



UNIVERZITET U NOVOM SADU  
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
DEPARTMAN ZA HEMIJU



mr Žarko Kevrešan

BIOHEMIJSKI ASPEKTI SAZREVANJA  
ZAČINSKE PAPRIKE  
(*Capsicum annuum* L.)

– doktorska disertacija –

Novi Sad, 2008.

# SADRŽAJ

<b>LISTA SKRAĆENICA</b> .....	<b>VI</b>
<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. OPŠTI DEO</b> .....	<b>3</b>
2.1. Plod .....	3
2.1.1. Zametanje i sazrevanje ploda .....	3
2.2. Karotenoidi .....	5
2.2.1. Nalaženje u prirodi .....	5
2.2.2. Uloga karotenoida u fotosintezi .....	6
2.2.2.1. Plastidi .....	6
2.2.2.2. Fotosistemi I i II .....	7
2.2.3. Zaštitna uloga karotenoida .....	9
2.2.4. Biosinteza karotenoida .....	11
2.2.4.1. Regulacija biosinteze karotenoida u hromoplastima .....	15
2.2.5. Osobine karotenoida .....	16
2.2.6. Promene na karotenoidima tokom zrenja plodova .....	19
2.2.6.1. Paprika .....	19
2.2.7. Promene na karotenoidima nakon ubiranja plodova .....	20
2.2.8. Značaj karotenoida u ljudskoj ishrani .....	20
<b>3. MATERIJAL I METODE</b> .....	<b>24</b>
3.1. Biljni materijal .....	24
3.1.1. Uzorkovanje začinske paprike i šema oglada .....	24
3.2. Metode analize .....	27
3.2.1. Određivanje sadržaja vode, ukupnih mineralnih materija, mikro i makro elemenata i askorbinske kiseline .....	27
3.2.2. Određivanje površinske boje .....	27
3.2.3. Određivanje sadržaja ukupnih mono i oligosaharida .....	28
3.2.4. Spektrofotometrijsko određivanje sadržaja pigmenata .....	29
3.2.5. Određivanje aktivnosti peroksidaze (EC 1.11.1.7) .....	29

3.2.6. Određivanje aktivnosti $\beta$ -glukozidaze (EC 3.2.1.21) . . . . .	29
3.2.6. Određivanje ukupne (ekstrahovane) boje paprike metodom ASTA 20 . . . . .	30
3.2.7. Razdvajanje i određivanje karotenoida . . . . .	30
3.2.8. Određivanje sastava etarskih ulja . . . . .	35
3.2.9. Statistička obrada podataka . . . . .	36
<b>4. REZULTATI I DISKUSIJA . . . . .</b>	<b>37</b>
4.1. PROMENE TOKOM ZRENJA NA SVEŽOJ PAPRICI . . . . .	37
4.1.1. Promene tokom zrenja na perikarpu sveže paprike . . . . .	37
4.1.1.1. Promene sadržaja mikro i makroelemenata u perikarpu tokom zrenja začinske paprike . . . . .	40
4.1.1.2. Promene sadržaja pigmenata tokom zrenja začinske paprike . . . . .	41
4.1.1.3. Promene sastava etarskih ulja tokom zrenja začinske paprike . . . . .	50
4.1.1.3.1. Ugljovodonici . . . . .	57
4.1.1.3.2. Aldehidi . . . . .	57
4.1.1.3.3. Ketoni . . . . .	59
4.1.1.3.4. Alkoholi . . . . .	59
4.1.1.3.5. Kiseline . . . . .	60
4.1.1.3.6. Estri . . . . .	61
4.1.1.3.7. Terpeni . . . . .	61
4.1.1.3.8. Ostala jedinjenja . . . . .	64
4.1.1.4. Promene aktivnosti enzima $\beta$ -glukozidaze i peroksidaze tokom zrenja začinske paprike . . . . .	65
4.1.2. Promene sastava semena sveže paprike tokom zrenja . . . . .	67
4.2. PROMENE NA PERIKARPU SUŠENE PAPRIKE NASTALE TRETMANOM I/ILI SUŠENJEM NAKON UBIRANJA PLODOVA . . . . .	68
4.2.1. Promene na pigmentima perikarpa sušene paprike nastale tretmanom i/ili sušenjem nakon ubiranja plodova . . . . .	74
4.2.1.1. Zelena paprika . . . . .	74
4.2.1.2. Braon paprika . . . . .	80
4.2.1.3. Crvena paprika . . . . .	85
4.2.1.4. Tamno crvena paprika . . . . .	91
4.2.2. Promene u sastavu etarskih ulja perikarpa sušene paprike nastale tretmanom i/ili sušenjem nakon branja plodova . . . . .	98
4.2.2.1. Ugljovodonici . . . . .	108
4.2.2.2. Aldehidi . . . . .	110
4.2.2.3. Ketoni . . . . .	111
4.2.2.4. Alkoholi . . . . .	112
4.2.2.5. Kiseline . . . . .	112

4.2.2.6. Estri .....	113
4.2.2.7. Terpeni .....	114
4.2.2.8. Fenoli .....	118
4.2.2.9. Heterociklična jedinjenja .....	118
4.2.2.10. Ostala jedinjenja .....	119
4.2.3. Promene na semenu sušene paprike nastale tretmanom i/ili sušenjem nakon branja plodova .....	120
<b>5. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>123</b>
<b>6. LITERATURA .....</b>	<b>126</b>

Iako se smatra da je doktorska disertacija samostalno delo, ja bih bez pomoći, vrlo teško uspeo da je privedem kraju. Stoga veliku zahvalnost dugujem:

- Mentoru **dr Kseniji Kuhajdi**, redovnom profesoru Departmana za hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu na pomoći prilikom koncipiranja, podršci i podsticaju tokom izrade ove teze,
- **dr Nedi Mimici-Dukić**, redovnom profesoru Departmana za hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu na pomoći prilikom tumačenja rezultata sastava etarskih ulja,
- **dr Mirjani Popsavin**, redovnom profesoru Departmana za hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu na izuzetnim sugestijama vezanim za pisanje ove teze,
- **dr Biserki Vujičić**, redovnom profesoru Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu na pomoći i konsultacijama vezanim za tehnologiju i preradu začinske paprike,
- **dr Milanu Popoviću**, redovnom profesoru Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu na pomoći i korisnim sugestijama vezanim za eksperimentalno izvođenje i pisanje ove teze,
- **dr Slobodanu Tojagiću** i **dr Biserki Vujičić** zbog upućivanja na problematiku boje začinske paprike,
- dipl. ing **Nadi Tomanek**, referentu za razvoj, „Aleva“, Novi Kneževac i dipl. ing **Đuri Zagorcu**, A.D. „Napredak“, Stara Pazova za obezbeđivanje uzoraka paprike,
- **Katedri za Fiziologiju biljaka, Prirodno-matematičkog fakulteta** i **katedri za Fiziologiju biljaka Poljoprivrednog fakulteta** u Novom Sadu za omogućavanje pristupa staklari u cilju dozrevanja plodova,
- **Laboratoriji za ispitivanje prehrambenih proizvoda** Instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu, za pomoć, podršku i savete vezane za analize biljnog materijala,
- **dr Anamariji Mandić**, naučnom saradniku na Institutu za prehrambene tehnologije u Novom Sadu za upoznavanje sa tajnama pripreme uzoraka i rada na HPLC-u,
- **dr Vjeri Pribiš**, redovnom profesoru na Tehnološkom fakultetu i **Mladenki Pestorić**, istraživaču na Institutu za prehrambene tehnologije u Novom Sadu, za sve savete i pomoć oko određivanja pokazatelja vezanih za određivanje boje,
- **dr Gordani Ušćebrki** i **dr Draganu Žikiću** sa Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu, za pomoć prilikom određivanja boje,
- **mr Aleksandri Tepić**, sa katedre za tehnologiju voća i povrća na Tehnološkom fakultetu u Novom Sadu za pomoć prilikom određivanja ASTA vrednosti,
- **dipl. hem Mari Umićević** sa katedre za hemiju i biohemiju Poljoprivrednog fakulteta za pomoć tokom pripreme (destilacije) uzoraka za određivanje sastava etarskog ulja,
- **dr Snežani Sinadinović-Fišer**, vanrednom profesoru i dipl. ing **Nataši Hrabovski**, istraživaču-pripravniku sa katedre za petrohemijsko inženjerstvo, Tehnološki fakultet Novi Sad, za određivanje sastava etarskih ulja na GC/MS,
- **Nenadu Iliću**, dizajneru, za idejna i tehnička rešenja prilikom pripreme za štampu,
- **Institutu za prehrambene tehnologije u Novom Sadu** za svu finansijsku pomoć tokom izrade ovog rada.

Siguran sam da bez podrške **moje porodice** i **moje Vesne** sigurno ne bih imao dovoljno snage da završim ovaj rad.

*Autor*

## LISTA SKRAĆENICA

**$\alpha$ -bisabolen** – (4Z)-1-metil-4-(6-metilhept-5-en-2-iliden)cikloheksan  
 **$\alpha$ -ciklocitral** – 2,6,6-trimetilcikloheks-2-en-1-karbaldehid  
 **$\alpha$ -jonon** – (E)-4-(2,6,6-trimetil-1-cikloheks-2-enil)but-3-en-2-on  
 **$\alpha$ -kopaen** – 8-izopropil-1,3-dimetiltriciklo(4.4.0.02,7)dec-3-en  
 **$\alpha$ -ocimen** – 3,7-dimetil-1,3,7-oktatrien  
 **$\alpha$ -pinen** – (1S,5S)-2,6,6-trimetilbiciklo[3.1.1]hept-2-en  
 **$\alpha$ -santol** – 3-(3,4-dihidroksifenil)-5,7-dihidroksihromen-4-on  
 **$\alpha$ -terpineol** – 2-(4-metil-1-cikloheks-3-enil)propan-2-ol  
**Borneol** – endo-1,7,7-trimetil-biciklo[2.2.1]heptan-2-ol  
 **$\beta$ -ciklocitral** – 2,6,6-trimetilcikloheksen-1-karbaldehid  
 **$\beta$ -elemen** – (1S-(1-alfa,2- $\beta$ ,4- $\beta$ ))-1-etenil-1-metil-2,4-bis(1-metiletetil)cikloheksan  
 **$\beta$ -jonon** – (E)-4-(2,6,6-trimetil-1-cikloheksenil)but-3-en-2-on  
 **$\beta$ -mircen** – 7-metil-3-metilideneokta-1,6-dien  
 **$\beta$ -ocimen** – 3,7-dimetil-1,3,6-oktatrien  
**Ccs** – gen koji kodira kapsantin-kapsorubinsintetazu  
**Ccs** – kapsantin-kapsorubinsintetaza  
***o*-cimen** – 1-metil-2-propan-2-il-benzen  
***m*-cimen** – 1-metil-3-propan-2-ilbenzen  
***p*-cimen** – 1-metil-4-propan-2-ilbenzen  
**citral** – (2E)-3,7-dimetilokta-2,6-dienal  
**citrilidenaceton** – (3E,5E)-6,10-dimetilundeka-3,5,9-trien-2-on  
**citrolenil format** – 3,7-dimetilokt-6-enil format  
**citronelol** – 3,7-dimetilokt-6-en-1-ol  
***CrtL-b*** – gen odgovoran za sintezu likopen- $\beta$ -ciklaze  
***CrtL-e*** – gen odgovoran za sintezu likopen- $\epsilon$ -ciklaze  
***CrtR-b*** – likopen- $\beta$ -hidroksilaza  
***CtrR-e*** – likopen- $\epsilon$ -hidroksilaza.  
**Cyc-B** – likopen  $\beta$ -ciklaza  
**damascenon** – (E)-1-(2,6,6-trimetil-1-cikloheksa-1,3-dienil)but-2-en-1-on  
**DMAPP** – dimetilalil-difosfat  
**DOXP** – 1-deoksiksiluloza-5-fosfat  
**DPME** – 4-difosfocitidil-2C-metil-D-eritrol  
**DXP** – 1-deoksiksiluloza-5-fosfatreduktioizomeraza  
**DXR** – 1-deoksiksiluloza-5-fosfatreduktioizomeraza  
**DXS** – 1-deoksiksiluloza-5-fosfatsintetaza  
**FAD** – flavin adenin dinukleotid  
**falkarinol** – (3S,9Z)-heptadeka-1,9-dien-4,6-din-3-ol  
**farnezan** – 2,6,10-trimetildodekan  
**farnezil aceton** – 6,10,14-trimetilpentadeka-5,9,13-trien-2-on  
**farnezol** – 3,7,11-trimetildodeka-2,6,10-trien-1-ol  
**farnezol izomer a** – (2E,6E)-3,7,11-trimetildodeka-2,6,10-trien-1-ol  
**fitol** – (E,7R,11R)-3,7,11,15-tetrametilheksadek-2-en-1-ol  
**FPP** – farnezildifosfat  
**furfural** – furan-2-karbaldehid  
**GA3P** – glicerolaldehid-3-fosfat  
**geranial** – 3,7-dimetil-2,6-oktadienal  
**geranil aceton** – 6,10-dimetilundeka-5,9-dien-2-on

