj razgradnja sadja in želiranje potečeta prehitro – sproščena voda iz sadja ne zadošča za raztopitev dodanega sladkorja pred točko vrelišča. V primeru intenzivnega mešanja prihaja do prevelikih deformacij sadja. Pomanjkljivost klasične metode lahko odpravimo s predpripravo sladkornega sirupa, kateremu naknadno dodamo sadje. Vroč sirup sadeže obari in s tem v pripravku ohrani vidne delce sadja.

➤ Pretlačeni džemi

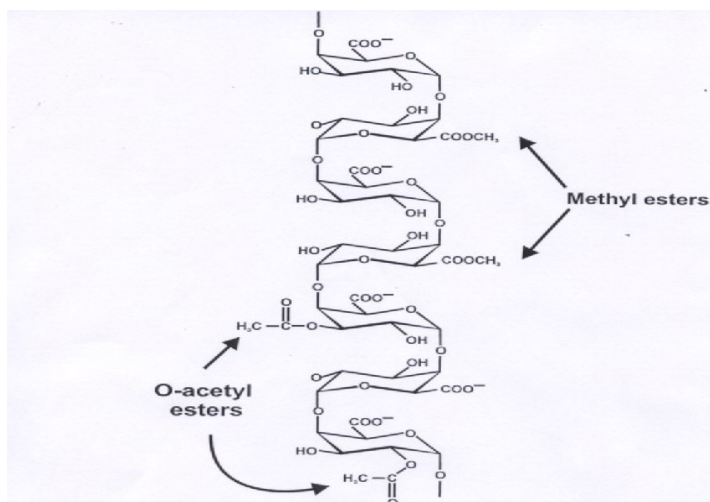
Tako imenujemo džeme, pri katerih sadje v postopku priprave zmeljemo. Značilna je hitra priprava in enakomerna zgoščenost izdelkov. Uporabljamo jih pri pripravi slaščic ter kot dodatek jogurtu ali skuti.

➤ Kraljevi džemi

To so vrhunski džemi, pripravljani po metodi, kjer se sladkor najprej raztopi v sadnem soku in šele nato termično obdela. Ker je čas termične obdelave krajši, ima izdelek lepo vidne delce sadja v svetlem in prosojnem želeju.

2.1.1 Pektin

Pektin sodi v skupino kompleksnih polisaharidov, sestavljenih iz enot galakturonske kisline, ki so med seboj povezane z 1-4 glikozidno vezjo. Glavni vir v komercialni proizvodnji pektina so jabolčne tropine in lupine citrusov. Zaradi svojih želirnih lastnosti se več kot tretjina pektina uporablja v industriji marmelad in džemov. V procesu želiranja pektin izoblikuje tridimenzionalno mrežo na način, da se deli homogalakturonana križno povežejo in s tem imobilizirajo sladkor in prisotno sadno maso (Ridley in sod., 2001; Flutto, 2003).



Slika 2: Struktura homogalakturonana (Ridley in sod., 2001: 931)

Pektin v plodovih najdemo v treh oblikah: netopni pektin – protopektin, topni pektin in pektinsko kislino. Protopektin, ki je sestavljen iz galakturonske kisline, ostankov fosforjeve kisline, celuloze in sladkorja, lahko ob prisotnosti jabolčne kisline preide v topni pektin. Sposobnost želiranja pektina se povečuje z večanjem molekulske mase, povečevanjem števila metiliranih skupin ter s prisotnostjo jabolčne ali citronske kisline (Gvozdrenovič, 1999).

Vibhakara in Bawa (2006) sta mnenja, da na čvrstost gela vplivajo koncentracija pektina, pH vrednost in koncentracija sladkorjev.

Preglednica 2: Faktorji, ki vplivajo na čvrstost gela pri želiranih sadnih izdelkih (Vibhakara in Bawa, 2006)

Faktor	Mejne vrednosti	Optimalna vrednost
koncentracija pektina (%)	0,5 – 1,5	1,0
pH	2,7 – 3,6	3,0
koncentracija sladkorjev (%)	65 - 71	67,5

Jabolka, kutine, citrusi in ribez sodijo v skupino sadja z visoko vsebnostjo pektina, marmelada iz tega sadja hitro želira in tvori čvrst gel (Norman, 1993). Pri proizvodnji marmelad in džemov iz sadja s srednjo ali nizko vsebnostjo pektina je potrebno kombinirati s sadjem z višjo vsebnostjo pektina ali pa z dodatkom komercialnega želirnega sredstva (Furet, 1999).

Vibhakara in Bawa, (2006) sta razdelila sadje glede na vsebnost pektina in organskih kislin:

- Sadne vrste, bogate s pektinom in kislinami (nezrela jabolka, grozdje, lupine limon, papaja, pomaranče in slive).
- Sadje, bogato s pektinom in z malo kislinami (jabolka z manj jabolčne kisline, nezrele banane in smokve, višnje, grenivke).
- Sadne vrste z malo pektina in večjim deležem kislin (nezrele marelice, breskve, ananas in jagode).
- Sadje z malo pektina in z nizko vsebnostjo organskih kislin (zrele marelice in breskve, granatna jabolka, maline).

2.1.2 Sladila

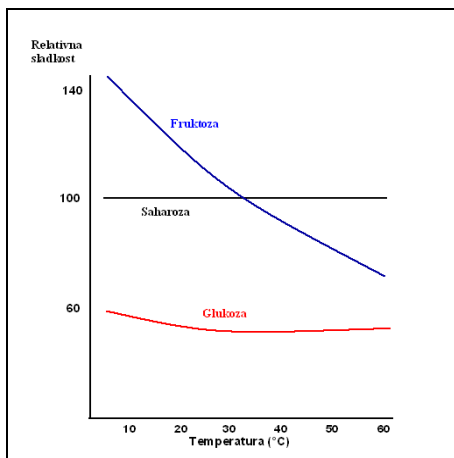
Sladila so snovi, ki se zaradi svojih fizikalno – kemijskih lastnosti specifično vežejo na receptorska mesta v ustih in s tem izzovejo zaznavo sladkega okusa. Najpogosteje uporabljeno sladilo je saharoza oziroma konzumni sladkor. Žal je pretirano uživanje čistega sladkorja povezano z razvojem številnih bolezenskih stanj (ateroskleroze, diabetesa, debelosti, kariesa), kar pa je bilo eno glavnih vodil za raziskave na področju naravnih in sintetičnih sladil (Batič in sod., 1993).

Glavne karakteristike, po katerih lahko razvrstimo sladila:

- poreklo oziroma način pridobivanja,
- kemijska struktura,
- energijska vrednost,
- relativna stopnja sladkosti.

Relativna stopnja sladkosti je izračunana glede na sladkost saharoze. Vrednosti so odvisne od koncentracije referenčne raztopine saharoze (Batič in sod., 1993). Kot referenčna substanca z vrednostjo 100 je predpisana 10 % vodna raztopina saharoze. Izražena stopnja sladkosti je funkcija temperature in pH (Klofutar, 1993).

Alexander (1998) navaja, da je intenziteta sladkosti saharoze konstantna pri vseh temperaturah, medtem ko se sladkost vodne raztopine fruktoze pri porastu temperature s 5 na 60 °C, zniža za približno 50 %. Fruktoza ima zato najvišjo relativno stopnjo sladkosti pri nižjih temperaturah, pri višjih temperaturah pa večino svoje sladkosti izgubi. Vpliv temperature na sladkost raztopin glukoze je zanemarljiva.



Slika 3: Relativna sladkost sladkorjev v odvisnosti od temperature (Alexander, 1998: 40)

Preglednica 3: Razvrstitev najpomembnejših sladil glede na njihovo poreklo in stopnjo sladkosti (Batič in sod., 1993)

POREKLO	VRSTA SLADILA	RELATIVNA STOPNJA SLADKOSTI
NARAVNI MONO IN DISAHARIDI	saharozna	1
	fruktoza	0,85 – 1,50
	glukoza	0,5 – 0,9
	laktoza	0,2 – 0,5
	maltoza	0,3 – 0,5
	galaktoza	0,3
	invertni sladkor	1,2 – 1,3
ENCIMSKA HIDROLIZA POLISAHARIDOV	maltodekstrin	0,2 – 0,4
	maltozni sirup	0,3 – 0,5
	HGCS	0,5 – 0,9
	HFCS	1,0 – 1,5
POLIOLI (SLADKORNI ALKOHOLI)	sorbitol	0,5 – 0,7
	manitol	0,65 – 0,75
	ksilitol	1,0
SINTETIČNA SLADILA	aspartam	110 - 280
	sukraloza	500
	saharin	110 - 720
	ciklamati	30 - 280

HFCS – high fructose corn syrup

HGCS – high glucose corn syrup

2.2 ZNAČILNOSTI JABOLK SORTE JONAGOLD

Jabolka cv. Jonagold so vzgojili s križanjem sort Zlati delišes in Jonatan na inštitutu v ZDA (Agricultural Experiment Station, Geneva, New York). Hibridizacijo so opravili leta 1943, semenjaki so dali prve plodove leta 1953, selekcija pa je bila končana leta 1968, ko je bila sorta uvedena v razmnoževanje. Značilno je, da z njo ne moremo oploditi drugih sort, oplodimo pa jo lahko s sortami Idared, Gloster in Spartan (Hribar, 1989).

Jonagold sodi med visokokakovostne namizne sorte, primeren pa je tudi za predelavo. Poglavitna pomanjkljivost sorte Jonagold se kaže v nezadostni obarvanosti plodov. Ker pa pri tej sorti na zahodnoevropskem trgu dosegajo visoko ceno le dobro obarvani plodovi, so strokovnjaki razvili večje število mutantov, ki se med seboj razlikujejo po odtenku rdeče pokrovne barve. Med najbolj znane spadajo Jonagored, Wilmuta, Jonica, King Jonagold, Daliguy in druge. Najintenzivnejši odtenek temno rdeče barve so dosegli pri mutantu Jonagored (Viršček-Marn in Stopar, 1998).

Lastnosti plodov:

- Velikost:** Plodovi so praviloma debeli.
- Oblika:** Pravilna okrogla izenačena oblika, redkeje nekoliko asimetrična.
- Koža:** Osnovna barva ob obiranju je rumenkasto zelena, v polni zrelosti prehaja v svetlorumeno. Koža je gladka, na manjši ali večji površini ploda oranžno do rdeče obarvana. Lenticеле so srednje velike, močnejše opazne le na močno obarvanih delih plodov.
- Pecelj:** Dolg do zelo dolg, tanek in dlakav. Svetlo zelen, pri obarvanih plodovih tudi nekoliko rdečkast.
- Meso:** Je rumenkaste barve, sočno, topno in srednje čvrsto. Meso plodov je sladkastega do blago kiselkastega okusa in s prijetno, srednje izraženo aromo. Plodovi so srednje občutljivi za poškodbe med manipulacijo in transportom.
- Obiranje:** Začetek septembra do začetek oktobra.



Slika 4: Jabolka cv. Jonagold

Hribar (1989) navaja Jonagold kot zimsko sorto, ki dozoreva 8 do 10 dni pred Zlatim delišesom, oziroma v času, ko dozoreva sorta Jonatan. Z dozorevanjem v skladiščih postane meso polčvrsto, rahlo zrnate strukture, sočnost pa ohrani do porabe.

Uporabnost plodov je odvisna od načina skladiščenja. Skladiščenje v NA pri temperaturi 0 do 2 °C jih ohrani užitne do konca marca ali aprila, medtem ko Viršček-Marn in Stopar (1998) navajata, da je v kontrolirani atmosferi s 6 % CO₂ in 3 % O₂, sorta Jonagold možno uspešno skladiščiti celo do junija. Gvozdrenović (1989) meni, da so plodovi, shranjeni v CA, ob koncu skladiščenja čvrstejši in z večjo vsebnostjo skupnih kislin.

Čas obiranja sorte je odvisen od namena porabe plodov. Plodove za svežo porabo obiramo v užitni zrelosti, ko imajo največjo maso, obarvanost, najboljši okus in aromo. Za daljše skladiščenje v priročnih skladiščih, kletah ali sodobnih hladilnicah z nadzorovano atmosfero je potrebno plodove obrati v tehnološki zrelosti, ki nastopi nekaj dni pred užitno zrelostjo, odvisno od posamezne sorte. Prezgodnje obiranje vpliva na nižjo maso plodov, slabše izraženo krovno barvo, slabšo aromo, nižjo vsebnost sladkorjev in preveliko izgubo vode med skladiščenjem. Prepozno obiranje vpliva na manjšo trdoto plodov, pomanjkanje kislin, pojav fizioloških napak, poveča pa se tudi dovzetnost plodov za poškodbe. Za določitev tehnološke zrelosti uporabljamo natančne metode, kjer določene parametre (trdoto, vsebnost škroba, sladkorja in organskih kislin) izmerimo z aparati ali določimo z reagenti (Štampar in sod., 2009).

Preglednica 4: Priporočene vrednosti za škrob, trdoto, vsebnost sladkorja in organskih kislin pri nekaterih sortah jabolk v tehnološki zrelosti (Štampar in sod., 2009)

Sorta	Vsebnost škroba (1 – 10)*	Trdota (kg/cm ²)	Suha snov (%)	Titribilne kisline (g/L)
Jonagold	7 – 9	5,9 – 6,6	12,0 – 13,5	3,8 – 5,1
Zlati delišes	4 – 6	6,6 – 7,5	11,5 – 13,0	3,8 – 5,1
Jonatan	4,5 – 6	5,9 – 6,6	11,5 – 12,5	5,0 – 6,8

* 1 = 100 % škroba
10 = 0 % škroba

2.2.1 Kemijska sestava jabolk

Jabolka imajo pomembno vlogo v zdravi prehrani, saj so pomemben vir vitaminov, mineralov, vlaknin, fenolnih in ostalih snovi, ki izboljšujejo odpornost telesa in imajo pomembno vlogo pri preprečevanju številnih obolenj. Glavna sestavina je voda, suho snov pa večinoma sestavljajo sladkorji. V primerjavi z njimi je vsebnost beljakovin ter maščob in voskov zanemarljiva. Za jabolka velja, da so nizkokalorično živilo, ki ne vsebuje holesterola. Na vsebnost posameznih snovi v jabolkih poleg sadne vrste bistveno vplivajo tudi klimatske razmere, agrotehnični ukrepi, stopnja dozorelosti in način ter čas skladiščenja. Pri ogljikovih hidratih nihanja v vsebnosti zmanjšamo, če primerjamo plodove iste sorte, enakega zdravstvenega stanja in primerne zrelosti. Kljub vsemu pa nastajajo dodatne razlike v vsebnosti med različnimi deli plodu, predvsem med osvetljenim in neosvetljenim delom (Štampar in sod., 2009).

Preglednica 5: Povprečna kemijska sestava jabolk (Štampar in sod., 2009; Souci in sod., 2000)

Glavne sestavine jabolk	Vrednosti (Štampar in sod., 2009)	Vrednosti (Souci in sod., 2000)
voda (%)	85	84,9
beljakovine (g/100 g)	0,3	0,34
minerali (g/100 g)	0,32	0,32
vitamin C (mg/100 g)	12	12
balastne snovi (%)	1,8 – 2,5	2,02
skupne kisline (mg/100 g)	940	460
jabolčna kislina (mg/100 g)	886	426
citronska kislina (mg/100 g)	50	
skupni sladkorji (%)	13	11,4
glukoza	1,66	
fruktoza	6,67	5,74
saharoza	3,59	
sorbitol	1,21	
Energetska vrednost (kJ/100 g)	0,32	

2.2.1.1 Voda

Jabolka vsebujejo približno 85 % vode. Količina vode v plodovih je odvisna od tega, koliko vode vsebuje plod pred obiranjem. V primeru večjih temperaturnih nihanj in morebitnih drugih neugodnih razmer se vsebnost vode v jabolkih lahko spreminja tudi tekom dneva. Plodove je priporočljivo obirati v času, ko vsebujejo največ vode. Velika količina vode v plodovih je po drugi strani razlog, da so plodovi bolj dovzetni za povečano transpiracijo in bolj občutljivi za mehanske ter mikrobiološke poškodbe (Gvozdenović, 1989; Požar, 2003).

2.2.1.2 Sladkorji

Glavnino topne suhe snovi v sadju predstavljajo fruktoza, glukoza in saharoza. Nezrela jabolka vsebujejo večji delež glukoze kot fruktoze. Z zorenjem škrob hidrolizira v enostavne sladkorje, s tem pa se povečuje sladkost in senzorične lastnosti plodov. Ob tem se najbolj poveča delež fruktoze, medtem ko se delež glukoze bistveno ne spremeni. Drugi sladkorji, kot so maltoza, arabinoza, rafinoza in ksiloza običajno nastajajo kot produkti razpadanja drugih snovi in hitro izginejo (Gvozdenović, 1989). Poleg sladkorjev sadje vsebuje tudi sorbitol in manitol, ki ju uvrščamo med sladkorne alkohole (Štampar in sod., 2009).

Požar (2003) navaja, da jabolka vsebujejo 11 % ogljikovih hidratov, od tega 2,5 % balastnih snovi. Sem prištevamo neprebavljive polisaharide, kot so celuloza, hemiceluloza in pektini (Štampar in sod., 2009).

Črček (2007) je v svojem diplomskem delu proučevala povprečno vrednost posameznih sladkorjev v desetih različnih kultivarjih jabolk. Pri zrelih jabolkih prevladuje vsebnost fruktoze nad vsebnostjo glukoze. Podobnega mnenja o vsebnosti fruktoze in glukoze so tudi Štampar in sod. (2009), navajajo pa nižjo vsebnost saharoze (3,6 %). Sinha (2006) je mnenja, da ti trije sladkorji predstavljajo 80 % vseh ogljikovih hidratov v plodovih jabolk.

Preglednica 6: Povprečne vrednosti sladkorjev v plodovih jabolk (Črček, 2007; (*) Štampar in sod., 2009)

Ogljikovi hidrati	Vsebnost (%)
Saharoza	6,7 (3,6)*
Fruktoza	6,2 (6,6)*
Glukoza	1,2 (1,6)*

2.2.1.3 Lipidi

Lipidov je v večini sadnih vrst manj kot 1 % sveže mase. V teh sadnih vrstah se te snovi ne kopičijo kot rezervna hrana, ampak so pomembne, ker varujejo kutikulo in celično membrano pred preveliko izgubo vode (Gvozdenović, 1989).

2.2.1.4 Proteini

Gvozdenović (1989) navaja, da je proteinov v večini sadnih plodov 0,3 do 2 % sveže mase. Kljub nizki koncentraciji v plodovih so zelo pomembna sestavina celičnega jedra in citoplazme ter encimov, ki sodelujejo v metabolizmu plodov med rastjo in zorenjem. Od aminokislin, ki jih najdemo v sadju, velja omeniti arginin, asparagin in glutamin.

2.2.1.5 Organske kisline

Organske kisline, ki jih najdemo v sadju, največkrat poimenujemo s skupnim izrazom sadne kisline. V jabolkih je največ jabolčne kisline (0,3 – 0,9 %) in citronske kisline (50 mg/100 g) (Gvozdenović, 1989; Štampar in sod., 2009). Druge organske kisline, ki jih najdemo v sadju v majhnih količinah, prištevamo med aromatične snovi (Štampar in sod., 2009). Nahajajo se v celični tekočini in imajo pomembno vlogo v metabolizmu plodov. Stopnja zrelosti plodov je povezana s količino organskih kislin oziroma z razmerjem med skupnimi sladkorji in kislinami. Pri zorenju plodov to razmerje narašča, saj se količina sladkorjev zaradi hidrolize škroba povečuje, vsebnost organskih kislin pa se zaradi vstopa v metabolne procese zmanjšuje (Gvozdenović, 1989).

2.2.1.6 Aromatične snovi

K značilni aromi plodov poleg sladkorjev in organskih kislin prispevajo še različne hlapne snovi, ki nastajajo predvsem med zorenjem plodov. Sem sodijo predvsem razni alkoholi, kisline, estri, aldehidi in ketoni. Za te snovi je pomembna njihova mejna koncentracija, ki jo človek lahko zazna. Ker so nekatere v sadju prisotne v zelo majhnih količinah, k zaznavi arome pripomore le del hlapnih substanc (Štampar in sod., 2009).

2.3 OGLJIKOVI HIDRATI

Ogljikovi hidrati so najbolj razširjene organske spojine in so poleg maščob in beljakovin glavna sestavina hrane. Nastanejo z biosintezo v zelenih rastlinah in imajo osrednjo vlogo v metabolizmu rastlin in živali (Klofutar, 1993; Peris-Tortajada, 2004).

Boyer (2005) navaja nekaj ključnih funkcij ogljikovih hidratov:

- Glukoza in fruktoza vstopata kot direktni vir hranil v metabolne procese, medtem ko imata polisaharida škrob in glikogen vlogo rezervnih spojin v rastlinskih in živalskih celicah.
- Ogljikovi hidrati so pomembni kot strukturni elementi bakterijskih in rastlinskih celičnih sten ter vezivnega tkiva pri ljudeh in živalih.
- Monosaharida riboza in deoksiriboza sta komponenti nukleinskih kislin in sta gradbeni element RNA in DNA.
- Glikolipidi in glikoproteini delujejo kot informacijske molekule na površini celic in sodelujejo pri prepoznavanju molekul.

2.3.1 Delitev ogljikovih hidratov

Ogljikovi hidrati so primarni produkt oksidacije polihidroksi aldehydov oziroma polihidroksi ketonov Peris-Tortajada (2004). Če vsebuje sladkor aldehydno skupino, ga razvrščamo med aldoze, če pa ima ketonsko skupino, je to ketoza (Klofutar, 1993; Boyer, 2005).

Glede na število molekul jih delimo na monosaharide, oligosaharide in polisaharide. Enostavni ogljikovi hidrati oziroma monosaharidi so spojine z empirično formulo $(\text{CH}_2\text{O})_n$, ki jih poimenujemo glede na število C-atomov (trioze, tetraze, pentoze, heksoze,...). Med najbolj pomembne monosaharide sodijo glukoza, fruktoza in galaktoza. (Peris-Tortajada, 2004; Boyer, 2005).

Oligosaharidi nastanejo iz monosaharidov z eliminacijo vode (Klofutar, 1993). Sem sodijo prehransko zelo pomembni disaharidi, ki so sestavljeni iz dveh enakih (maltoza) ali pa dveh različnih monosaharidnih enot (saharoza, laktoza).

Polisaharidi so polimerne spojine, v katerih so monosaharidne enote povezane med seboj z glikozidno vezjo. Polimer lahko sestavlja ista monosaharidna enota (homopolisaharidi – škrob, celuloza, glikogen), lahko pa je sestavljen iz različnih enot (heteropolisaharidi).

Škrob je rastlinski rezervni polisaharid, sestavljen iz glukoznih enot, ki so povezane z α -1,4 glikozidnimi vezmi. Encimska razgradnja poteka v več stopnjah, najprej do krajših dekstrinov in maltoze. Končni produkt razgradnje maltoze je glukoza, ki vstopa v metabolne procese.

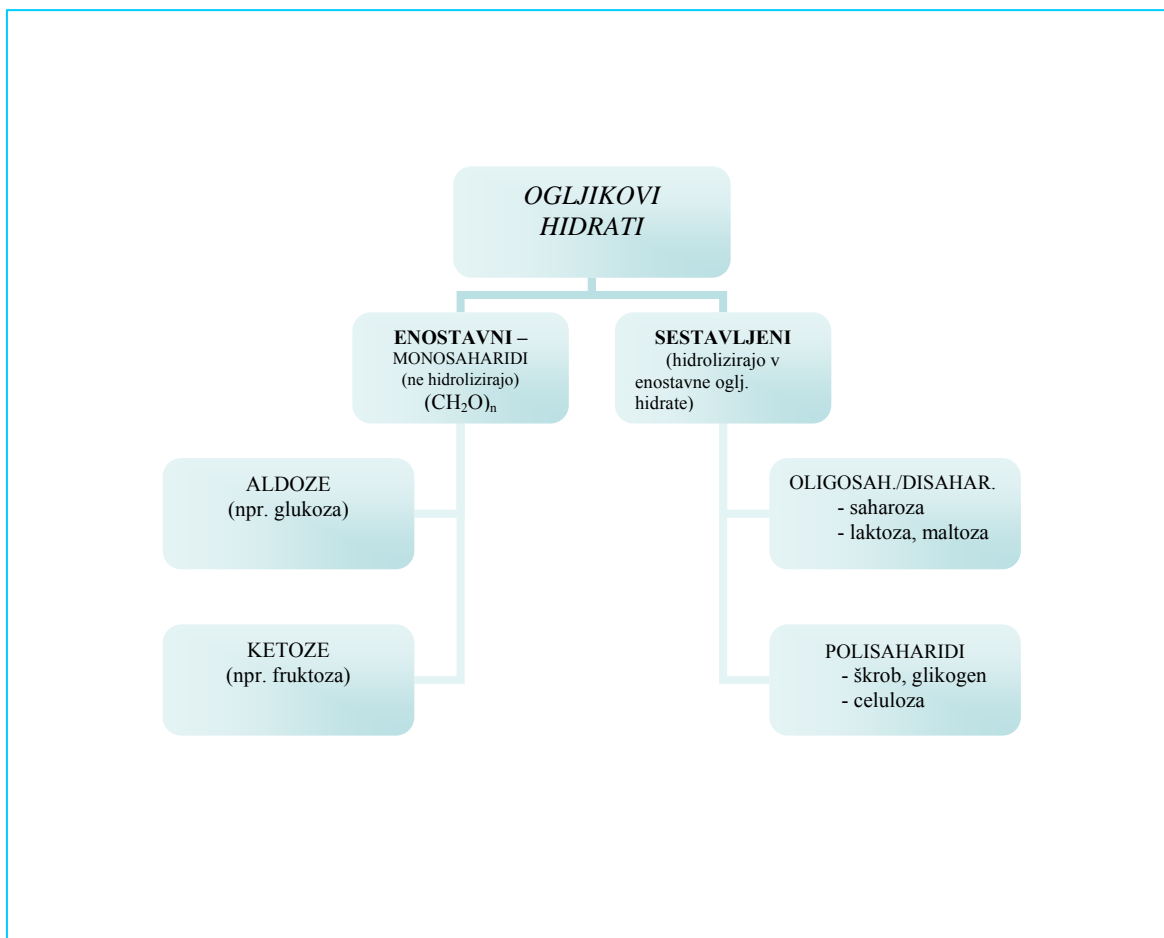
Glikogen je rezervni polisaharid živalskega izvora. Kot oblika rezervne energije se nahaja v mišičnih celicah in jetrih.

Celuloza predstavlja 45 % vseh organskih snovi, ki jih proizvedejo rastline. Večino celuloze, hemiceluloze in lignina ostane neizkoriščena. Pri prežvekovalcih so celulaze mikrobiološkega izvora in cepijo molekule betaglukoze v nižje maščobne kisline, CO₂, CH₄ in vodik (Koch in sod., 1993; Perdih, 1996; Požar, 2003).

Peris-Tortajada (2004) razvršča ogljikove hidrate glede na namen analize.

Preglednica 7: Klasifikacija prehranskih ogljikovih hidratov (Peris–Tortajada, 2004)

Skupina	Predstavniki
Topni ogljikovi hidrati	Glukoza, fruktoza, galaktoza, laktoza, maltoza, saharoza.
Vsi ogljikovi hidrati	Vsi topni in škrob, pektin, celuloza in hemiceluloza.
Reducirajoči sladkorji	Glukoza, fruktoza, galaktoza, laktoza, maltoza.
Razgradljivi ogljikovi hidrati	Vsi z izjemo vlaknin.
Aldehidi oz. ketoni	
Pentoze, heksoze, heptoze	



Slika 5: Delitev ogljikovih hidratov (Požar, 2003)

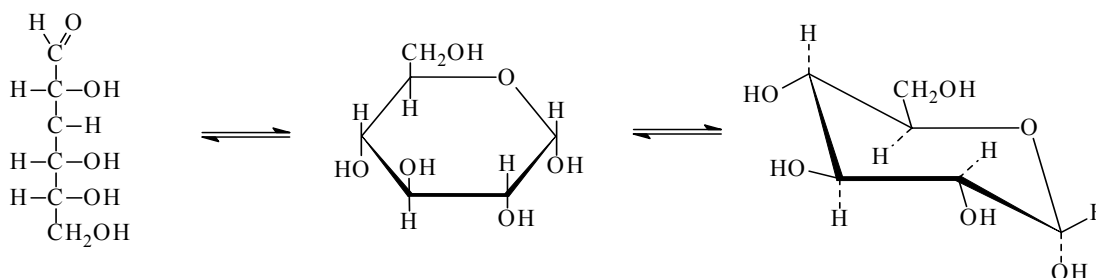
Lastnosti ogljikovih hidratov

Higroskopičnost sladkorjev je odvisna od njihove strukture, izomer in čistosti produkta. Mono in disaharidi so dobro topni v vodi, pri suhem segrevanju pa je zanje značilno, da karamelizirajo. Visoke koncentracije sladkorjev imajo plazmolitičen učinek, saj znižujejo koncentracijo razpoložljive vode in s tem delujejo kot konzervansi. Pri nižjih koncentracijah v anaerobnih pogojih poteče alkoholna fermentacija (pivo, vino), ob prisotnosti mlečnokislinskih bakterij pa mlečnokislinska fermentacija (fermentirani mlečni in zelenjavni izdelki). Od polisaharidov ima pomembno vlogo škrob, ki v vodi nabrekne in pri temperaturi okoli 65 °C zakleji in tako postane prebavljiv. Škrob pri suhem segrevanju razpade na krajše polimere (dekstrine), ki so lažje prebavljivi kot sam škrob (Klofutar 1993; Požar, 2003).

2.3.1.1 Glukoza

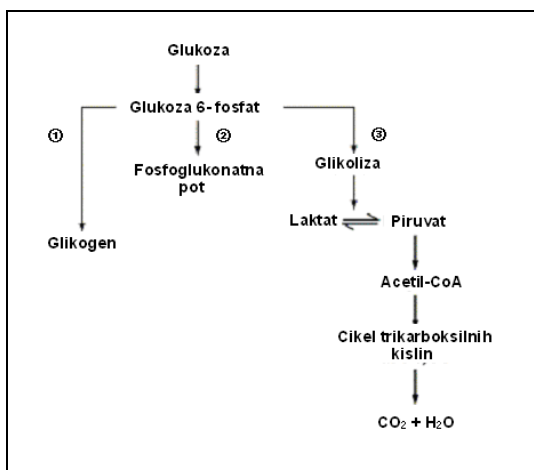
Glukoza ($C_6H_{12}O_6$) je monosaharid, ki ga najdemo v sadju, medu in nekaterih vrstah zelenjave (Požar, 2003). Glukoza iz zaužitih ogljikovih hidratov pokriva 50–70 % vseh energetskih potreb organizma (Macdonald, 2003).

Zaradi nastanka intramolekularne hemiacetalne vezi tvori α -D-glukoza šest členski obroč, glukopiranozo, ki jo opišemo z Haworthovo projekcijsko formulo (Klofutar, 1993; Sreeranjit in Lal, 2003).



Slika 6: Struktura α -D-glukoze - Fisherjeva in Haworthova projekcija (Sreeranjit in Lal, 2003)

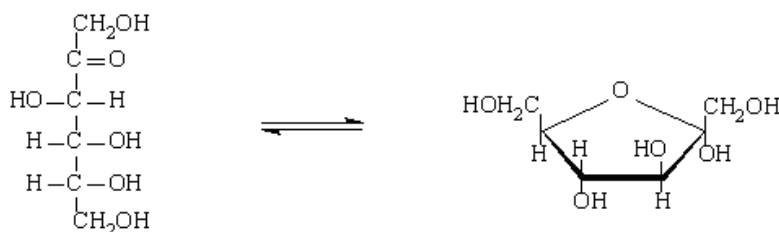
V telesu se glukoza v procesu glikolize, oksidativne dekarboksilacije in citratnega ciklusa presnovi do vode in ogljikovega dioksida. Pri glikolizi poteka razgradnja glukoze do piruvata in omogoča nastanek ATP v aerobnih ali anaerobnih pogojih. V anaerobnih pogojih poteče redukcija piruvata do laktata, pri čemer nastaneta 2 molekuli ATP, v aerobnih pogojih pa pri popolni razgradnji molekule glukoze do CO_2 in H_2O nastane 32 molekul ATP. Pri presežkih glukoze se ob prisotnosti encima glikogen–sintetaze glukoza pretvori v jetrih in mišicah v rezervni glikogen (Klofutar, 1993; Macdonald, 2003; Bender, 2003).



Slika 7: Metabolne poti glukoze (Macdonald, 2003)

2.3.1.2 Fruktoza

Fruktoza (sadni sladkor) je naravno prisoten sladkor v zrelem sadju in medu (Požar, 2003). Jabolka jo vsebujejo okoli 7 %, medtem ko jo je v rozinah celo 34 % (Johnson in Conforti, 2003). Fruktoza je bistveno slajša od glukoze (Alexander, 1998) in je manj obstojna, saj začne karamelizirati že pri 70 °C (Perdih, 1996). Glavni način pridobivanja fruktoze je hidroliza škroba do glukoze, ki jo nato encimsko konvertiramo v fruktozo (Johnson in Conforti, 2003).

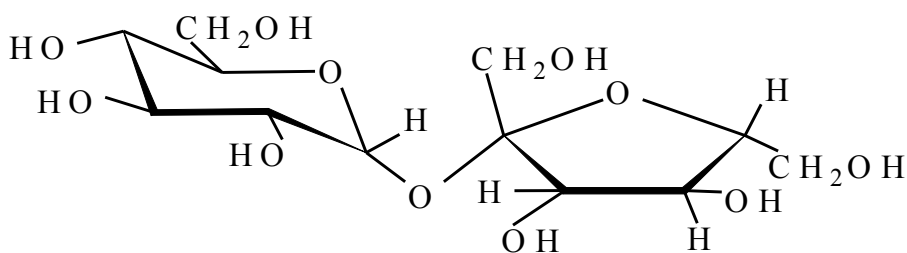


Slika 8: Struktura α -D-fruktoze (Moreau in sod., 2000)

Zmes glukoze in fruktoze v razmerju 50:50 imenujemo **invertni sladkor**. Najpogosteje ga pridobivamo z encimsko hidrolizo saharoze s pomočjo encima invertaze, ki je pridobljena iz kvasovk. Je 20–30 % slajši od izhodiščne surovine saharoze. V industriji običajno dodamo izdelku delno hidrolizirano sladkorno raztopino skupaj z encimom, tako da se med procesom ali pa naknadno izvrši dokončna hidroliza disaharida v glukozo in fruktozo (Batič in sod., 1993). Optimalni delež invertnega sladkorja v želiranih izdelkih je med 35 in 40 % skupnega sladkorja. Stopnja inverzije je odvisna od pH, časa in pa temperature koncentriranja.