**geranil nitril** – 3,7-dimetilokta-2,6-dienenitril  
**geraniol** – 3,7-dimetil-2,6-oktadien-1-ol  
**geraniolaceton** – (5E)-6,10-dimetilundeka-5,9-dien-2-on  
**GGPP** – geranilgeranildifosfat  
**Ggps** – geranilgeranildifosfatsintetaza  
**GPP** – geranildifosfat  
**Ipi** – gen koji kodira enzim izoprenildifosfatizomerazu  
**IPP** – izopentil-difosfat  
**ispD [ygbP]** – 4-difosfocitidil-2C-mezil-D-eritrol-2-fosfatsintetaza  
**ispE** – 4-difosfocitidil-2C-mezil-D-eritrol-2-fosfatkinaza  
**ispF** – 2C-metil-D-eritritol-2,4-ciklodifosfatsintetaza  
**izofitol** – 3,7,11,15-tetrametilheksadek-1-en-3-ol  
**izolimonen** – 3-metil-6-prop-1-en-2-il-cikloheksen  
**izopropil-palmitat** – propan-2-il-heksadekanoat  
**kariofilen** – 4,11,11-trimetil-8-metilen-bicklo[7.2.0]undec-4-en  
**kariofilen oksid** – (1R,4R,6R,10S)-4,12,12-trimetil-9-metilen-5-oksatriciklo[8.2.0.0]4,6)]dodekan  
**kopaen** – (1R,2S,6S,7S,8S)-8-izopropil-1,3-dimetiltriciklo [4.4.0.02,7]dec-3-en  
**lanceol** – (2E)-2-(4,7-dimetil-3,4,4a,5,6,8a-heksahidro-2H-naftalen-1-ilidene)propan-1-ol  
**Lcy-b** – likopen  $\beta$ -ciklaza  
**Lcy-e** – likopen  $\epsilon$ -ciklaza  
**limonen** – 1-metil-4-prop-1-en-2-il-cikloheksen  
**linalol** – 3,7-dimetil-1,6-oktadien-3-ol  
**maniol** – 1,1-difenil-4-(1-piperidil)butan-1-ol  
**MEP** – 2-C-metil-D-eritrol-4-fosfat  
**miristicin** – 4-metoksi-6-prop-2-enil-benzo[1,3]dioksol  
**NAD** – nikotinamid-dinukleotid  
**nerolidol** – 3,7,11-trimetil-1,6,10-dodekantrien-3-ol  
**Nxs** – neoksantinsintetaza  
**Pds** – fitoendesaturaza  
**p-ksilen** – 1,4-dimetilbenzen  
**p-metilacetofenon** – 1-(4-metilfenil)etanon  
**Psy** – fitoensintetaza  
**Psy-1 i Psy-2** – geni koji kodiraju fitoensintetazu  
**safranal** – 2,6,6-trimetil-1,3-cikloheksadien-1-karboksaldehide  
**terpinolen** – 1-metil-4-propan-2-ilidenecikloheksen  
**Vde1** – violaksantindeepokisadaza  
**Vde1** – gen koji kodira violaksantindeepokisadazu  
**Zda** –  $\zeta$ -karotendesaturaza  
**Zep1** – zeaksantineposkidaza  
**Zep1** – gen koji kodira zeaksantineposkidazu

## 1. UVOD

Paprika (*Capsicum annum*) je jedna od najznačajnijih povrtarskih kultura u svetu i kod nas. Malo biljnih vrsta, kao paprika, ima tako široku primenu. Plod paprike u ishrani koristi se u svežem ili prerađenom stanju u tehnološkoj ili fiziološkoj zrelosti, dok se začinska paprika koristi za proizvodnju mlevene začinske paprike i oleorizina. Pored upotrebe u prehrambenoj industriji, aktivne materije iz paprike nalaze svoje mesto i u farmaceutskim i kozmetičkim proizvodima.