2.3.1.3 Saharoza

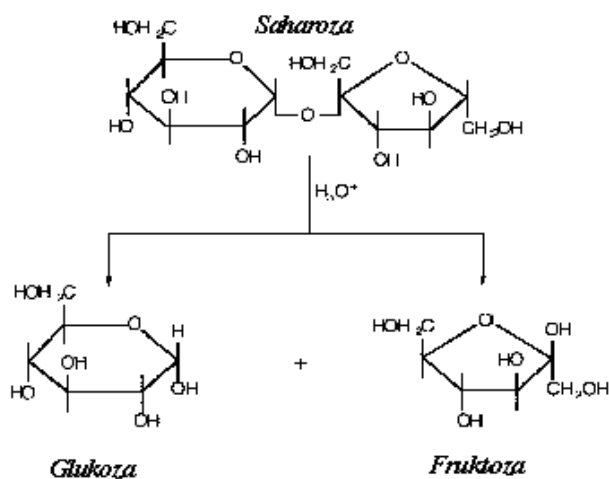
Saharoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$) je disaharid, kjer sta glukozo in fruktozo povezani z 1,2- α -glikozidno vezjo. Predstavlja najpomembnejše sladilo, ki ga pridobivajo z ekstrakcijo iz sladkornega trsa (*Saccharum officinarum*) in sladkorne repe (*Beta vulgaris* var. *rapa*) (Batič in sod., 1993), pa tudi iz nekaterih manj pomembnih virov, kot so sladkorni javor (*Acer saccharum*), datljevec in sladkorni sirek (*Sorghum vulgare*). S selekcijo so vzgojili sorte sladkornega trsa, ki vsebujejo 17–20 % saharoze, tako da proizvodnja lahko presega 12 ton saharoze na hektar. Poraba saharoze je odvisna od različnih dejavnikov in prehranskih navad prebivalstva, vendar lahko v razvitih državah letno preseže 40 kg na prebivalca (Huberlant, 2003).



Slika 9: Struktura disaharida saharoze (Alexander, 1998)

Saharoza nima proste polacetalne OH-skupine, zato nima lastnosti reducenta. Reakcije na reducente so pozitivne šele po hidrolizi saharoze, ko razpade na ekvimolarno mešanico glukoze in fruktoze. Hidrolizo saharoze imenujemo tudi inverzija, saj nastala polarizirana

monosaharida sučeta ravnino polarizirane svetlobe v obratni smeri kot izhodiščna raztopina saharoze. Saharoza ima specifično optično rotacijo $\alpha = +66,5^\circ$, medtem ko ima mešanica glukoze in fruktoze specifično optično rotacijo $\alpha = -19,8^\circ$. Invertna sladkorja vstopata v metabolne poti in predstavljata vir energije (Klofutar 1993; Alexander, 1998).



Slika 10: Hidroliza saharoze (Moreau in sod., 2000)

2.4 TEKOČINSKA KROMATOGRAFIJA VISOKE LOČLJIVOSTI (HPLC)

Tekočinska kromatografija visoke ločljivosti je metoda, ki se v analitiki ogljikovih hidratov največ uporablja (Plestenjak, 1993). Odlikuje jo visoka učinkovitost, hitrost in visoka stopnja ločljivosti. Uporablja se tako za preparativno delo kot tudi za kvalitativne in kvantitativne analize kompleksnih vzorcev (Kregar, 1996).

Zaradi omenjenih prednosti je metoda zamenjala starejše načine determinacije sladkorjev v različnih vrstah hrane (PC, TLC, GLC) (Paris-Tortajada, 2000).

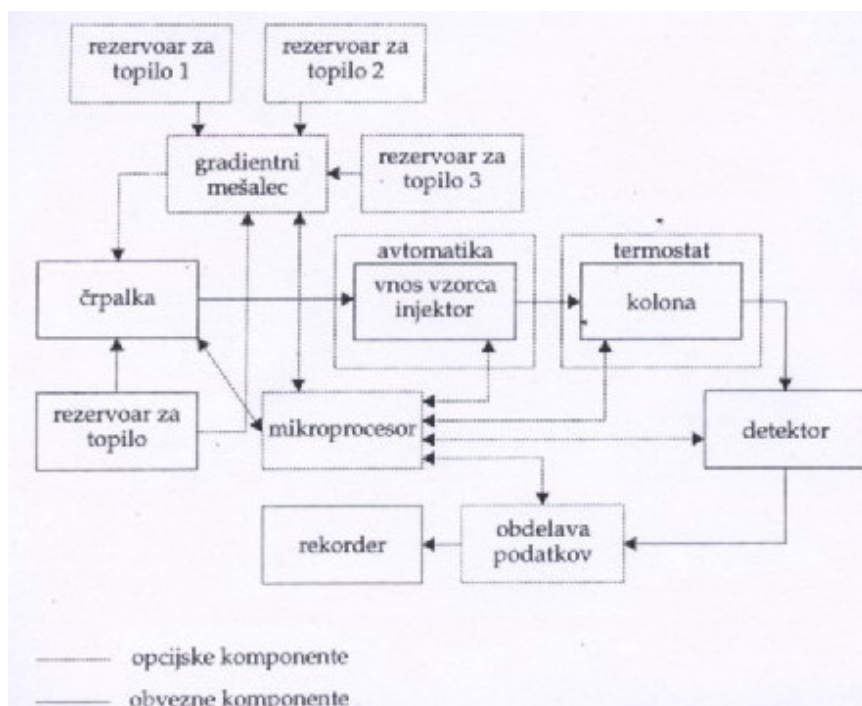
Zelo popularna plinska kromatografija monosaharidov je natančna in občutljiva, vendar je slaba stran te analize dolgotrajna derivatizacija sladkorjev, ki večkrat ne poteče kvantitativno (Brobst in Scobell, 1982, cit. Po Lovšin – Kukman, 1991). Odločitev o tem, katero metodo bomo uporabili, je pogosto odvisna od narave vzorca in ne od relativnih prednosti posamezne metode. GLC je primerna za vzorce, ki vsebujejo oligosaharide v sledovih poleg relativno visokega deleža monosaharidov (Plestenjak, 1993).

Preglednica 8: Primerjava metod HPLC in GLC pri analizi sladkorjev (Paris–Tortajada, 2000: 289)

HPLC	GLC
Bolj primerna metoda za srednje in višjemolekularne ogljikove hidrate.	Bolj občutljiva metoda.
Bistveno krajši čas analize (50 %).	Omogoča ločbo α in β anomer.
Večja natančnost in ponovljivost.	Bolj primerna za monosaharide.
Raztopine sladkorjev so direktno uporabne.	Raztopine sladkorjev je potrebno pred analizo posušiti in derivatizirati.

Za separacijo ogljikovih hidratov z metodo HPLC se pogosto uporabljajo modificirane ionsko izmenjevalne kolone z mobilno fazo acetonitril/voda (Nikolov in Jakovljevič, 1984).

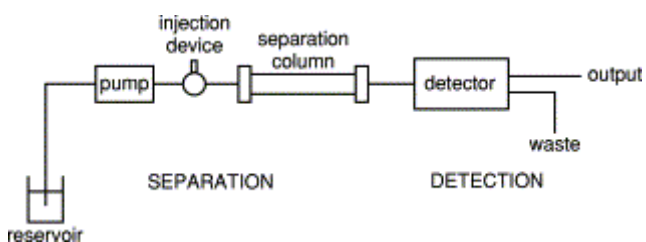
Ker se HPLC tehnologija zelo hitro razvija, je pomembno, da ima sistem možnost nadgradnje z novimi komponentami (črpalka, detektor). To je glavna prednost modularnega sistema, ki je prikazan na sliki 11 (Kregar, 1996).



Slika 11: HPLC sistem (Hancock, 1984, cit. Po Kregar, 1996: 622)

HPLC sistem vsebuje sledeče komponente:

- rezervoar mobilne faze,
- razplinjevalec mobilne faze,
- črpalko,
- injektor,
- kromatografsko kolono,
- detektor,
- instrument za zapis signala (Žorž, 1991).



Slika 12: Komponente HPLC sistema (Forgacs in Cserhati, 2003)

2.4.1 Rezervoar mobilne faze

Za mobilno fazo uporabljamo zelo čista topila (uporabljeno je bilo topilo acetonitril) ter bidestilirano vodo v ustreznem volumskem razmerju. Ker so mobilne faze, ki jih uporabljamo pri analizi, pogosto vnetljive in toksične, so najbolj primerne steklene posode. Posode morajo biti ustrezno zatesnjene, da se sestava mobilne faze zaradi hlapnih komponent ne spreminja (Žorž, 1991; Kregar, 1996).

2.4.2 Razplinjevalec mobilne faze

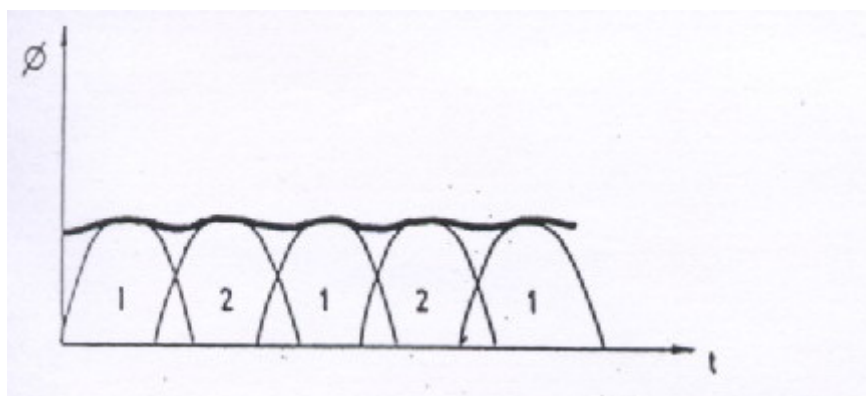
Raztopljeni plini v topilu se pri višji temperaturi črpalke izločajo in s tem povzročajo nihanje pritiska na črpalki, kar ima za posledico neustrezno separacijo. Ker prisotnost plinskih mehurčkov v detektorski celici onemogoča konstanten pretok mobilne faze (Žorž, 1991), topilo pred analizo prefiltriramo in odstranimo raztopljene pline (Kregar, 1996). Najboljši, vendar tudi najdražji način je prepihanje s helijem ali dušikom, enostavnejši in hitrejši način razplinjanja mobilne faze pa je z uporabo ultrazvočne kopeli (Moreno-Aribas in Polo, 2003). Razplinjevalec je lahko opsijska komponenta med rezervoarjem in črpalko, ki pripravo mobilne faze pred analizo zelo poenostavi.

2.4.3 Črpalke

Črpalke so zelo pomemben del HPLC sistema, ki zagotavljajo pretok mobilne faze skozi injektor do kromatografske kolone (Moreno-Aribas in Polo, 2003). Zagotoviti morajo:

- kontinuiran dovod mobilno faze,
- konstanten pretok,
- delovanje v širokem območju pretočnih hitrosti,
- natančen pretok in
- določeno sestavo zmesi (Kregar, 1996).

Moreno–Aribas in Polo (2003) omenjata dva tipa črpalk. Cenejše črpalke s konstantnim tlakom so enostavnejše za uporabo, vendar ne zagotavljajo enakomerne pretoka zaradi spremembe viskoznosti mobilne faze in upora na koloni. Pogosteje se uporabljajo črpalke s konstantnim pretokom mobilne faze, kamor sodijo recipročne črpalke z različnim številom črpalnih glav (Žorž, 1991), ki so elektronsko regulirane, kar zagotavlja enakomeren pretok, ki ni odvisen od upora na koloni.



Slika 13: Grafični prikaz pretoka pri dvoglavni črpalki z ekscentričnim pogonom (Žorž, 1991)

2.4.4 Injektor

Aplikacija vzorcev na kolono poteka pri HPLC sistemih preko posebnih ventilov–injektorjev (Kregar, 1996). Ti nam omogočajo kvantitativen vnos analita v sistem ter dobro ponovljivost med posameznimi doziranji. Najpogosteje so v uporabi injektorji z dozirnimi zankami. Interno zanko predstavlja že sam rotor ventila z ustreznimi utori (1–10 μL). Za analitsko delo uporabljamo eksterne zanke z volumnom 20–100 μL , za preparativno delo pa zanke z večjimi volumni (Žorž, 1991). S posebnimi dozirnimi iglami (syringe) apliciramo vzorec v sistem, ta pa nato skupaj z mobilno fazo potuje naprej do kolone (Moreno–Aribas in Polo, 2003). Pred injiciranjem je potrebno sladkorne raztopine filtrirati preko membranskih filtrov s prepustnostjo 0,22–0,45 μm (Jeon, 1995). Pri našem delu smo uporabljali steklene igle z izvrtanim rezervoarjem in kovinskim batom.

2.4.5 Kromatografska kolona

Kromatografska kolona je del HPLC sistema, na katerem se odvijajo procesi separacije. Izdelana je iz inertnega materiala, običajno iz nerjavnega jekla, pri separacijah z nižjimi tlaki pa lahko uporabljamo tudi steklene ali teflonske kolone. Ločljivost kolone je odvisna od velikosti delcev polnila ter od dolžine kolone, pri čemer Kregar (1996) navaja, da manjši delci polnila povečujejo ločljivost kolone in upor, ki se izraža kot povratni tlak kolone. S povečevanjem dolžine kolone narašča tlak v HPLC sistemu, medtem ko se skrajševanje kolon odraža v slabši selektivnosti analitov (Žorž, 1991).

Sposobnostjo ločevanja snovi nam ponazarja kakovost HPLC kolone. Ločljivost definirajo trije parametri:

- Učinkovitost kolone – sposobnost kolone, da snovi po njej potujejo v ozkih in ostrih pasovih.
- Kapacitivnost – meri zadrževanje snovi in jo merimo kot volumen.
- Ločljivost α – odraža sposobnost kolone, da loči podobne komponente, ki eluirajo skupaj (Kregar, 1996).

Za natančnost meritev je pomembno, da analize izvajamo pri konstantni temperaturi, pri čemer kolono običajno temperiramo na sobno temperaturo. V kolikor je pri separaciji potrebna višja temperatura, uporabimo kolonski termostat.

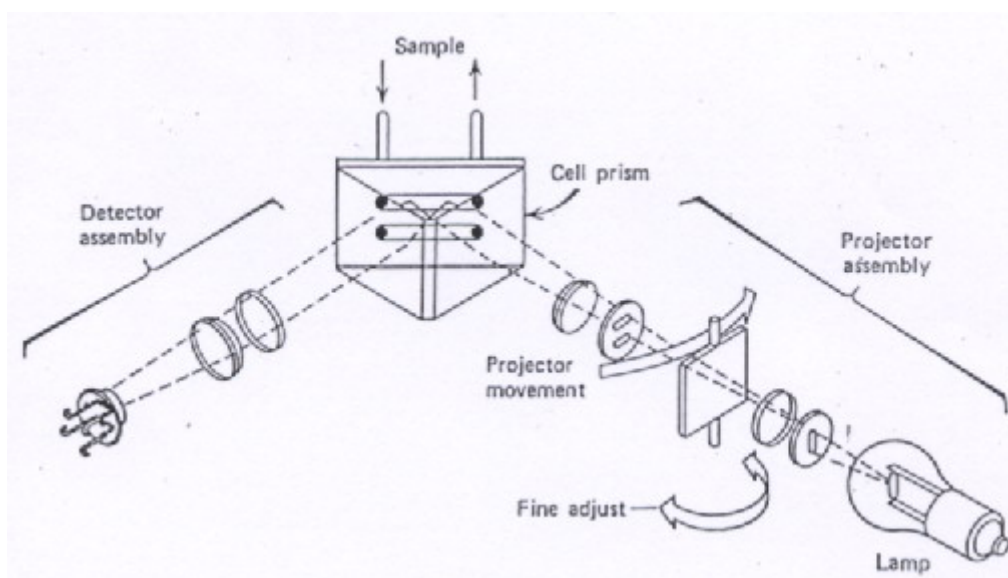
2.4.6 Detektor

Detektorji zaznajo in merijo količine snovi, ki eluirajo iz kolone. Delujejo na principu merjenja razlik v fizikalnih lastnostih mobilne faze in v njej raztopljenih snovi (merjenje lomnega količnika, električne prevodnosti), ali pa topljenca (absorpcija svetlobe, fluorescenca).

Pri HPLC analizah najpogosteje uporabljamo UV–Vis detektorje, fluorescenčne detektorje, refraktometrične detektorje ter detektorje na električno prevodnost. Med specifične detektorje sodita fluorescenčni in elektrokemijski detektor, ki sta zaradi svoje specifičnosti bistveno bolj občutljiva in dosegata nižje meje detekcije (Žorž, 1991; Forgacs in Cserhati, 2003).

2.4.6.1 RI detektor

Detektor meri razliko med lomnim količnikom mobilne faze in eluirano raztopino (Forgacs in Cserhati, 2003). Ker vsaka snov, ki je raztopljena v mobilni fazi, spremeni lomni količnik, lahko razlike v lomnem količniku detektiramo in jih kvantitativno ovrednotimo. Pozitivna lastnost refraktometričnega detektorja je njegova univerzalnost, slabost pa majhna občutljivost, saj zaradi njegove nespecifičnosti prihaja do interferenc posameznih nesepariranih substanc (Žorž, 1991; Forgacs in Cserhati, 2003).



Slika 14: Shema RI detektorja–Milton Roy (Miller, 1987: 207)

2.4.7 Inštrument za zapis signala

Prehod eluirane raztopine skozi detektorsko celico povzroči pretvorbo fizikalne lastnosti v električni signal (Žorž, 1991). Ta se na rekorderju izpiše kot elucijski diagram. Za kvalitativno analizo primerjamo retenzijske čase eluiranih vrhov z retencijskimi časi standardov. Kvantitativno analizo izvedemo z računalniško primerjavo površine vrhov vzorca s površino vrhov znanih standardov (Kregar, 1996).