Paprika vodi poreklo iz Južne Amerike i pripada rodu *Capsicum*, familija *Solanaceae*. U svom prirodnom staništu ona je žbunasta višegodišnja biljka. Kako je paprika biljka kojoj pogoduju visoke temperature tokom vegetacije zbog oštih zima ona je kod nas jednogodišnja biljka. Osim visokih temperatura, usev paprike je u našim uslovima izuzetno osetljiv na nedostatak vlage pa je tokom njene proizvodnje neophodna agrotehnička mera navodnjavanja.

Crvena mlevena začinska paprika je u svetu poznat i cenjen začim a glavni proizvođači su Španija, Mađarska, Jugoslavija i Bugarska (ISO, 1984). Merila kvaliteta mlevene začinske paprike su ista u svetu ali se zahtevi potrošača pojedinih zemalja razlikuju, što ima za posledicu selekciju novih sorti začinske paprike.

Crvena začinska paprika ima dugu tradiciju gajenja na prostorima Vojvodine. Kako je potrošnja mlevene začinske paprike na našim prostorima velika, još tridesetih godina prošlog veka izdat je prvi priručnik za gajenje i preradu začinske paprike (Ivković, 1933; Ivačković, 1938). Kasnije su se i drugi autori bavili problemom gajenja i prerade začinske paprike (Jovanović, 1946; Mijušković, 1955; Kobrehel et al., 1986; Marković, 1994; Sabo, 1997; Husar et al., 1997; Marković i Vračar, 1998).

Dodavanjem mlevene začinske paprike prilikom pripreme hrane utiče se na aromu i boju pripremanog proizvoda. Pored upotrebe začinske paprike za pripremu jela u domaćinstvu crvena mlevena začinska paprika se u velikoj meri koristi i u industrijskoj proizvodnji hrane.

Tokom vegetacionog perioda biljka paprike prolazi kroz sve faze rastenja i razvića, pri čemu su najznačajnije promene prilikom formiranja, rastenja i razvića ploda. Kod sorti mlevene začinske paprike tokom zrenja naročito je uočljiva promena boje od zelene, karakteristične za nezrele plodove, preko braon, crvene do tamno crvene. Karakteristična crvena boja ploda vodi poreklo od prisutnih karotenoida a naročito od kapsantina i kapsorubina, dva karotenoida specifična za rod *Capsicum*.

Značajne biohemijske promene koje se dešavaju u plodu paprike tokom zrenja kao i posebno mesto karotenoida u tim procesima uslovio je cilj ove doktorske disertacije. Biohemijskim ispitivanjem svežeg ploda paprike različite zrelosti utvrdiće se stepen promena u plodu paprike koji nastaju tokom uzgajanja. U cilju određivanja biohemijskih promena tokom zrenja sveži plodovi paprike biće uzorkovani u četiri navrata u različitim fazama zrelosti. Faze zrelosti, odnosno momenat branja ploda, biće određen vizuelno, prema boji ploda koja se tokom zrenja menja od zelene preko braon, crvene i na kraju tamno crvene paprike.



Plodovi paprike sva četiri stepena zrelosti biće ostavljeni da dozru u veštačkim uslovima različitim tretmanima. Stepem biohemijskih promena paprike dozrevane u veštačkim uslovima će biti upoređene sa paprikama koje su dozrevale na biljkama u polju. Ispitivanje biohemijskih promena koje nastaju dozrevanjem pokazaće da li i u kojoj meri dozrevanje nakon branja može da zameni dozrevanje na plodu. Kako je dozrevanje vrlo bitan korak u tehnologiji proizvodnje začinske paprike rezultati će doprineti optimalnom momentu berbe plodova začinske paprike.

## 2. OPŠTI DEO

U opštem delu prikazaće se evoluciono poreklo ploda, njegova građa i osvrt na procese bitne za formiranje i sazrevanje ploda. Zbog velikog značaja koje karotenoidi imaju kod začinske paprike, njihovo nalaženje u prirodi, uloga u biljnim tkivima, osvrt na biosintezu i njihov značaj u ishrani biće prikazani kao jedna celina.

### 2.1. Plod

Pretpostavlja se da je plod posledica evolucije a da je njegova uloga zaštita i rasipanje semena. Zbog takve uloge plod je stalno pod uticajem evolucione selekcije (White, 2002). Pre oko 70 miliona godina, u periodu kasne Krede i početka Trijasa, javljaju se velike promene kod angiospermi (skrivenosemenica) (Friis et al., 1987). Veliko šarenilo promena u navedenom periodu pratila je velika diversifikacija načina oprašivanja, što se može dovesti u vezu sa naglim razvojem insekata (Friis i Crepet, 1987; Wing i Boucher, 1988). Međutim u ovom periodu plod i seme skrivenosemenica se ne menjaju (Eriksson et al., 2000). Fosilni ostaci plodova iz perioda rane i srednje Krede ukazuju da su svi plodovi bili suvi, bez lako uočljivih modifikacija za rasejavanje (raznošenje) semena (Friis i Crepet, 1987). Koštunice i bobice, klasični sočni plodovi, javljaju se u kasnoj Kredi i ranom Trijasu (Friis i Crepet, 1987). Prema Tiffney (1984) evolucija velikog broja različitih plodova u Paleocenu i Eocenu može se dovesti u vezu sa pojavom sisara i ptica, životinja koje i danas imaju najznačajniju ulogu u raznošenju semena. Kako je uloga plodova kod angiospermi raznošenje semena to je uočljiva njihova stalna selekcija čiji je cilj, sa aspekta životinja koje raznose seme, što atraktivniji plod (Knapp, 2002).

Po morfološkoj definiciji plod je metamorfoziran plodnik u kom se nalaze semena. Kod mnogih biljaka plod je složeniji od prethodno navedene definicije jer u formiranju ploda učestvuju i cvetna loža, čašica a u nekim slučajevima i cela cvast. U tom smislu, šira definicija ploda bi obuhvatala sve metamorfozirane delove cveta koji okružuju semena od zametanja do njihovog sazrevanja. Pod perikarpom se podrazumeva zid plodnika koji razvitkom daje plodov omotač. Plodov omotač tokom rasta i sazrevanja prolazi kroz veliki broj biohemijskih promena, a proučavanje ovih promena ima centralno mesto u ovoj disertaciji. Zatvorenost plodova u kojima se nalaze semena je razdelu biljaka, u kojem se nalazi i paprika, donela naziv "skrivenosemenice". Zametanje ploda, zatim njegovo dalje rasteње i razviće ima za posledicu pokretanje čitavog niza biohemijskih procesa kako u samom plodu tako i u ostalim delovima biljke koji imaju za cilj sazrevanje ploda.

Na osnovu dosadašnjih saznanja u razviću ploda razlikuju se sledeće faze: polinacija, zametanje ploda, rasteње i razviće (Nešković et al., 2003). Pre polinacije (oprašivanja) biljka je hranjive materije trošila na proizvodnju i rasejavanje polena, dok nakon polinacija prioriteti postaju oplođenje, embriogeneza, formiranje i sazrevanje semena i ploda.

#### 2.1.1. Zametanje i sazrevanje ploda

Pod **zametanjem ploda** se podrazumeva transformacija plodnika u mladi plod, koji počinje naglo da raste odmah nakon polinacije. Prvi stimulus za razviće plodnika je eksterne prirode i potiče od polena, a tek u kasnijem periodu razviće ploda regulisano je internim signalima.

Ukoliko izostane polinacija, a samim tim i signal za formiranje ploda, najčešće dolazi do propadanja celog cveta. Ukoliko se umesto polena na tučak cveta stavi ekstrakt polena koji sadrži auksin, moguć je razvitak ploda bez semena. Ova pojava naziva se partenokarpija. Formiranje ploda je pod uticajem nutritivnih faktora koje obezbeđuje biljka, kao i hormonalnih signala koji se velikim delom sintetišu u plodu. Navedeni događaji imaju za posledicu narušavanje postojeće i izgradnju nove biohemijske ravnoteže koja je usmerena ka izgradnji ploda. Tokom formiranja ploda dešava se intenzivna deoba ćelija perikarpa i njihova diferencijacija na: egzokarp, mezokarp i endokarp. Spoljašnji sloj perikarpa – egzokarp, pošto je okrenut ka spoljašnjoj sredini ima zaštitnu ulogu, endokarp koji nastaje od unutrašnjeg epidermisa perikarpa je najbliži semenu. Između dva pomenuta sloja nalazi se mezokarp koji vodi poreklo od parenhinskog tkiva karpele i kod sočnih plodova u ovom delu perikarpa nakupljaju se hranjive materije – šećeri, ulja i aromatična jedinjenja koji povećavaju atraktivnost ploda.

Tokom **rastanja ploda** dolazi do povećanja veličine ploda. S obzirom da plodovi rastu velikom brzinom i da se u njima dešavaju intenzivni metabolički procesi, potrebe plodova za gradivnim materijalom i izvorima energije su vrlo velike. Stoga, od faze početka zametanja ploda u biljci dolazi do preraspodele asimilata (produkata fotosinteze) i rezervnih materija između postojećih i novoformiranih organa biljaka. Prema modelu koji su razvili Heuvelink i Marcelis (1989) preraspodela asimilata zavisi od privlačne snage prema asimilatima pojedinih organa. Ukoliko su asimilati u biljci prisutni u količini jednakoj privlačnoj snazi za asimilatima organa tada će nivo rasta tog organa biti jednak sa njegovim potencijalom. Međutim, ukoliko količina slobodnih asimilata u biljci ne može da podmiri privlačne snage prema asimilatima svih organa u biljci tada dolazi do distribucije asimilata između listova, korena, stabla i ploda prema pojedinačnoj privlačnoj snazi pojedinog organa.

Kada se sočni plodovi potpuno formiraju i porastu, oni su morfološki završili razviće ali se ne mogu opisati kao sazreli. Tek pošto potpuno formiran plod prođe niz intenzivnih kvalitativnih, pretežno biohemijskih promena koje su označene kao **sazrevanje** može se označiti kao zreo. U zavisnosti od načina raznošenja semena sazrevanjem se može formirati suv plod i tada se seme rasejava mehaničkim putem ili se sazrevanjem formiraju sočni plodovi koji imaju za cilj da privuku životinje te da se na taj način izvrši rasejavanje semena. S tim u vezi kod sočnih plodova uočavaju se promene u boji, ukusu, aromi i teksturi a zreo plod postaje značajan izvor dijetetskih vlakana, minerala, vitamina i drugih materija neophodnih i ishrani ljudi i životinja. Sazrevanje je aktivan, genetički uslovljen proces a njegova kontrola se vrši fitohormonima. Plod paprike spada u grupu plodova koja tokom završnih stadijuma dozrevanja ima ujednačen intenzitet disanja pa spada u grupu sa takozvanim ne-klimakteričnim sazrevanjem.