3 MATERIALI IN METODE DELA

3.1 MATERIALI

V nalogi smo uporabili jabolka kultivarja Jonagold, ki smo jih zmlete skupaj s konzumnim sladkorjem koncentrirali pri različnih temperaturah in različnih parnih tlakih do 65 % suhe snovi. Vzporedno je potekala raziskava na modelnih raztopinah saharoze.

Konzumni sladkor

Pri pripravi koncentriranih sadnih izdelkov smo uporabljali konzumni beli sladkor-saharozo. Posamezni parametri sladkorja so podani v preglednici 9.

Preglednica 9: Vsebnosti snovi v konzumnem belem sladkorju (Pravilnik o kakovosti sladkorjev, 2001)

	Določba pravilnika (%)	Rezultat analiz proizvajalca (%)
saharozna	min. 99,6	min. 99,8
vlaga	max. 0,06	max. 0,024
invertni sladkor	max. 0,04	max. 0,013

Reagenti

Pri delu smo uporabljali analitsko čiste reagente in kemikalije podjetij Kemika, Merck in Rathburn. Kemikalije, ki smo jih uporabljali pri posameznih eksperimentih, so navedene v opisu različnih eksperimentalnih metod.

3.2 METODE DELA

3.2.1 Priprava vzorcev jabolčnih kaš in modelnih raztopin

Aparature in pribor:

- tehtnica,
- sadni mlin,
- kovinska žlica,
- refraktometer,
- naprava za koncentriranje jabolčne kaše.

Priprava vzorcev:

Jabolka smo zmleli v kašo, jim določili % suhe snovi in vsebnost skupnih kislin. Jabolčno kašo smo ob dodatku saharoze koncentrirali pri različnih pogojih do želene vsebnosti suhe snovi.

Preglednica 10: Vzorcev jabolčnih kaš in modelnih raztopin glede na dodatek saharoze

Številka vzorca	1	2	Način koncentriranja	Pogoji koncentriranja
Jabolčna kaša z/brez dodatka saharoze:				
1	Jabolčna kaša	Dodatek saharoze	Koncentriranje do 65 % SS	$T_{\text{konc.}} = 103 \text{ }^{\circ}\text{C}$
2	Jabolčna kaša	Dodatek saharoze	Upočasnjeno koncentriranje (v pokriti posodi)	$T_{\text{konc.}} = 103 \text{ }^{\circ}\text{C}$
3	Jabolčna kaša	Brez dodane saharoze	Koncentriranje do 65 % SS	$T_{\text{konc.}} = 103 \text{ }^{\circ}\text{C}$
4	Jabolčna kaša	Dodatek saharoze	Koncentriranje pri nižji temperaturi in tlaku do 65 % SS	$T_{\text{konc.}} = 60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ $P_{\text{konc.}} = 0,20 \text{ bar}$
5	Jabolčna kaša	Dodatek saharoze	Koncentriranje pri nižji temperaturi in tlaku do 65 % SS	$T_{\text{konc.}} = 54 \text{ }^{\circ}\text{C}$ $P_{\text{konc.}} = 0,15 \text{ bar}$
Modelna raztopina:				
6	Voda	Dodatek saharoze	Koncentriranje modelne raztopine do 65 % SS	$T_{\text{konc.}} = 103 \text{ }^{\circ}\text{C}$
7	Voda	Dodatek saharoze	Hidroliza saharoze v modelni raztopini na sobni temperaturi	$T_{\text{hidr.}} = 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$

VZOREC 1: JABOLČNA KAŠA Z DODATKOM SAHAROZE – koncentriranje sadnega izdelka pri normalnem zračnem tlaku do 65 °Brix.

1000 g jabolk smo zmleli v kašo in ji dodali 500 g konzumnega sladkorja, tako da smo dobili masno razmerje jabolka:sladkor = 2:1. Z mešanjem smo sladkor v kaši homogeno raztopili. V iztisnjem soku smo z refraktometrom določili vsebnost topne suhe snovi. Kašo smo segreti do vrelišča, nato pa v 5–minutnih časovnih intervalih odvezemali vzorce. Vzorce smo ohladili na sobno temperaturo in jim izmerili suho snov. Koncentriranje smo nadaljevali do 65 % suhe snovi (65 °Brix). Vzorce smo zamrznili s tekočim dušikom in jih do analize hranili v zamrzovalniku pri temperaturi -18 °C.

VZOREC 2: JABOLČNA KAŠA Z DODATKOM SAHAROZE – upočasnjeno koncentriranje sadnega izdelka pri normalnem zračnem tlaku.

Postopek priprave je bil enak kot pri vzorcu 1, le da je bila posoda za koncentriranje sadnega izdelka pokrita s pokrovom, zaradi česar je bilo koncentriranje upočasnjeno.

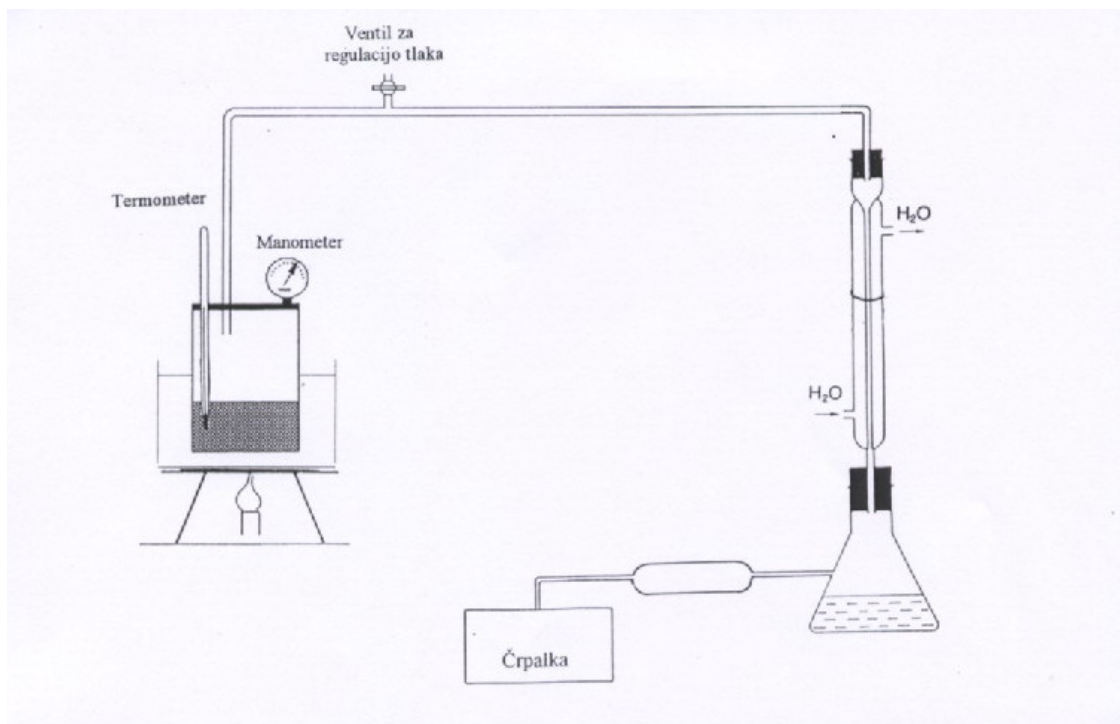
VZOREC 3: JABOLČNA KAŠA BREZ DODATKA SAHAROZE – koncentriranje sadnega izdelka pri normalnem zračnem tlaku do 65 °Brix.

Jabolčno kašo smo pripravili brez dodatka konzumnega sladkorja. Postopki koncentriranja, vzorčenja, analize suhe snovi in zamrzovanja s tekočim dušikom so bili enaki kot pri vzorcu 1.

VZOREC 4: JABOLČNA KAŠA Z DODATKOM SAHAROZE – koncentriranje pri nižani temperaturi in nižanem tlaku.

$$T_{\text{konc.}} = 60 \text{ }^{\circ}\text{C}$$
$$P_{\text{konc.}} = 0,2 \text{ bar}$$

500 g jabolčne kaše smo dodali 250 g konzumnega sladkorja (v masnem razmerju 2:1), ki smo ga homogeno raztopili. Kašo smo nato koncentrirali v posebni napravi, ki je omogočala regulacijo tlaka in temperature (slika 15). Koncentriranje je potekalo pri temperaturi 60 °C in tlaku 0,2 bar. Postopki vzorčenja, analiz in hranjenja so bili enaki kot pri prejšnjih vzorcih.



Slika 15: Shema naprave za koncentriranje jabolčne kaše pri nižani temperaturi in tlaku

VZOREC 5: JABOLČNA KAŠA Z DODATKOM SAHAROZE – koncentriranje pri nižani temperaturi in nižanem tlaku.

$$T_{\text{konc.}} = 54 \text{ }^{\circ}\text{C}$$
$$P_{\text{konc.}} = 0,15 \text{ bar}$$

Koncentriranje jabolčne kaše in sladkorja v masnem razmerju 2:1 je potekalo pri temperaturi 54 °C in tlaku 0,15 bar. Postopki vzorčenja, analiz in hranjenja so bili enaki kot pri prejšnjih vzorcih.

VZOREC 6: MODELNA RAZTOPINA MR1 - koncentriranje MR1 pri normalnem zračnem tlaku.

Za pripravo modelne raztopine smo uporabili 500 g sladkorja, 496,5 g vode in 3,5 g jabolčne kisline, ki je nadomestila kisline, prisotne v jabolčni kaši. Modelno raztopino (50,5 °Brix) smo koncentrirali pri običajnem zračnem tlaku do 65 °Brix. Postopki vzorčenja, analiz in hranjenja so bili enaki kot pri prejšnjih vzorcih.

VZOREC 7: MODELNA RAZTOPINA MR2 – hidroliza saharoze na sobni temperaturi

Za pripravo modelne raztopine smo uporabili 500 g sladkorja, 496,5 g vode in 3,5 g jabolčne kisline, ki je nadomestila kisline, prisotne v jabolčni kaši. Modelne raztopine nismo segrevali. Z vzorčenjem po 48, 120 in 144 urah smo zasledovali razpad saharoze pri sobni temperaturi.

3.2.2 Določanje topne suhe snovi v vzorcih

Postopek

Topno suho snov smo določali s pomočjo Abbejevega refraktometra, ki deluje na principu merjenja lomnega količnika. Z njim lahko direktno odčitamo lomni količnik v mejah med 1,30 in 1,70. Refraktometer smo predhodno umerili z destilirano vodo, nato smo merilno mesto osušili in nanj s stekleno palčko nanesli kapljico sadnega soka. Rezultat smo direktno odčitali na skali refraktometra kot % suhe snovi ($^{\circ}$ Brix) (Plestenjak in Golob, 1990).

3.2.3 Določanje vsebnosti skupnih kislin

Vsebnost skupnih kislin smo določali s titracijo z 0,1 M NaOH ob dodatku indikatorja fenolftaleina. Skupne kisline smo izrazili kot jabolčno kislino, ker ta v jabolkih prevladuje.

Postopek

5 g vzorca smo zatehtali in ga kvantitativno prenesli v 250 ml merilno bučko. Razredčili smo ga z destilirano vodo, dodali indikator fenolftalein in raztopino titrirali z 0,1 M NaOH do preskoka barve iz brezbarvne v rožnato rdečo barvo.

Vsebnost skupnih kislin, izraženih kot jabolčna kislina, smo izračunali s pomočjo spodnje enačbe:

$$\frac{a \times f \times R \times E}{10000} = g \text{ kisline / kg vzorca}$$

...(1)

kjer pomeni:

- a poraba 0,1 M NaOH (mL)
f faktor korelacije normalitete 0,1 M NaOH (f = 1,0331)
R razredčitev vzorca
E_k gramekvivalent jabolčne kisline, titriran z 0,1 M NaOH

Preglednica 11: Faktorji za preračunavanje organskih kislin

Kislina	Molek. teža	Gram ekvivalent [E _k]	1 ml 0,1M NaOH odgovarja g kisl.
Jabolčna	134,09	67,05	0,0067
Citronska	192,12	64,04	0,0064
Vinska	150,09	75,05	0,0075
Ocetna	60,05	60,05	0,0060
Mlečna	90,08	90,08	0,0090

3.3.4 Določanje vsebnosti sladkorjev s HPLC

3.3.4.1 Predpriprava vzorcev za HPLC analizo

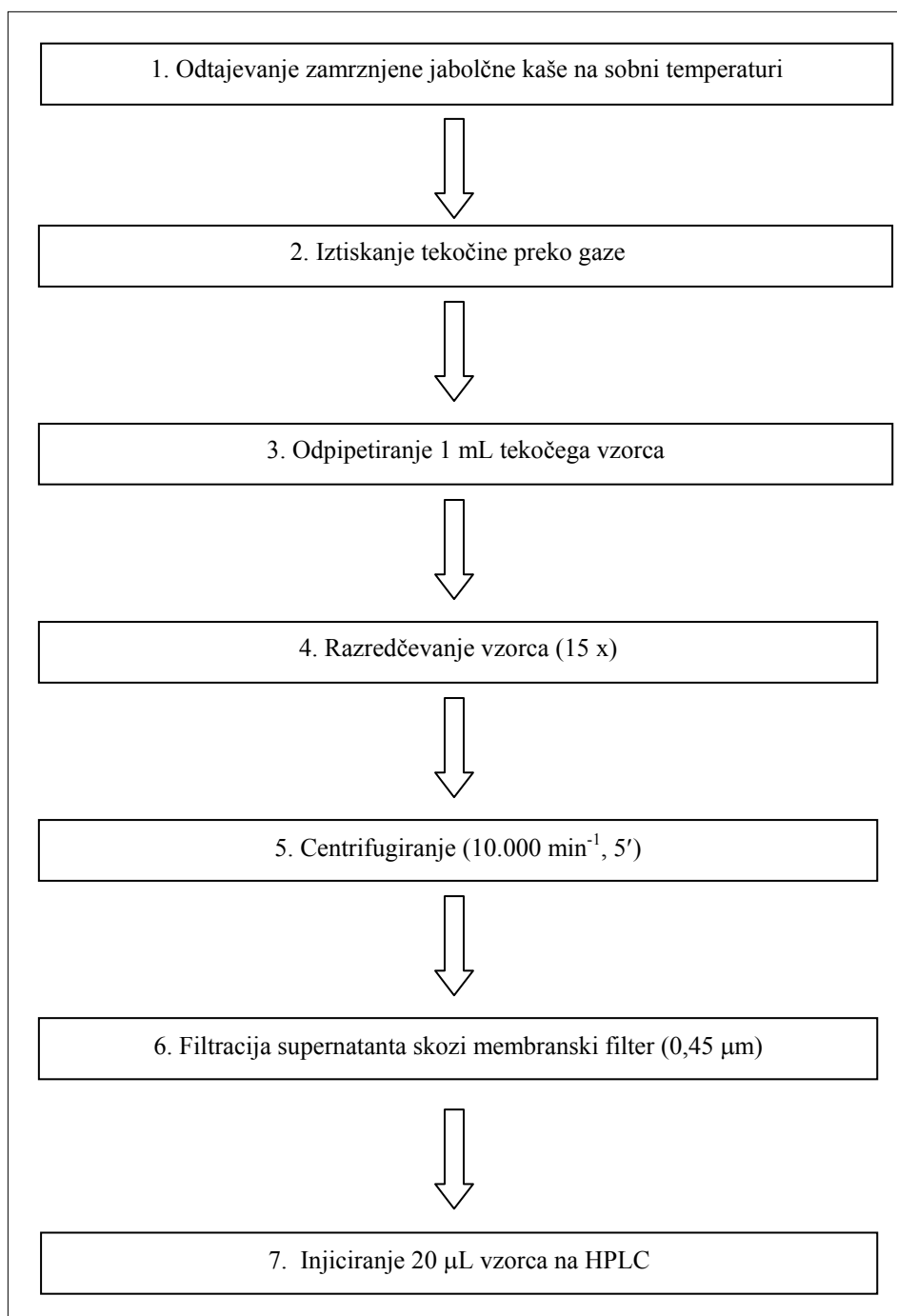
Aparature in pribor:

- EPPENDORF centrifuga 5415 C,
- membranski filter (0,45 µm),
- tehnica,
- plastične ependorfke,
- pipete.

Postopek

Za analizo sladkorjev smo zamrznjene vzorce odtajali na sobni temperaturi. V čašo smo zatehtali ustrezno količino vzorca in nato preko gaze iztisnili sok v epruveto. Odpipetirali smo 1 mL vzorca in mu dodali 14 mL vode. Podatki o vsebnosti sladkorjev so podani na odpipetiran vzorec. Raztopino smo nato odpipetirali v plastične ependorfke in jo centrifugirali 5 minut na 10.000 obratih. Po centrifugiranju smo supernatant prefiltrirali preko membranskega filtra z velikostjo por 0,45 μm . Postopki predpriprave sadnih vzorcev so prikazani na sliki 16.

Količino sladkorjev v vzorcih kaš in modelnih raztopin smo analizirali z metodo HPLC pri sobni temperaturi. Mobilno fazo sta sestavljali topili acetonitril in voda v razmerju 85/15, s pretokom 1,5 mL/min. Volumen injiciranega vzorca je bil 20 μL . Za detekcijo smo uporabili RI detektor.



Slika 16: Hodogram priprave vzorca pred HPLC analizo

HPLC sistem

Za analizo sladkorjev v sadnih vzorcih in modelnih raztopinah smo uporabili tekočinski kromatograf MILTON ROY.

Opis aparature:

Razplinjevalec:	DG 1300
Črpalka:	Consta Metric 3000
Injektor:	Rheodyne, 20 µL zanka
Kolona:	Spherisorb NH ₂ , 5µm (250 x 4 mm; I.D.), BIA-Ljubljana
Detektor:	Refracto monitor IV (RI detektor) $\Delta RI = 0,02 \times 10^{-3}$ Odzivni čas: 2,0
Integrator:	CI 4100

Mobilna faza:

Acetonitril/voda v volumskem razmerju 85/15

Pretok mobilne faze: 1,5 mL/min.

Reagenti in topila:

- Topilo A: voda (bidestilirana).
- Topilo B: acetonitril (Rathburn; HPLC Grade. S).
- Glukoza, fruktoza (Kemika Zagreb, p.a.).
- Saharoza (Merck, p.a.).

Reagenti in topila, ki smo jih uporabljali pri delu, so bili analitsko čisti in primerni za HPLC analizo.

3.3.4.2 Priprava standardnih raztopin glukoze, fruktoze in saharoze

V 50 mL bučke smo zatehtali 250 mg glukoze, fruktoze in saharoze in jih raztopili v bidestilirani vodi. Osnovne raztopine glukoze, fruktoze in saharoze z masno koncentracijo 5 g/L smo nato uporabili za pripravo standardnih sladkornih raztopin z masno koncentracijo 2,5 g/L in 1,25 g/L. Te raztopine sladkorjev smo uporabili za določitev umeritvene krivulje posameznih sladkorjev.

$\gamma_G = 5,00 \text{ g/L}$ (masna koncentracija glukoze)

$\gamma_F = 5,00 \text{ g/L}$ (masna koncentracija fruktoze)

$\gamma_S = 5,00 \text{ g/L}$ (masna koncentracija saharoze)

Raztopine sladkornih standardov smo ogreli na sobno temperaturo in jih prefiltrirali preko 0,45 mikronskega membranskega filtra. Raztopine smo nato injicirali skozi 20 μL zanko na HPLC kolono. Kromatografska ločba je bila končana v 15 minutah. Za določitev površine kromatografskih vrhov smo uporabili metodo integriranja na bazni liniji. Raztopine sladkornih standardov smo uporabili za določitev retencijskega časa (t_r) in odzivnega faktorja posameznega sladkorja (preglednica 13). Retencijski čas je čas, ki ga potrebuje posamezna komponenta za prehod skozi kolono in je karakterističen za posamezno komponento. To lastnost lahko v ustreznih pogojih uporabimo za identifikacijo in kvantizacijo analizirane komponente.

3.3.5 Kvantitativno vrednotenje kromatogramov

3.3.5.1 Kvantizacija z umeritveno krivuljo

Kvantizacijo z umeritveno krivuljo uporabljamo, kadar imamo večje število vzorcev in koncentracije v širšem razponu (Žorž, 1991). Z določitvijo površin kromatografskih vrhov standardnih raztopin in njihovih koncentracij smo določili umeritveno krivuljo z relacijo:

$$A = k \times \gamma \quad \dots(2)$$

kjer pomeni:

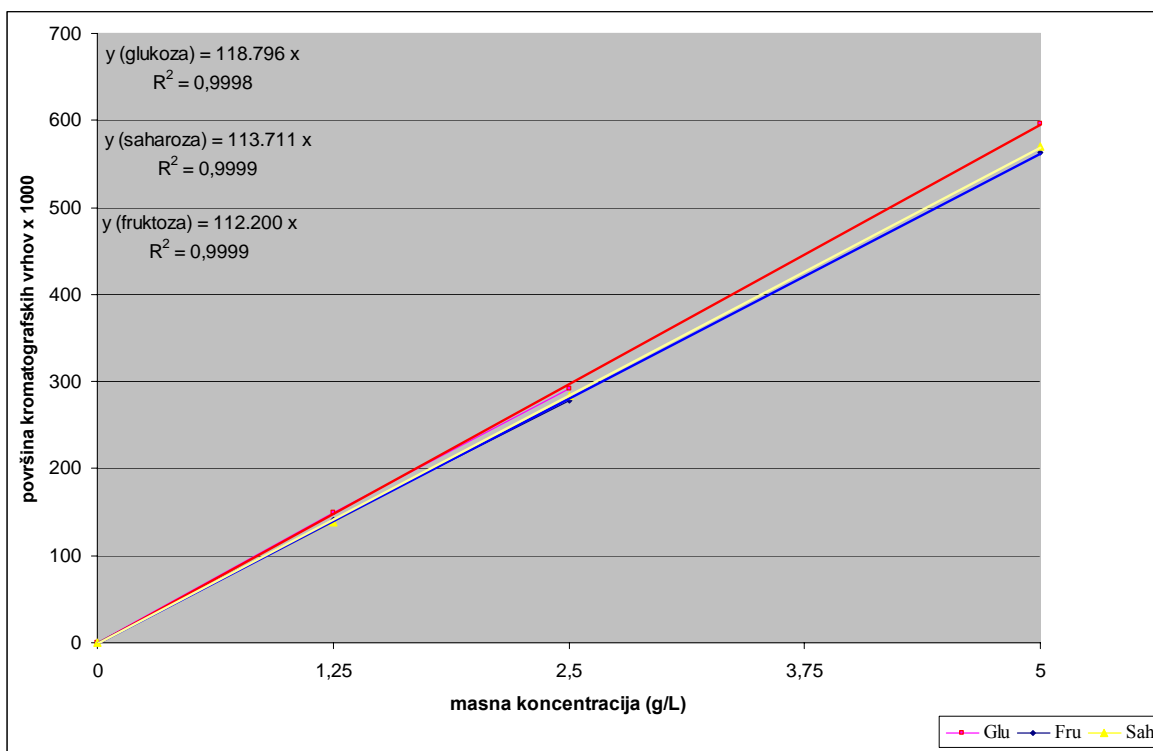
A površina kromatografskih vrhov sladkorja v kromatogramu standarda

γ koncentracija sladkorja v standardni raztopini [g/L]

k konstanta

Priprava umeritvene krivulje za HPLC s standardnimi raztopinami glukoze, fruktoze in saharoze:

Pripravili smo različne koncentracije standardnih raztopin glukoze, fruktoze in saharoze. Tako pripravljene raztopine smo injicirali v HPLC kolono (10 ponovitev). Iz dobljenih površin kromatografskih vrhov standardnih raztopin sladkorjev na kromatogramu (glej preglednico 12) in standardnih koncentracij posameznih sladkorjev smo narisali umeritveno krivuljo.



Slika 17: Umeritvena krivulja za kromatografsko določitev glukoze, fruktoze in saharoze

S pomočjo koeficienta enačbe premice in površine kromatografskih vrhov fruktoze (A_F), glukoze (A_G) in saharoze (A_S) smo izračunali masne koncentracije fruktoze (γ_F), glukoze (γ_G) in saharoze (γ_S) v posameznem analiziranem vzorcu.

Izračun masne koncentracije glukoze, fruktoze in saharoze v vzorcu:

Fruktoza: $\gamma_F = A_F/112200$

...(3)

Glukoza: $\gamma_G = A_G/118796$

...(4)

Saharoz: $\gamma_S = A_S/113711$

...(5)

3.3.5.2 Kvantizacija z metodo eksternega standarda

Koncentracije sladkorjev lahko določimo tudi z metodo eksternega standarda iz znanih koncentracij standardnih mešanic sladkorjev, ki so bile enake nominalni koncentraciji sladkorjev v vzorcih. Koncentracijo posameznega sladkorja (γ_X) dobimo z relacijo:

$$\gamma_X = \frac{\gamma_S \times A_V}{A_S}$$

...(6)

kjer pomeni:

γ_S koncentracija sladkorja v standardni raztopini (g/L)

A_V površina vrha preiskovanega sladkorja v kromatogramu vzorca

A_S površina vrha preiskovanega sladkorja v kromatogramu standarda

Razmerje γ_S / A_S imenujemo *odzivni faktor*.

Za natančnost analize je potrebno upoštevati sledeče faktorje (Jons, 1995):

1. Uporaba analitsko čistih standardov.
2. Zatehtamo lahko le popolnoma suhe sladkorje (problem je visoka higroskopičnost).
3. Izogibati se moramo tehtanju v vlažnih prostorih.

4. Standardne raztopine sladkorjev je potrebno hraniti pri pogojih, pri katerih ne pride do kemičnih ali mikrobioloških sprememb.
5. Potrebna je izbira ustreznega načina aplikacije standarda na kolono.

3.3.6 Statistična analiza

Povprečna vrednost

Povprečna vrednost je vsota vseh vrednosti, deljena s številom meritev (Košmelj, 2001).

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \times \sum_{i=1}^n x_i$$

...(7)

\bar{x} povprečna vrednost
 x_i vrednost i-te meritve
 n število meritev

Standardni odklon (SD)

Za oceno variabilnosti rezultatov smo uporabili standardni odklon (standardno deviacijo). Varianca je mera za razpršenost podatkov okoli aritmetične sredine. Opredeljena je kot vsota kvadratov odklona od aritmetične sredine.

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \times \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$$

...(8)

x_i vrednost i-te meritve
 \bar{x} povprečna vrednost
 n število meritev

$$SD = \sqrt{s^2}$$

...(9)

SD – standardni odklon

Koeficient variacije

Koeficient variacije nam pove, kolikšen odstotek aritmetične sredine predstavlja standardni odklon.

$$KV \% = \frac{SD}{x} \times 100 \quad \dots(10)$$

SD standardni odklon

x aritmetična sredina

4 REZULTATI

4.1 VSEBNOST TOPNE SUHE SNOVI V JABOLČNI KAŠI

Sok iz zmletih jabolk smo nanegli na umerjen refraktometer in direktno odčitali vsebnost topne suhe snovi.

Povprečna vsebnost topne suhe snovi v jabolčni kaši, pripravljene iz jabolk kultivarja Jonagold, je bila 12,5 g/100 g.

Med postopkom koncentriranja sadnih kaš smo v določenih časovnih intervalih merili vsebnost topne suhe snovi. Koncentriranje smo zaključili, ko je vsebnost topne suhe snovi v vzorcu dosegla 65 g/100 g.

4.2 REZULTATI ANALIZ DOLOČANJA SKUPNIH KISLIN

S kvantitativno analizo skupnih kislin v jabolčni kaši smo določili količino jabolčne kisline, ki jo je potrebno dodati vzorcem modelnih raztopin, da dosežemo ustrezne pogoje za hidrolizo saharoze.

Določili smo, da je jabolčna kaša povprečno vsebovala 3,64 g/kg skupnih kislin, izraženih kot jabolčna kislina.

4.3 DOLOČANJE VSEBNOSTI GLUKOZE, FRUKTOZE IN SAHAROZE V VZORCIH

4.3.1 Kvantizacija z umeritveno krivuljo

Povprečne površine kromatografskih vrhov pri različnih masnih koncentracijah fruktoze, glukoze in saharoze so prikazane v preglednici 12.

Preglednica 12: Površine kromatografskih vrhov standardnih raztopin fruktoze, glukoze in saharoze z masno koncentracijo 1,25 gL⁻¹, 2,5 gL⁻¹ in 5 gL⁻¹

	$A_{1,25}$	$A_{2,5}$	$A_{5,0}$
Fruktoza	140649	277542	562376
Glukoza	149722	291660	596338
Saharoza	138212	284199	569577

Legenda: $A_{1,25}$ površina kromatografskih vrhov sladkorja pri masni konc. 1,25 g/L
 $A_{2,5}$ površina kromatografskih vrhov sladkorja pri masni konc. 2,5 g/L
 $A_{5,0}$ površina kromatografskih vrhov sladkorja pri masni konc. 5 g/L

Preglednica 13: Retencijski časi in površine vrhov standardov fruktoze, glukoze in saharoze z masno koncentracijo 5 g/L

Vzorec	t_r	A_F	Vzorec	t_r	A_G	Vzorec	t_r	A_S
FRU 1	5,27	568303	GLU 1	6,42	598115	SAH 1	11,54	568546
FRU 2	5,35	569661	GLU 2	6,37	594597	SAH 2	11,48	572157
FRU 3	5,31	573261	GLU 3	6,38	597761	SAH 3	11,45	573550
FRU 4	5,35	566266	GLU 4	6,46	604814	SAH 4	11,44	568444
FRU 5	5,28	567371	GLU 5	6,43	600841	SAH 5	11,38	565135
FRU 6	5,28	560099	GLU 6	6,44	589051	SAH 6	11,44	569825
FRU 7	5,33	552345	GLU 7	6,38	585240	SAH 7	11,47	571233
FRU 8	5,31	551870	GLU 8	6,43	592825	SAH 8	11,45	566825
FRU 9	5,28	555785	GLU 9	6,38	602312	SAH 9	11,45	568225
FRU 10	5,31	558803	GLU 10	6,42	597825	SAH 10	11,48	571835

V preglednici 13 so prikazani rezultati meritev retencijskih časov in površin vrhov standardnih raztopin fruktoze, glukoze in saharoze z masno koncentracijo 5 gL⁻¹. Retencijski časi so za vsak sladkor karakteristična vrednost in smo jih pri analizi uporabili za identifikacijo posameznega sladkorja. Iz kolone je najhitreje eluirala fruktoza ($t_r = 5,30$), sledila je glukoza ($t_r = 6,41$) in na koncu saharoza ($t_r = 11,46$).

Preglednica 14: Površine vrhov sladkornih standardov (A_F , A_G in A_S) z masno koncentracijo 5 g/L

Sladkor	n	\bar{A}	min	max	SD	KV (%)
Fruktoza	10	562376	551870	573261	7594,9	1,35
Glukoza	10	596338	585240	604814	6026,2	1,01
Saharoza	10	569577	565135	573550	2620,9	0,46

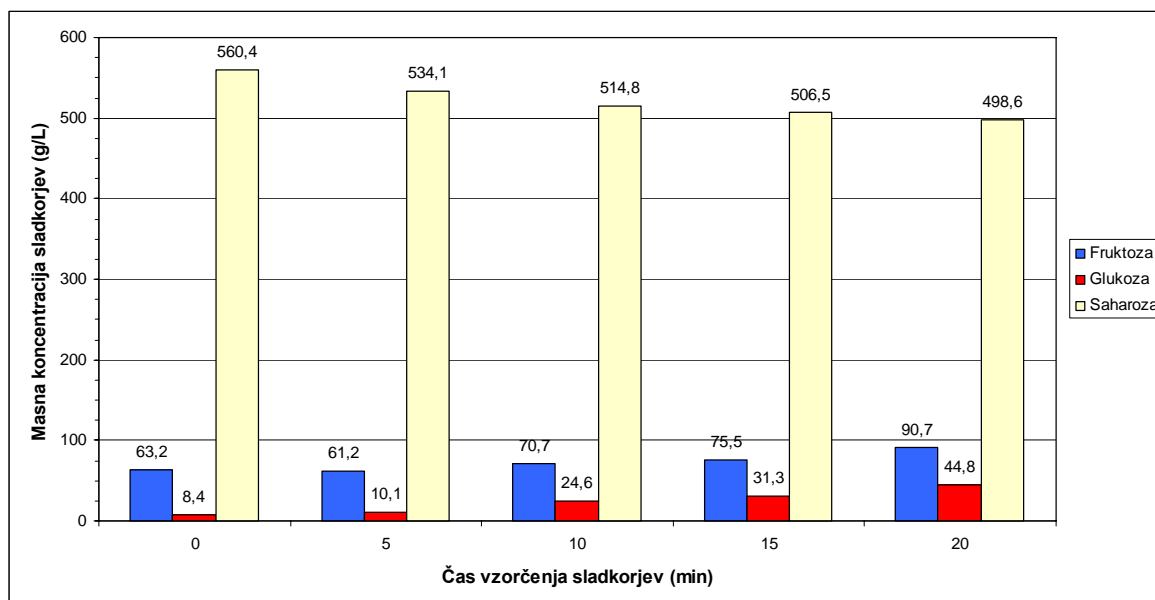
Legenda: n – število vzorcev, \bar{A} – povprečna vrednost, min – minimalna vrednost, max – maksimalna vrednost, SD – standardni odklon, KV (%) – koeficient variabilnosti

Povprečne površine kromatografskih vrhov za fruktozo, glukozo in saharozo z masno koncentracijo 5 gL⁻¹ so razvidne iz preglednice 14. Vidimo, da je bil največji koeficient variacije pri merjenju površin kromatografskih vrhov pri fruktozi (KV = 1,35 %), najmanjši pa pri merjenju površin vrhov pri saharozi (KV = 0,46 %).

4.3.2 Metoda eksterne standarda

Vsebnost fruktoze, glukoze in saharoze v vzorcih smo izračunali po metodi eksterne standarda, kjer smo površino kromatografskega vrha znanega standarda primerjali s površino vrhov analiziranih vzorcev sladkorjev. S pomočjo enačbe 6 in poznanih površin kromatografskih vrhov sladkornih standardov (preglednica 14) smo določili koncentracije posameznih sladkorjev v analiziranih vzorcih. Meritve smo izvajali v treh ponovitvah, ki se med seboj statistično niso razlikovale.

VZOREC 1: JABOLČNA KAŠA Z DODATKOM SAHAROZE - koncentriranje sadnega izdelka pri normalnem zračnem tlaku do 65 °Brix.