Da bi se razvile osobine zrelih plodova neophodna je aktivacija mnogih biohemijskih procesa u kojima se koristi energija disanja ploda. Najuočljivija promena ploda tokom sazrevanja je promena pigmentacije odnosno boje ploda. Promena boje može da nastane usled razgradnje hlorofila pri čemu dolazi do izražaja postojeće žuta boja ploda (banana), ili usled sinteze novih pigmenata (antocijana, karotenoida). Takođe je bitna sinteza aromatičnih jedinjenja koji daju atraktivan ukus i aromu, i razgradnja tanina i drugih gorkih i oporih sastojaka. Takođe, tokom zrenja se pojačava aktivnost hidrolitičkih enzima. S tim u vezi, nezreli plodovi često sadrže veće količine skroba koji umerenom razgradnjom daje energiju neophodnu za disanje, dok se pri kraju zrenja povećanjem aktivnosti hidrolitičkih enzima u zrelih

plodovima skrob hidrolizuje u glukozu. Kod plodova nekih biljaka kao na primer kod dinje pored navedenih procesa bitni su biohemijski procesi kojima se razmekšava plod. Razmekšavanje plodova je posledica povećanja aktivnosti hidrolitičkih enzima koji razgrađuju čvrsti ćelijski zid posle čega plod postaje mek i sočan (Nešković et al., 2003).

Kako su plodovi biljaka bitni u ljudskoj ishrani, a tako i plod paprike, veliki naponi se ulažu u poznavanje procesa koji se odvijaju tokom zrenja. Poznavanje procesa zrenja ima za cilj upravljanje ovim procesima kako bi se dobili plodovi sa poboljšanim organoleptičkim svojstvima kao što su ukus, aroma i boja. Poslednjih godina oplemenjivanjem i selekcijom pored uticaja na izgled i ukus ploda, posebna pažnja se posvećuje i vitaminima, mineralima i drugim komponentama koje imaju uticaja na ljudsko zdravlje.

Potpuno zreo plod koji je zdrav, jarko obojen, sočan, prijatnog mirisa i ukusa sa znatnim sadržajem korisnih mineralnih i organskih materija značajnim za krajnjeg korisnika, ispunjava svoju ulogu povećavajući verovatnoću za uspešno rasejavanje semena. Kod ploda paprike, a naročito ploda začinske paprike boja je jedan od najbitnijih pokazatelja zrelosti i kvaliteta. Pošto boja paprike potiče od karotenoida u daljem tekstu posvetiće im se naročita pažnja.

## 2.2. Karotenoidi

### 2.2.1. Nalaženje u prirodi

Najuočljiviji primer pojavljivanja karotenoida u prirodi je žuto-narandžasta boja cvetova (naprimer suncokreta), narandžasto-crvena boja plodova (paradajz, narandža) i narandžasta boja korena mrkve. Međutim, najintenzivnija sinteza karotenoida odvija se u fotosintetičkim tkivima biljaka i algi. U pomenutim tkivima karotenoidi ulaze u sastav fotosintetičkog aparata mada je njihovo prisustvo maskirano zelenom bojom hlorofila. Prisustvo karotenoida u fotosintetičkom aparatu zapaža se kada dođe do degradacije hlorofila, što se dešava na jesen. Naime, na jesen nakon degradacije hlorofila lišće gubi zelenu boju a dobija žuto-braon boju koja vodi poreklo od karotenoida koji su ostali u hloroplastima listova. Godišnja produkcija karotenoida u prirodi je procenjena na oko 100 miliona tona (Britton et al., 1995). Za karotenoide se podrazumeva da su biljni pigmenti, ali se oni takođe mogu naći i u mikroorganizmima i životinjama. Pored univerzalnog nalaženja karotenoida u fotosintetičkom aparatu fototrofnih bakterija, karotenoidi su takođe odgovorni i za žutu, narandžastu ili crvenu boju kod nefototrofnih bakterija, plesni i kvasaca.

Do sad nije pokazano da su životinje u stanju da sintetišu karotenoide, pa ipak boja mnogih životinja vodi poreklo od karotenoida koji su uneti hranom. Neki vrlo uočljivi primeri su: perje nekih vrsta ptica (ketokarotenoidi koji daju bledocrvenu boju perju flaminga), zatim koža i meso nekih riba (astaksantin kod zlatne ribice i lososa). Kod morskih beskičmenjaka, boja često potiče od kompleksa karotenoida i proteina u kojoj narandžasto-crvena boja slobodnih karotenoida, najčešće astaksantina se modifikuje u plavu, purpurnu ili zelenu boju. Zbog toga je jastog plav dok je živ a postaje crven posle kuvanja pošto se astaksantin oslobađa od proteina, koji se kuvanjem denaturišu.

## 2.2.2. Uloga karotenoida u fotosintezi

Karotenoidi se nalaze u svim fotosintetički aktivnim organizmima osim u mutiranim organizmima koji ne stvaraju karotenoide ali oni nisu sposobni za život van laboratorije (Frank i Cogdell, 1996). Fotosinteza je jedini biološki proces pomoću kojeg se iskorištava sunčeva energija i transformiše u hemijski. Tokom procesa fotosinteze, biljke zahvaljujući pigmentima među kojima su i karotenoidi, koriste sunčevu energiju za fotolizu vode, pri čemu se oslobađa kiseonik, i prevodi ugljenik iz CO<sub>2</sub> u mnoga organska jedinjenja.

Zbog velikog značaja, proces fotosinteze je intenzivno proučavan i mada predstavlja neraskidivu celinu, u cilju njegovog boljeg razumevanja podeljen je na dva dela: svetlu i tamnu fazu. Svetla faza fotosinteze je preduslov za tamnu fazu fotosinteze i za njeno odvijanje je neophodna je sunčeva svetlost. Tokom svetle faze fotosinteze dolazi do apsorpcije svetlosti, fotolize vode i oslobađanja O<sub>2</sub>, stvaranja redukcionih ekvivalenata NADPH i sinteze ATP. Tamna faza fotosinteze podrazumeva vezivanje i redukciju CO<sub>2</sub> uz potrošnju produkata svetle faze fotosinteze. Karotenoidi imaju značajnu ulogu u svetloj fazi fotosinteze pa će se u daljem tekstu posebna pažnja obratiti na ulogu karotenoida u ovoj fazi fotosinteze.