Slika 18: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju jabolčne kaše z dodatkom saharoze pri normalnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C

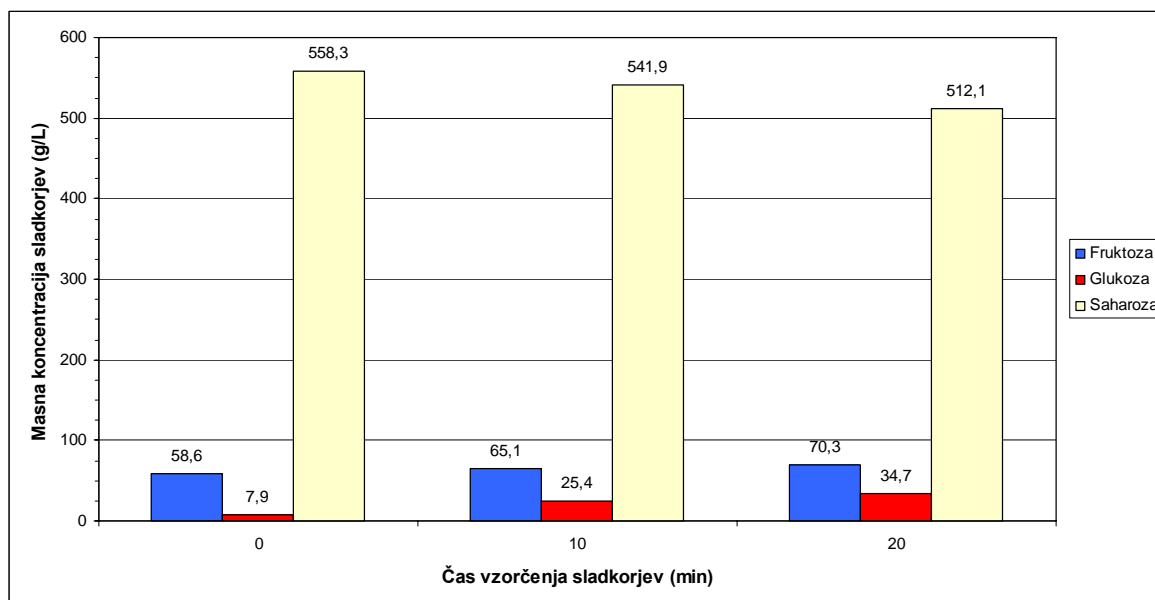
Jabolčni kaši smo dodali saharozo in jo koncentrirali pri normalnem zračnem tlaku. V 5 – minutnih časovnih intervalih smo odvezemali vzorce in jim določali vsebnost fruktoze, glukoze in saharoze.

Jabolčna kaša z dodano saharozo je pred koncentriranjem pri normalnem zračnem tlaku vsebovala največ saharoze (560,4 g/L), najmanj pa glukoze (8,4 g/L). Po končanem koncentriranju je bila povprečna koncentracija saharoze v vzorcu 498,6 g/L, kar pomeni, da je v procesu koncentriranja razpadlo **11,6 % saharoze**.

Zaradi hidrolize saharoze med toplotno obdelavo sta v vzorcih naraščali vsebnosti fruktoze in glukoze. Po končanem koncentriranju je bilo v vzorcu 90,7 g/L fruktoze in 44,8 g/L glukoze.

Vsebnost topne suhe snovi v vzorcu 1 je po 20 minutah koncentriranja znašala 68 g/100 g.

VZOREC 2: JABOLČNA KAŠA Z DODATKOM SAHAROZE – upočasnjeno koncentriranje sadnega izdelka pri normalnem zračnem tlaku.



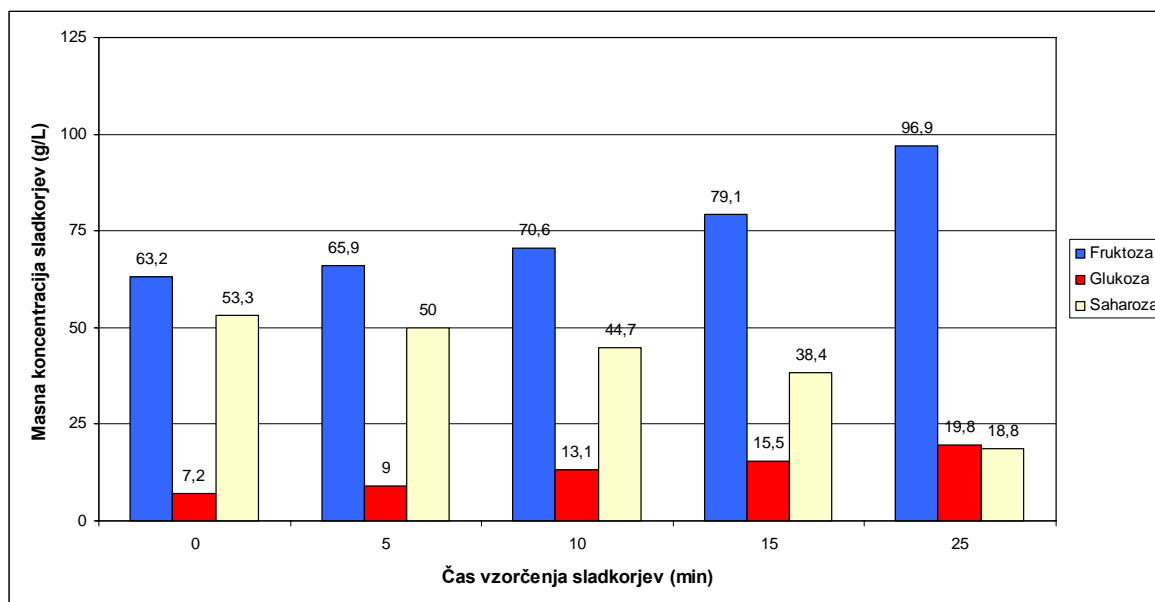
Slika 19: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri upočasnjenem koncentriranju jabolčne kaše z dodatkom saharoze pri normalnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C

Koncentriranje jabolčne kaše z dodano saharozo je potekalo v pokriti posodi, zaradi česar je bilo koncentriranje upočasnjeno. V vzorcu, ki je po 20 minutah koncentriranja imel 52,3 °Brix, je bilo 512,1 g/L saharoze, kar kaže na manjšo stopnjo hidrolize saharoze v primerjavi z vzorcem 1. Pri koncentriranju vzorca 2 je razpadlo **8,3 %** začetne količine saharoze.

Zaradi manj intenzivne hidrolize saharoze sta bili tudi končni koncentraciji fruktoze (70,3 g/L) in glukoze (34,7 g/L) nižji kot pri vzorcu 1.

Manjša hitrost koncentriranja vzorca 2 se odraža tudi v nižji vsebnosti topne suhe snovi po 20 minutah koncentriranja (52,3 g/100 g), kar je 15,7 °Brix manj kot pri vzorcu 1.

VZOREC 3: JABOLČNA KAŠA BREZ DODATKA SAHAROZE – koncentriranje
sadnega izdelka pri normalnem zračnem tlaku do 65 °Brix.



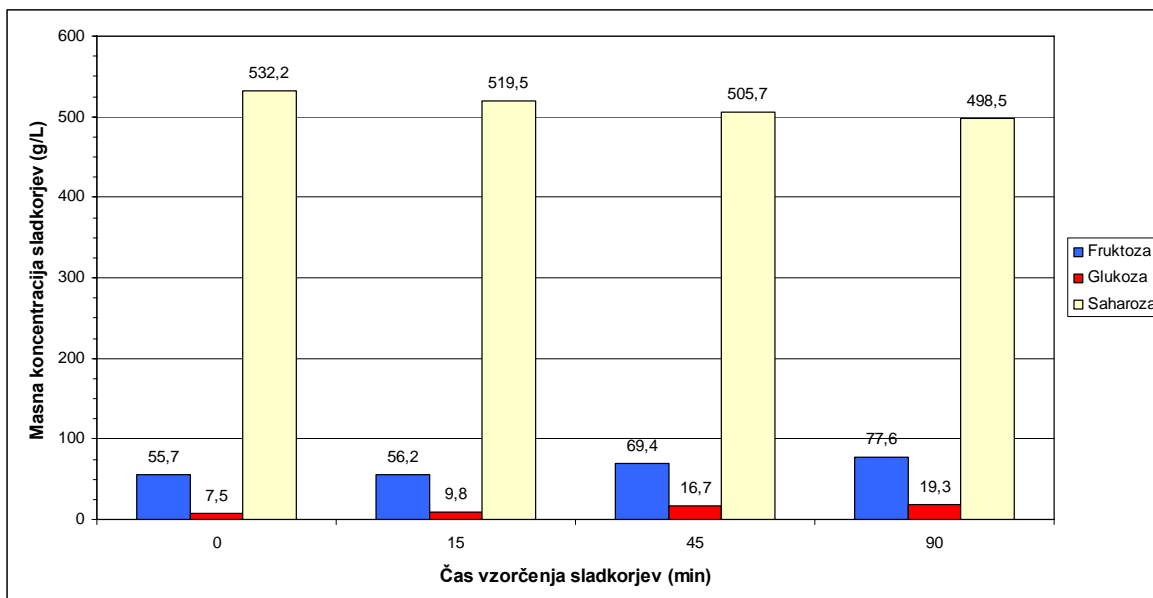
Slika 20: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju jabolčne kaše brez dodatka saharoze pri normalnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C

V vzorcu 3 smo koncentrirali jabolčno kašo brez dodatka saharoze, tako da nam začetne koncentracije vzorcev ponazarjajo tudi sladkorno sestavo jabolk, ki smo jih uporabili pri nalogi.

Štampar in sod. (2009) navajajo, da jabolka vsebujejo 13 % skupnih sladkorjev, od tega 6,67 % fruktoze, 1,21 % glukoze in 3,59 % saharoze. Pri našem poskusu vsebnost suhe snovi jabolčne kaše (12,5 %) ni odstopala od podatkov, ki so navedeni v literaturi. S slike 20 je razvidno, da jabolčna kaša vsebuje največ fruktoze (63,2 g/L), nekaj manj saharoze (53,3 g/L) in zelo malo glukoze (7,2 g/L).

Ker vzorec 3 ni vseboval dodane saharoze, je bila začetna vsebnost topne suhe snovi 12,5 g/100 g, medtem ko je bila ta pri vzorcih jabolčnih kaš z dodano saharozo 45,5 g/100 g. V vzorcu 3 je zato koncentriranje do želene 65 g/100 g potekalo dalj časa (25 minut). Zaradi manjše začetne vsebnosti saharoze, je bil delež razpadle saharoze med koncentriranjem večji (64,7 %).

VZOREC 4: JABOLČNA KAŠA Z DODATKOM SAHAROZE – koncentriranje pri nižani temperaturi (60 °C) in nižanem tlaku (0,2 bar).

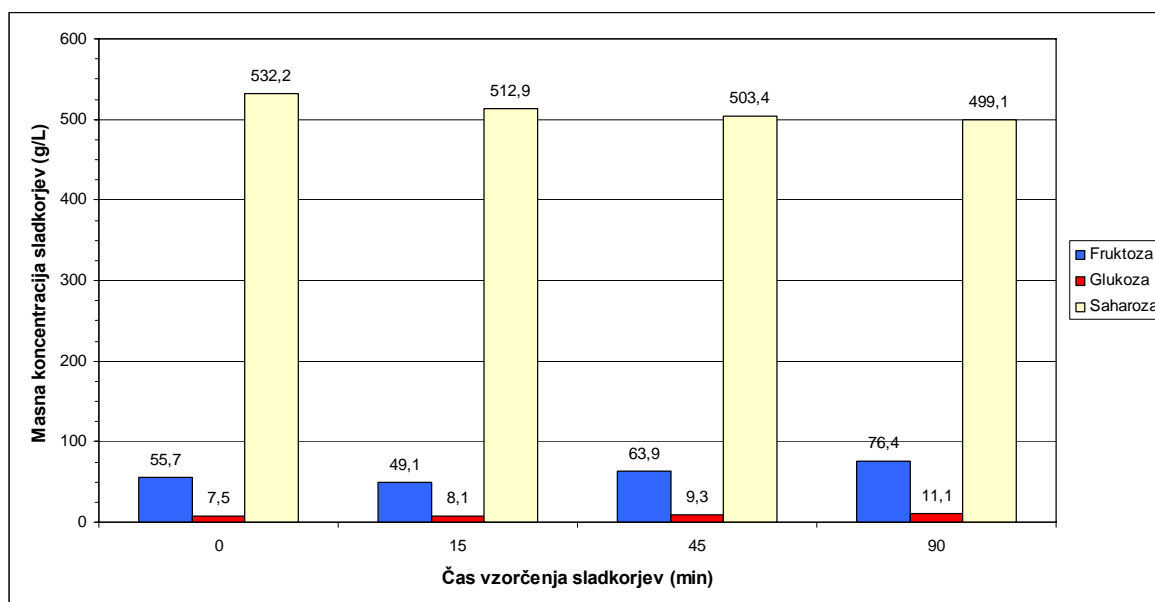


Slika 21: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju jabolčne kaše z dodatkom saharoze pri nižanem zračnem tlaku (0,2 bar) in temperaturi 60 °C

V vzorcu 4 smo jabolčno kašo in dodan konzumni sladkor koncentrirali v posebni napravi, ki je omogočala regulacijo tlaka in temperature. Postopek je potekal pri temperaturi 60 °C in tlaku 0,2 bar. Postopek koncentriranja pri nižanem tlaku je trajal 90 minut, ko je vzorec vseboval 63 % topne suhe snovi.

Eksperimentalno smo ugotovili, da jabolčna kaša z dodatkom saharoze po končanem koncentriranju vsebuje 77,6 g/L fruktoze, 19,3 g/L glukoze in 498,5 g/L saharoze. V procesu koncentriranja je razpadlo 6,3 % začetne količine saharoze.

VZOREC 5: JABOLČNA KAŠA Z DODATKOM SAHAROZE – koncentriranje pri znižani temperaturi (54 °C) in znižanem tlaku (0,15 bar).



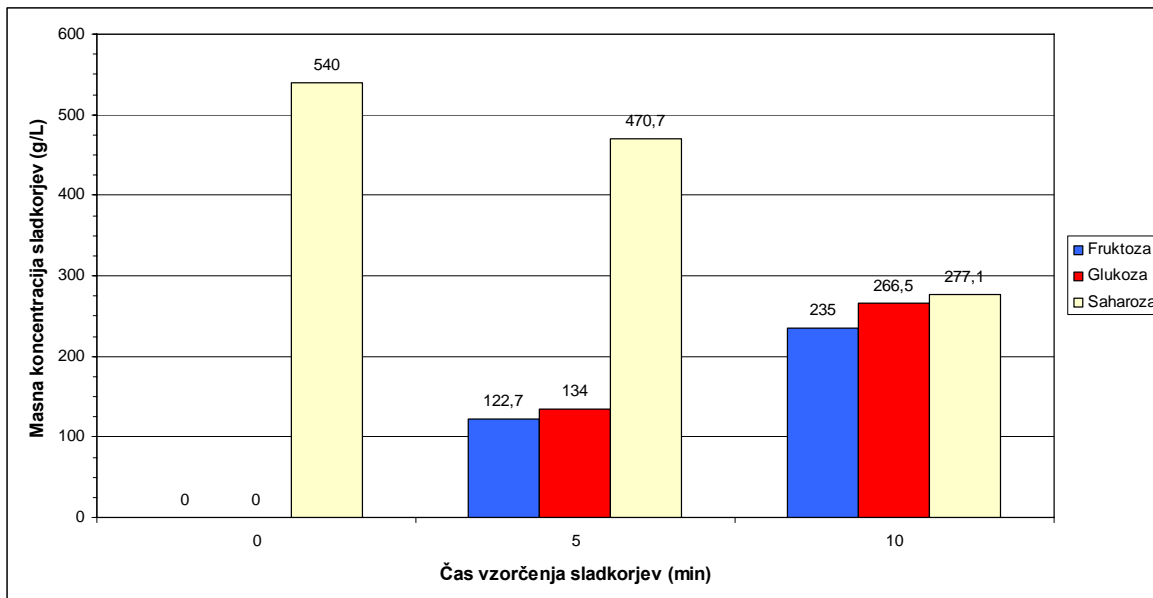
Slika 22: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju jabolčne kaše z dodatkom saharoze pri znižanem zračnem tlaku (0,15 bar) in temperaturi 54 °C

Postopek priprave vzorca 5 in potek dela sta bila enaka kot pri vzorcu 4, le da je koncentriranje potekalo pri temperaturi 54 °C in tlaku 0,15 bar.

Po 90 minutah koncentriranja je vzorec 5 vseboval 59,2 °Brix, kar kaže na počasnejše koncentriranje kot pri vzorcu 4 (63 °Brix).

Pri opisanih pogojih koncentriranja sta bili v primerjavi z vzorcem 4 manjši tudi končni masni koncentracije fruktoze (76,4 g/L) in glukoze (11,1 g/L). Masna koncentracija saharoze je bila nekoliko višja (499,1 g/L), kar nakazuje na manjšo stopnjo hidrolize saharoze pri koncentriranju vzorca pri 54 °C in tlaku 0,15 bar. Med koncentriranjem je razpadlo 6,2 % začetne količine saharoze.

VZOREC 6: MODELNA RAZTOPINA MR1 - koncentriranje pri normalnem zračnem tlaku do 65 °Brix.

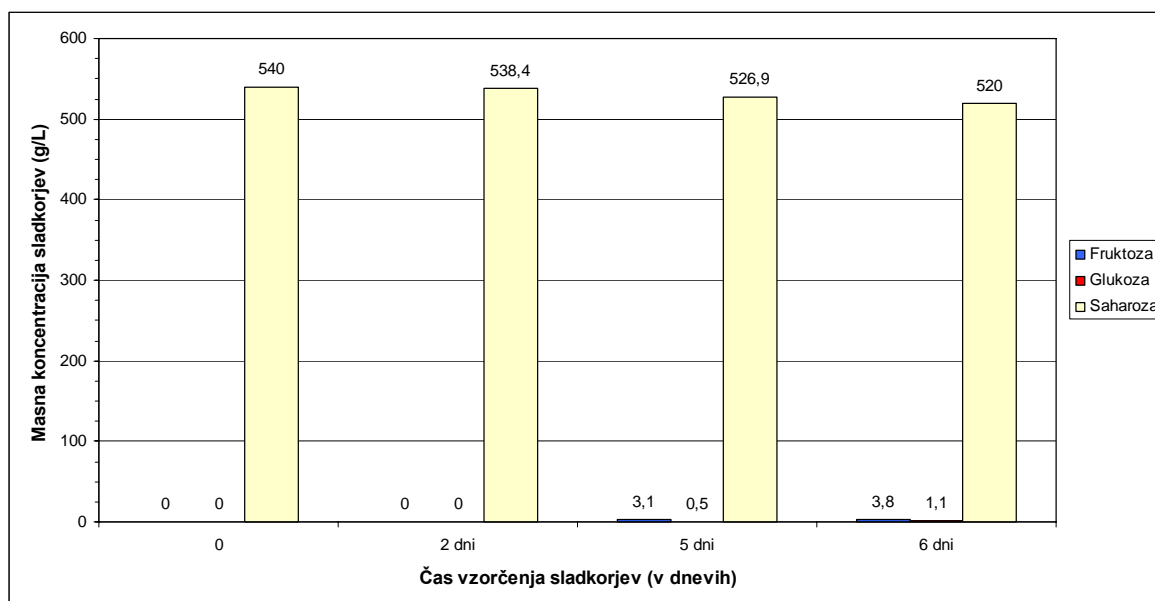


Slika 23: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju modelne raztopine MR1 pri normalnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C

Za pripravo modelne raztopine MR1 smo uporabili sladkor, vodo in jabolčno kislino, ki je nadomestila skupne kisline v jabolčni kaši. Raztopina je po pripravi vsebovala 50,5 % suhe snovi. Koncentriranje pri normalnem zračnem tlaku je poteklo zelo hitro, saj je vsebnost suhe snovi v raztopini po 10 minutah narasla na 72,8 %.

V MR1 je bila na začetku prisotna samo saharoza, fruktozo in glukozo smo določili šele po konverziji saharoze. Ugotovili smo, da je MR1 po končanem koncentriranju vsebovala 235,0 g/L fruktoze in 266,5 g/L glukoze. Masna koncentracija saharoze v MR1 je bila 277,1 g/L, kar pomeni, da je v 10 minutah koncentriranja razpadlo 48,7 % začetne količine saharoze.

VZOREC 7: MODELNA RAZTOPINA MR 2 – hidroliza saharoze na sobni temperaturi.

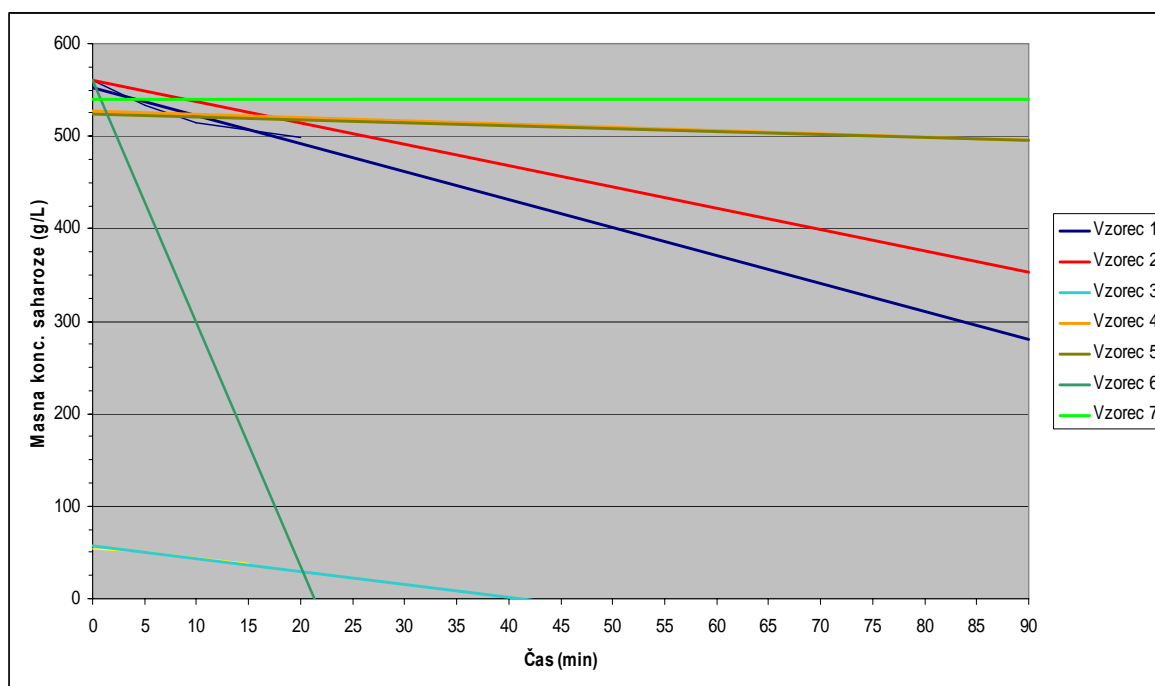


Slika 24: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri hidrolizi saharoze v modelni raztopini MR2 pri sobni temperaturi

Pri MR2, ki je imela enako sestavo kot MR1, smo zasledovali hidrolizo saharoze na sobni temperaturi. Ker raztopine nismo segrevali, je konverzija saharoze potekala zelo počasi, tako da smo spremembe masnih koncentracij fruktoze, glukoze in saharoze spremljali po 2, 5 in 6 dneh.

Ker vzorca 7 nismo termično obdelovali, ni prišlo do sprememb v topni suhi snovi.

Po šestih dneh je vzorec vseboval 3,8 g/L fruktoze in 1,1 g/L glukoze. Masna koncentracija saharoze se je v tem času znižala na 520 g/L, kar predstavlja 3,8 % znižanje koncentracije.



Slika 25: Spremljanje hitrosti razpada saharoze pri različnih načinih koncentriranja jabolčnih kaš in modelnih raztopin

Dinamika razpada saharoze je največja pri koncentriranju jabolčne kaše pri normalnem zračnem tlaku – vzorec 1 (11,0 %), pri upočasnjem koncentriranju (vzorec 2) razpade 8,6 % saharoze. Pri vzorcih, koncentriranih pri znižanem tlaku in temperaturi (vzorec 4 in 5), dosega delež razpadle saharoze 6,3 in 6,2 %. Pri MR2 (vzorec 7) je delež razpadle saharoze zanemarljiv.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1. RAZPRAVA

V proizvodnji koncentriranih sadnih izdelkov sta v uporabi predvsem dva načina koncentriranja. V prvem, odprtem sistemu, poteka koncentriranje sadne kaše pri normalnem zračnem tlaku, medtem ko se za proizvodnjo kvalitetnejših proizvodov uporablja zaprt sistem koncentriranja pri znižanem tlaku in temperaturi (Baker in sod., 2005). Prednosti koncentriranja pri nižji temperaturi se odražajo v boljših senzoričnih lastnostih izdelka (Suwa–Stanojević, 1999), manjši karamelizaciji sladkorjev in manjši izgubi hlapnih arom (Watanabe in sod., 1991).

Saharoza je disaharid, ki predstavlja najpomembnejše sladilo in se v največji meri pridobiva z ekstrakcijo iz sladkornega trsa (*Saccharum officinarum*) in sladkorne repe (*Beta vulgaris* var. *rapa*). Pri reakciji hidrolize saharoze, ki poteče s pomočjo kislin, toplote ali encimov, nastane ekvimolarna mešanica glukoze in fruktoze, ki jo imenujemo tudi invertni sladkor. Odlikuje ga višja sladkost od saharoze, nižja aktivnost vode in manjša nagnjenost h kristalizaciji (Klofutar 1993; Batič in sod., 1993; Alexander, 1998).

Jabolčna kaša vsebuje 13 % suhe snovi, od tega glavnino predstavljajo fruktoza, glukoza in saharoza. Štampar in sod. (2009) navajajo, da jabolčna kaša vsebuje 6,7 % fruktoze, 1,6 % glukoze in 3,6 % saharoze. Od organskih kislin je v jabolkih najbolj zastopana jabolčna kislina (3–9 g/kg). Pri jabolkih je stopnja zrelosti plodov povezana s količino organskih kislin oziroma z razmerjem med sladkorji in kislinami. To razmerje s časom narašča, saj se količina sladkorjev zaradi hidrolize škroba povečuje, vsebnost organskih kislin pa se zaradi vstopa v metabolne procese zmanjšuje (Gvozdenović, 1989).

Namen raziskave je bil proučiti vpliv sestave jabolčne kaše in načina koncentriranja na hitrost hidrolize saharoze. Z analizo vzorcev z metodo HPLC smo spremljali masne koncentracije fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju vzorcev do 65 °Brix. Pri vzorcih 1, 2, 3 in 6 je potekalo koncentriranje pri normalnem zračnem tlaku, pri vzorcih 4

in 5 pri znižanem tlaku in znižani temperaturi, pri vzorcu 7 (modelna raztopina) pa smo spremljali razpad saharoze pri sobni temperaturi.

Primerjali smo naše rezultate z rezultati Štampar in sod. (2009) in Souci in sod. (2000) ter prišli do ugotovitve, da ima jabolčna kaša nižjo vsebnost jabolčne kisline (3,64 g/kg) ter podobno vsebnost topne suhe snovi (12,5 g/100 g). Predvidevamo, da je nekoliko nižja vsebnost jabolčne kisline posledica metabolnih procesov v jabolkih.

V jabolčni kaši brez dodatka konzumnega sladkorja je bila največja masna koncentracija fruktoze (63,2 g/L), saharoze (53,3 g/L), najmanjša pa glukoze (7,2 g/L).

Rezultati poskusov so pokazali, da je hidroliza saharoze med koncentriranjem pri normalnem zračnem tlaku v odprtem sistemu večja (11,0 % začetne vrednosti), kot pri vzorcu, kjer je bilo koncentriranje zaradi pokrite posode upočasnjeno (8,3 %).

Med vzorcema (4 in 5), pri katerih je potekala hidroliza saharoze pri znižanem tlaku in temperaturi (60 °C in 54 °C) nismo zaznali bistvenih razlik v hitrosti hidrolize in deležu razpadle saharoze. Pri obeh vzorcih je koncentriranje potekalo dalj časa (90 minut), pri tem pa je razpadlo 6,3 % saharoze (vzorec 4) in 6,2 % (vzorec 5).

Hidroliza modelne raztopine MR1, ki smo jo koncentrirali pri normalnem zračnem tlaku, je potekla zelo hitro in je bila končana v 10 minutah, pri tem pa je razpadlo 48,7 % začetne količine saharoze. Pri modelni raztopini MR2, kjer smo spremljali hidrolizo saharoze pri sobni temperaturi, smo prve spremembe v koncentracijah sladkorjev zaznali šele po 2 dneh, medtem ko je po 6 dneh hidrolize razpadlo zgolj 3,8 % saharoze.

5.2. SKLEPI

Na osnovi opravljenega dela lahko povzamemo naslednje sklepe:

- Jabolčna kaša, ki smo jo uporabili pri nalogi, vsebuje 12,5 % topne suhe snovi in 3,64 g/kg jabolčne kisline.
- Največji delež sladkorjev v kaši predstavlja fruktoza, najmanjšega pa glukoza.
- Zaradi vpliva toplote, jabolčne kisline in encimov poteče hidroliza saharoze, ki konvertira v ekvimolarno mešanico glukoze in fruktoze. Hidroliza saharoze je potekla v vseh vzorcih jabolčnih kaš in obeh vzorcih modelnih raztopin.
- Meritve so pokazale, da je najhitreje koncentriral vzorec jabolčne kaše z dodano saharozo pri normalnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C. Po 20 minutah koncentriranja je bilo v vzorcu 68 % topne suhe snovi, pri tem pa je razpadlo 11,0 % skupne saharoze. Pri načinu upočasnjene koncentriranja je v istem času razpadlo 8,3 % skupne saharoze.
- Izkazalo se je, da med obema vzorcema, ki smo ju koncentrirali pri nižjih temperaturah (60 in 54 °C) in nižjih tlakih (0,2 in 0,15 bar) ni opaznejših razlik v hitrosti koncentriranja in deležu razpadle saharoze.
- Koncentriranje vzorcev jabolčne kaše z dodatkom sladkorja pri normalnem zračnem tlaku je potekalo 20–25 minut, medtem ko je zaprt postopek pri znižanem tlaku in temperaturi potekal 90 minut. Pri koncentriranju vzorcev pri znižanem tlaku je razpadlo 6,2 in 6,3 % saharoze.
- Na sobni temperaturi poteka hidroliza saharoze v manjši meri (3,8 % razpadle saharoze v 6-ih dneh).
- Hidroliza čiste saharoze (ob prisotnosti jabolčne kisline) pri 103 °C in normalnem zračnem tlaku poteka zelo hitro, saj v 10 minutah razpade 48,7 % saharoze.

6 POVZETEK

Marmelade in džemi so izdelki, pridobljeni z različnimi načini koncentriranja sadja ob dodatku sladkorja. Ker pri klasični toplotni obdelavi prihaja do poslabšanja senzoričnih lastnosti izdelka, se za izdelavo kvalitetnih marmelad in džemov pogosto uporablja postopek koncentriranja pri znižanem tlaku in temperaturi.

Namen raziskave je bil proučiti vpliv sestave jabolčne kaše in načina koncentriranja na hitrost hidrolize saharoze pri pripravi koncentriranih sadnih izdelkov.

Eksperimentalno smo izmerili vsebnost topne suhe snovi, jabolčne kisline in zastopanost fruktoze, glukoze in saharoze v jabolčni kaši. Hitrost koncentriranja marmelad smo spremljali z merjenjem vsebnosti suhe snovi v določenih časovnih intervalih. Vsebnosti analiziranih komponent smo primerjali s podatki, objavljenimi v literaturi.

Z analizami vzorcev z metodo HPLC smo spremljali masne koncentracije fruktoze, glukoze in saharoze pri različnih načinih koncentriranja sadnih izdelkov.

Eksperimentalno smo določili, da je v jabolčni kaši največ fruktoze (63,2 g/L), manj saharoze (53,3 g/L), najmanj pa je zastopana glukoza (7,2 g/L). Med organskimi kislinami je v jabolčni kaši največ jabolčne kisline (3,64 g/kg).

Rezultati naših poskusov so pokazali, da hidroliza saharoze poteče v vseh sedmih vzorcih, ne glede na način koncentriranja. Pri vzorcih jabolčnih kaš z dodanim konzumnim sladkorjem (vzorec 1, 2, 4, 5) je bila hidroliza saharoze največja v vzorcu 1, ki je bil koncentriran pri običajnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C. Najmanjši razpad saharoze smo ugotovili pri koncentriranju jabolčne kaše pri temperaturi 54 °C in tlaku 0,15 bar (vzorec 5).

Pri obeh vzorcih, kjer je koncentriranje potekalo v zaprtem sistemu pri znižani temperaturi in tlaku (vzorec 4 in 5), ni bilo zaznati bistvenih medsebojnih razlik v hitrosti

koncentriranja in deležu razpadle saharoze. V primerjavi s koncentriranjem pri normalnem zračnem tlaku je bil čas koncentriranja pri obeh navedenih vzorcih bistveno daljši. Pri modelni raztopini, pri kateri smo spremljali hidrolizo saharoze pri sobni temperaturi, je bilo opaziti prve spremembe v koncentracijah sladkorjev šele po nekaj dneh.

7 VIRI

Alexander R.J. 1998. Sweeteners: Nutritive. St. Paul, Eagan Press: 116 str.

Baker R. A., Berry N., Hui Y. H., Barrett D. M. 2005. Fruit preserves and jams. V: Processing fruits: Science and technology. 2nd ed. Berrett D. M., Somogyi L., Ramaswamy H. (eds.). New York, CRC Press: 113-125

Bartol T., Bradač J., Hočevar I., Koler-Povh T., Siard N., Stopar K. 2001. Navodila za oblikovanje pisnih diplomskih in podiplomskih izdelkov na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani, 1. ponatis. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 23 str.

Batič M., Smole Možina S., Raspor P. 1993. Biotehnološka proizvodnja ogljikohidratnih sladil in njihovih nadomestkov. V: Ogljikovi hidrati. 15. Bitenčevi živilski dnevi '93, Ljubljana, 10.-11. junij 1993. Plestenjak A., Žlender B., Zelenik-Blatnik A. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilsko tehnologijo: 95-104

Bender D. A. 2003. Glucose: Function and metabolism. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. Vol. 5. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Amsterdam, Academic Press: 2904-2911

Bernardez M. M., Migualez J. D. M., Queijeiro J. G. 2004. HPLC determination of sugars in varieties of chestnut fruits from Galicia (Spain). Journal of Food Composition and Analysis, 17, 1: 63-67

Boyer R. F. 2005. Temelji biokemije. Ljubljana, Študentska založba: 634 str.

Brobst K. M., Scobel H. D. 1982. Modern chromatographic methods for the analysis of carbohydrate mixtures. Starch, 34, 4: 117-121. Cit. po Lovšin-Kukman I. 1991. Priprava škrobnih hidrolizatov s termostabilnimi alfa amilazami in njihova karakterizacija. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilsko tehnologijo: 82 str.