### 2.2.2.1. Plastidi

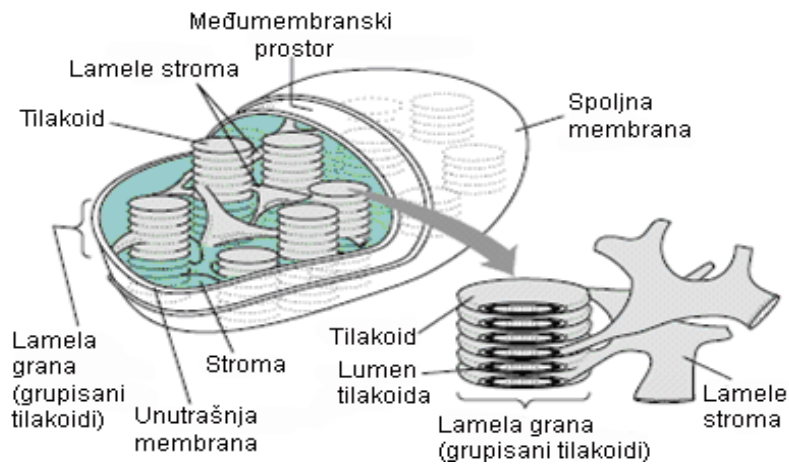
Fotosintetski najaktivnije tkivo je mezofil potpuno razvijenih listova. Proces fotosinteze dešava se u ćelijskoj organeli iz grupe plastida čija je karakteristika dvostruka ćelijska membrana. Na osnovu aktivnosti plastida i njihove pigmentacije razlikuju se četiri tipa: proplastidi, hloroplasti, hromoplasti i leukoplasti. Plastidi imaju sopstvenu DNK koja se ne menja tokom polnog razmnožavanja biljke, međutim prema najnovijim istraživanjima za funkcionisanje plastida neophodni su i proteini koji nastaju u protoplazmi a kodirani su jedarnom DNK.

Proplastid predstavlja organelu koja će daljom transformacijom dati hloroplast, hromoplast ili leukoplast. Najvažniji plastid je hloroplast jer je jedino on fotosintetski aktivan, sadrži hlorofil koji je zelene boje a pored hlorofila i druge pigmente. Hromoplasti su fotosintetski neaktivne organele koje sadrže veću količinu karotenoida pa su zbog toga žute, narandžaste ili crvene boje. Za razliku od hloroplasta i hromoplasta koji sadrže karotenoide, leukoplasti su ćelijske organele koje su bezbojne a karakteristika im je nakupljanje produkata fotosinteze. Pored razlike u sadržaju pigmenta plastidi se razlikuju i u unutrašnjoj strukturi. Da li će se od proplastida razviti hloroplast, hromoplast ili leukoplast zavisi od tkiva u kom se ćelija nalazi.

Ako se na primer, proplastid nalazi u mezofilu lista gde ima svetlosti najverovatnije će se od njega razviti hloroplast a ako se nalazi u krtoli krompira bezbojni leukoplast. Takođe, u određenim uslovima moguć je prelazak jednog oblika plastida u drugi. Tako na primer, prilikom sazrevanja nekih plodova dolazi do transformacije hloroplasta u hromoplast, što podrazumeva unutrašnju reorganizaciju, razgradnju hlorofila i sintezu i nakupljanje veće količine karotenoida. Ova transformacija utiče i na izgled ploda pa umesto zelene plod može postati žut, narandžast ili crven. Pored ove najtipičnije transformacije plastida moguće su i druge na primer, koren mrkve je bogat hromoplastima koji su narandžaste boje, međutim ako se vrh korena izloži svetlosti hromoplasti se transformišu u hloroplaste što ima za posledicu promenu boje vrha korena mrkve.

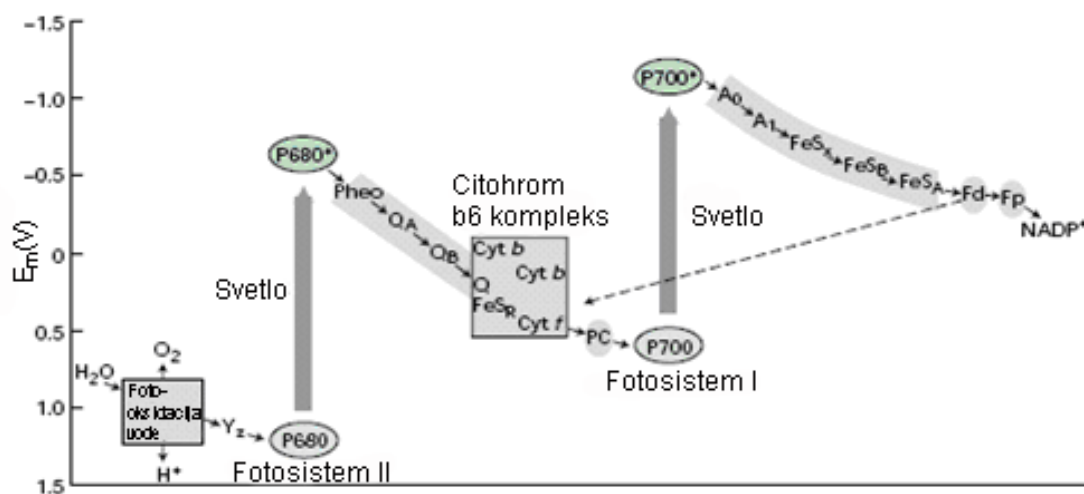
### 2.2.2.2. Fotosistemi I i II

Svetla faza fotosinteze u kojoj učestvuju i karotenoidi odvija se u unutrašnjim membranama hloroplasta, dok se tamna faza fotosinteze dešava u stromi – međumembranskom prostoru hloroplasta (slika 1).