Črček I. 2007. Pomološke lastnosti sort jablan (*Malus domestica* Borkh.) primernih za ekološko pridelavo. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 31 str.

Flutto L. 2003. Pectin: Food use. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. Vol. 7. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). London, Academic Press: 4449-4452

Forgacs E., Cserhati T. 2003. Chromatography: Principles. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. Vol. 2. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Amsterdam, Academic Press: 1259-1267

Furet A. 1999. Čar marmelad. Ljubljana, Vale Novak: 7-25

Gvozdenović D. 1989. Od obiranja sadja do prodaje. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 10-81

Hancock W. S. 1984. CRC handbook of HPLC for the separation of amino acids, peptides and proteins. Vol. 2. Boca Raton, CRC Press: 522 str. Cit. po: Kregar I. 1996. Kromatografske metode. V: Biotehnologija. Osnovna znanja. Raspor P. (ur.), Ljubljana, Bia: 609-632

Hribar J. 1989. Spremembe kemičnih in mehanskih lastnosti jabolk sorte Jonagold pri različnih pogojih skladiščenja. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilsko tehnologijo: 4-23

Huberlant J. 2003. Sucrose: Properties and determination. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. Vol. 5. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Amsterdam, Academic Press: 5636-5641

Jams, jellies and marmalades. 2009. Neuenbürg Württ, Herbstreith & Fox: 74 str.
http://www.herbstreith-fox.de/fileadmin/tmp/pdf/broschuren/Konfituere_englisch.pdf
(sept. 2009)

Jensen M. B. 1998. An integrated approach to instruction in liquid chromatography and electrochemistry. Moorhead, MN, Concordia College, Department of Chemistry
<http://www.cord.edu/faculty/jensen/poster/> (november 2009): 16 str.

Jeon I. J. 1995. Carbohydrates and sugars. V: Analyzing food for nutrition labeling and hazardous contaminants. Jeon I. J., Ikins W. G. (eds.). New York, Marcel Decker: 87-108

Johnson J. M., Conforti F. D. 2003. Fructose. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. Vol. 4. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Amsterdam, Academic Press: 2748-2752

Klofutar C. 1993. Fizikalno kemijske lastnosti ogljikovih hidratov. V: Ogljikovi hidrati. 15. Bitenčevi živilski dnevi '93, Ljubljana, 10.-11. junij 1993. Plestenjak A., Žlender B., Zelenik Blatnik A. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilsko tehnologijo: 1-10

Koch V., Pavčič M., Salobir K. 1993. Vlakinine v prehrani. V: Ogljikovi hidrati. 15. Bitenčevi živilski dnevi '93, Ljubljana, 10.-11. junij 1993. Plestenjak A., Žlender B., Zelenik Blatnik A. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilsko tehnologijo: 39-58

Košmelj K. 2001. Uporabna statistika. Ljubljana, Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani: 249 str.

Kregar I. 1996. Kromatografske metode. V: Biotehnologija. Osnovna znanja. Raspor P. (ur.). Ljubljana, Bia: 609-632

BIA. 2009. Kromatografija: HPLC sistemi. Ljubljana, Bia: Podjetje za laboratorijsko procesno opremo

www.bia.si/web/kromatografija.asp (november 2009): 8 str.

Macdonald I. 2003. Carbohydrates: Metabolism of sugars. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. Vol. 2. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Amsterdam, Academic Press: 889-890

Miller J. M. 1987. Chromatography: Concepts and contrasts. New York, Wiley & Sons, Inc.: 193-209

Moreau C., Durand R., Alies F., Cotillon M., Frutz T., Theoleyre M. A. 2000. Hydrolysis of sucrose in the presence of H-form zeolites. *Industrial Crops and Products*, 11: 237-242

Moreno-Aribas M. V., Polo M. C. 2003. High-performance liquid chromatography. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. Vol. 2. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Amsterdam, Academic Press: 1274-1280

Nikolov Z. L., Jakovljevič J. B. 1984. High performance liquid chromatographic separation of oligosaccharides using amine modified silica columns. *Starch*, 36, 3: 97-100

Norman J. 2003. Marmelade. Ljubljana, Kmečki glas: 41 str.

Perdih A. 1996. Izbor in priprava substratov. V: Biotehnologija. Osnovna znanja. Raspor P. (ur.). Ljubljana, Bia: 368-382

Peris-Tortajada M. 2000. HPLC Determination of carbohydrates in foods. V: Food analysis by HPLC. Nollet L. M. L. (ed.). New York, Marcel Dekker: 287-302

Peris-Tortajada M. 2004. Carbohydrates and starch. V: Handbook of food analysis. 2nd ed. Nollet L. M. L. (ed.). New York, Marcel Dekker: 383-408

Pilgrim G. W., Walter R. H., Oakenfull D. G. 1991. Jams, jellies and preserves. V: The chemistry and technology of pectin. Walter R. H. (ed.). San Diego, Academic Press: 24-49

Plazl I., Leskovšek S., Koloini T. 1995. Hydrolysis of sucrose by conventional and microwave heating in stirred tank reactor. *Chemical Engineering Journal*, 59: 253-257

Plestenjak A. 1993. Analitika ogljikovih hidratov. V: Ogljikovi hidrati. 15. Bitenčevi živilski dnevi '93, Ljubljana, 10.-11. junij 1993. Plestenjak A., Žlender B., Zelenik-Blatnik A. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilsko tehnologijo: 21-30

Plestenjak A., Golob T. 1990. Analiza živil. Navodila za vaje. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilsko tehnologijo: 75 str.

Požar J. 2003. Hranoslovje – zdrava prehrana. Maribor, Založba Obzorja: 190 str.
Pravilnik o kakovosti sadnih džemov, želejev, marmelad in sladkane kostanjeve kaše. 2004. Uradni list Republike Slovenije, 14, 31: 3750-3752

- Pravilnik o kakovosti sladkorjev. 2001. Uradni list Republike Slovenije, 11, 6: 491-493
- Ridley B. L., O'Neill M. A., Monhen D. 2001. Pectins: structure, biosynthesis and oligogalacturonide related signaling. *Phytochemistry*, 57: 929-969
- Sinha N. K. 2006. Apples. V: Handbook of fruits and fruit processing. Hui Y.H. (ed.). Ames, Blackwell Publishing: 265-278
- Souci S.W., Fachmann W., Kraut H. 2000. Food composition and nutrition tables. 6th ed. Stuttgart, Medpharm: 873-875
- Sreeranjit C. V. K., Lal J. J. 2003. Glucose: Propertis and analysis. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. Vol. 5. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Amsterdam, Academic Press: 2898-2903
- Suwa Stanojević M. 1999 Tehnologja sadja vrtnin in pijač. Ljubljana, Zavod Republike Slovenije za šolstvo: 140-143
- Štampar F., Lešnik M., Veberič R., Solar A., Koron D., Usenik V., Hudina M., Osterc G. 2009. Sadjarstvo. 2. dopolnjena izd. Ljubljana, Kmečki glas: 416 str.
- Urh N. 2006. Optimalni pogoji obiranja jabolk cv. Pinova in cv. Marina. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 1-12
- Vibhakara H. S., Bawa A. S. 2006. Manufacturing jams and jellies. V: Handbook of fruits and fruit processing. Hui Y. H. (ed.). Ames, Blackwell Publishing: 189-204
- Viršček-Marn M., Stopar M. 1998. Sorte jabolk. Ljubljana, Založba Kmečki glas: 206 str.
- Watanabe M., Arai E., Kumeno K., Honma K. 1991. A new method for producing a non-heated jam sample: The use of freeze concentration and high-pressure sterilization. *Agricultural and Biological Chemistry*, 55: 2175-2176
- Žorž M. 1991. HPLC. Ljubljana, samozaložba, 154 str.

ZAHVALA

Za strokovno pomoč se zahvaljujem mentorju prof. dr. Rajku Vidrihu s Katedre za tehnologije rastlinskih živil na Biotehniški fakulteti in recenzentki doc. dr. Nataši Šegatin.

Za pomoč pri praktični izvedbi diplomske naloge se zahvaljujem doc. dr. Andreju Plestenjaku s Katedre za tehnologijo rastlinskih živil in prof. dr. Veroniki Abram s Katedre za biokemijo in kemijo živil na Biotehniški fakulteti.

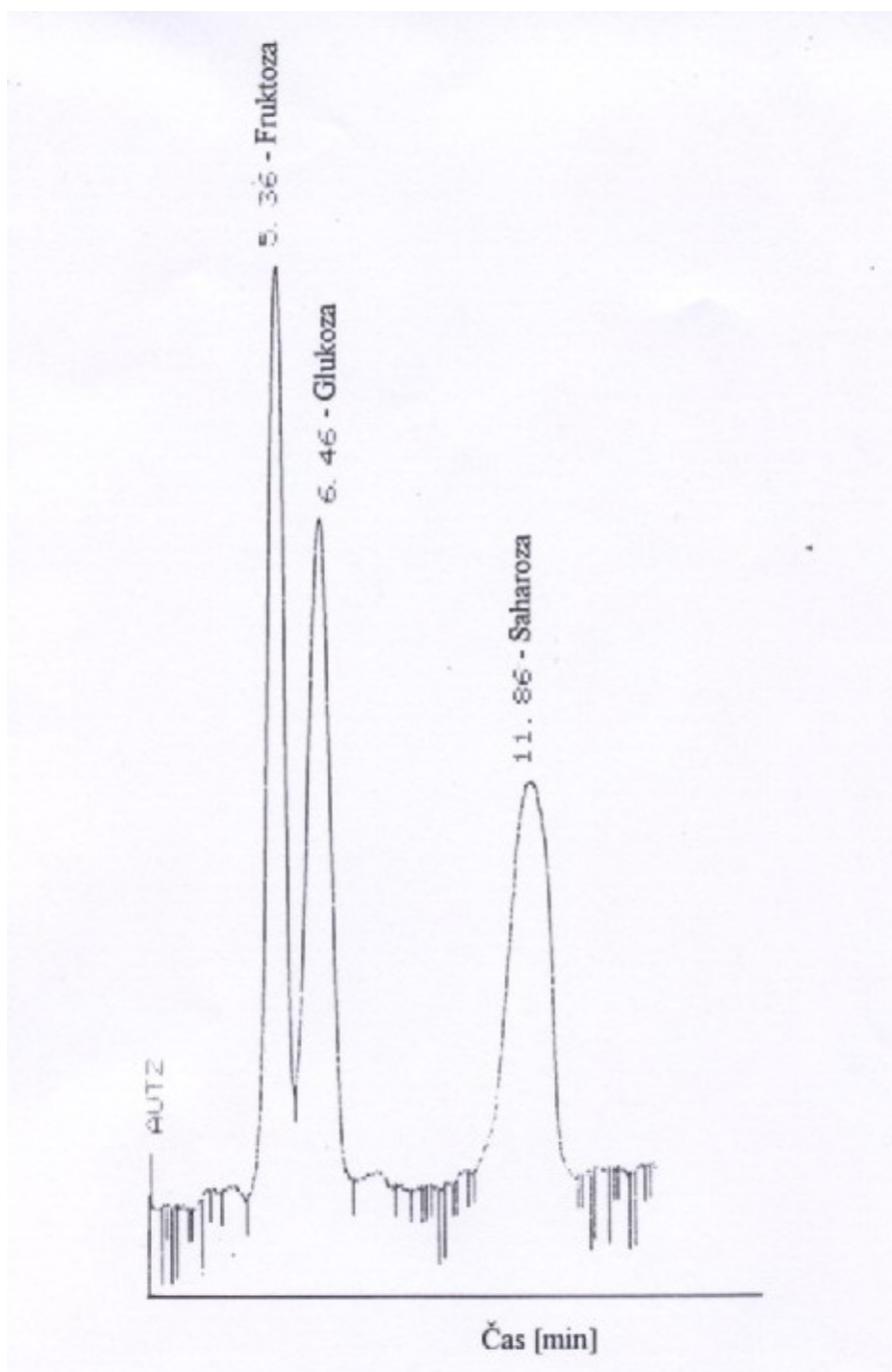
Hvala ga. Ivici Hočevar za pregled virov in pomoč pri oblikovanju diplomske naloge.

Posebna hvala staršem, ki sta me podpirala in bodrila k dokončanju študija.

Lepa hvala tudi tebi, Jasmina, za spodbudo in veliko razumevanja.

Hvala vsem.

PRILOGE



Priloga A: Ločba fruktoze, glukoze in saharoze na koloni Spherisorb-NH₂, pri pretoku mobilne faze (acetonitril/voda, 85/15) 1,5 ml/min in občutljivosti detektorja za razliko lomnega količnika $\Delta RI = 2 \times 10^{-5}$

Priloga B: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju jabolčne kaše z dodatkom saharoze pri normalnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C

	Čas koncentriranja (min)					Delež razpadle saharoze (%)
	0	5	10	15	20	
SS (%)	45,5	49,6	55,4	60,8	68,0	
	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	
Fruktoza	63,2* (63,4)**	61,2 (61,4)	70,7 (70,9)	75,5 (75,7)	90,7 (90,9)	-
Glukoza	8,4 (8,4)	10,1 (10,1)	24,6 (24,7)	31,3 (31,4)	44,8 (45,0)	-
Saharoza	560,4 (561,4)	534,1 (535,1)	514,8 (515,7)	506,5 (507,4)	498,6 (499,5)	11,0

* Metoda eksterne standarda

** Kvantizacija z umeritveno krivuljo

Priloga C: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri upočasnjem koncentriranju jabolčne kaše z dodatkom saharoze pri normalnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C

	Čas koncentriranja (min)			Delež razpadle saharoze (%)
	0	10	20	
SS (%)	45,5	50,2	52,3	
	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	
Fruktoza	58,6* (58,7)**	65,1 (65,3)	70,3 (70,5)	-
Glukoza	7,9 (7,9)	25,4 (25,5)	34,7 (34,8)	-
Saharoza	558,3 (559,3)	541,9 (542,9)	512,1 (513,0)	8,6

* Metoda eksterne standarda

** Kvantizacija z umeritveno krivuljo

Priloga D: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju jabolčne kaše brez dodatka saharoze pri normalnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C

	Čas koncentriranja (min)					Delež razpadle saharoze (%)
	0	5	10	15	25	
SS (%)	12,5	28,2	41,5	52,6	65,0	
	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	
Fruktoza	63,2* (63,4)**	65,9 (66,1)	70,6 (70,8)	79,1 (79,3)	96,9 (97,1)	-
Glukoza	7,2 (7,2)	9,0 (9,0)	13,1 (13,2)	15,5 (15,6)	19,8 (19,9)	-
Saharoza	53,3 (53,4)	50,0 (50,1)	44,7 (44,8)	38,4 (38,5)	18,8 (18,8)	64,7

* Metoda eksterne standarda

** Kvantizacija z umeritveno krivuljo

Priloga E: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju jabolčne kaše z dodatkom saharoze pri znižanem zračnem tlaku (0,2 bar) in temperaturi 60 °C

	Čas koncentriranja (min)				Delež razpadle saharoze (%)
	0	15	45	90	
SS (%)	45,5	48,0	52,4	63,0	
	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	
Fruktoza	55,7* (55,8)**	56,2 (56,3)	69,4 (69,6)	77,6 (77,8)	-
Glukoza	7,5 (7,5)	9,8 (9,8)	16,7 (16,8)	19,3 (19,4)	-
Saharoza	532,2 (533,2)	519,5 (520,4)	505,7 (506,6)	498,5 (499,4)	6,3

* Metoda eksternega standarda

** Kvantizacija z umeritveno krivuljo

Priloga F: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju jabolčne kaše z dodatkom saharoze pri znižanem zračnem tlaku (0,15 bar) in temperaturi 54 °C

	Čas koncentriranja (min)				Delež razpadle saharoze (%)
	0	15	45	90	
SS (%)	45,5	46,5	50,0	59,2	
	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	
Fruktoza	55,7* (55,8)**	49,1 (49,2)	63,9 (64,1)	76,4 (76,6)	-
Glukoza	7,5 (7,5)	8,1 (8,1)	9,3 (9,3)	11,1 (11,1)	-
Saharoza	532,2 (533,2)	512,9 (513,8)	503,4 (504,3)	499,1 (500,0)	6,2

* Metoda eksternega standarda

** Kvantizacija z umeritveno krivuljo

Priloga G: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri koncentriranju modelne raztopine MR 1 pri normalnem zračnem tlaku in temperaturi 103 °C

	Čas koncentriranja (min)			Delež razpadle saharoze (%)
	0	5	10	
SS (%)	50,5	62,9	72,8	
	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	
Fruktoza	0* (0)**	122,7 (123,0)	235,0 (235,6)	-
Glukoza	0 (0)	134,0 (134,5)	266,5 (267,6)	-
Saharoza	540,0 (541,0)	470,7 (471,5)	277,1 (277,6)	48,7

* Metoda eksternega standarda

** Kvantizacija z umeritveno krivuljo

Priloga H: Spremljanje vsebnosti fruktoze, glukoze in saharoze pri hidrolizi saharoze v modelni raztopini MR2 pri sobni temperaturi

	Čas hidrolize (v dnevih)				Delež razpadle saharoze (%)
	0	2	5	6	
SS (%)	50,5	50,5	50,5	50,5	
	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	γ (gL ⁻¹)	
Fruktoza	0* (0)**	0 (0)	3,1 (3,1)	3,8 (3,8)	-
Glukoza	0 (0)	0 (0)	0,5 (0,5)	1,1 (1,1)	-
Saharoza	540,0 (541,0)	538,4 (539,4)	526,9 (527,8)	520,0 (520,9)	3,7

* Metoda eksterne standarda

** Kvantizacija z umeritveno krivuljo