Slika 1. Shematski prikaz organizacije membrana hloroplasta (Becker, 1986)

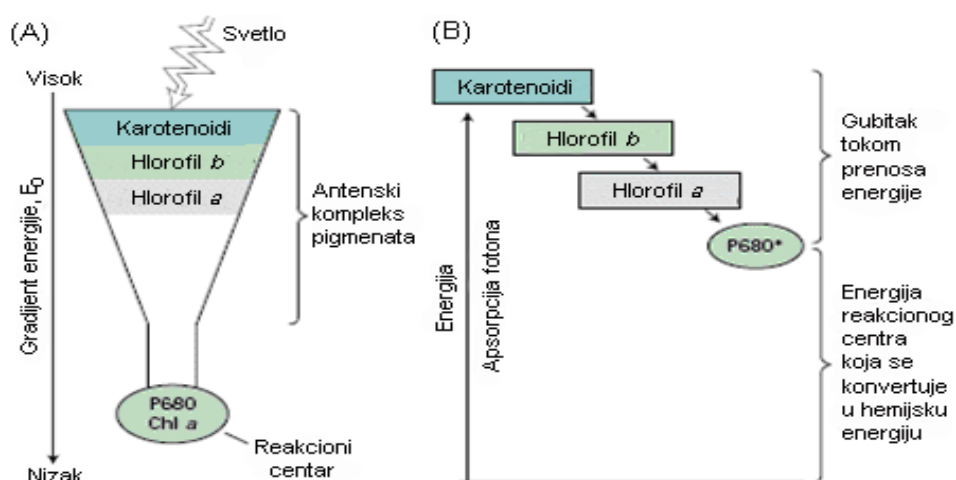
Pod fotosintetičkom jedinicom se podrazumeva najmanji pigment-protein kompleks koji je sposoban da obavi fotosintezu. Struktura ovakve jedinice je veoma složena i sastoji se iz fotosistema I i II i elektron transportnog lanca (slika 2).



Slika 2. Shema fotosintetske jedinice.

Uloga fotosistema je apsorpcija sunčeve energije i njen transport do reakcionih centara koga čine molekuli hlorofila *a* koji ima maksimum apsorpcije na 698-703 nm. Energija koja stigne do reakcionog centra pobudi molekuli hlorofila čiji elektronski parovi prelaze na viši energetski nivo. Povratak na osnovno energetsko stanje vrši se postepeno pri čemu dolazi do transformacije svetlosne energije u hemijsku.

Karotenoidi u procesu fotosinteze imaju vrlo važnu ulogu prilikom apsorpcije svetlosti. Naime, sastav fotosistema čine više stotina molekula hlorofila i karotenoida čija je uloga apsorpcija svetlosti i transfer energije ka reakcionim sistemima (van Grondelle et al., 1994; Pullerits i Sundström, 1996). Ovi kompleksi se još nazivaju i antenski kompleksi (slika 3, A).

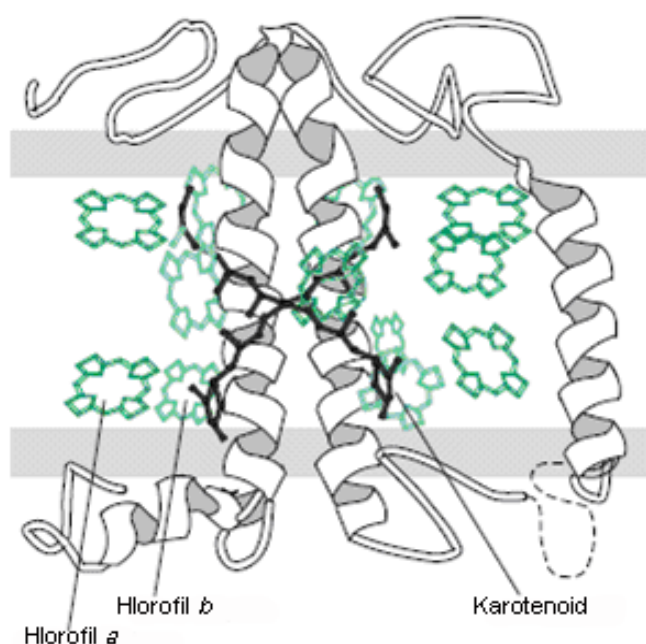


**Slika 3. Uloga i položaj karotenoida u apsorpciji svetlosti kod fotosistema II (A), gubitak energije prilikom prenosa energije kroz pigmente antenskog kompleksa (B).**

Uočena je velika razlika u građi antenskih kompleksa kod različitih fotosintetskih organizama dok je građa reakcionih centara vrlo slična. Razlike u građi antenskih kompleksa predstavljaju evolucionu adaptaciju na različita staništa u kojim fotosintetski organizmi žive a kao potreba za uravnoteženjem energije koja stiže do reakcionih centara (Grossman et al., 1995). Izgled antenskog kompleksa kod viših biljaka određen kombinacijom elektronske mikroskopije i elektronske kristalografije prikazan je na slici 4 (Kühlbrandt et al., 1994). Sa slike se može uočiti da su karotenoidi, pored hlorofila sastavni deo antenskog kompleksa.

Pretpostavlja se da je mehanizam kojim se energija prenosi od pigmenta koji apsorbuju svetlost kroz pigmente antene do molekula hlorofila *a* u reakcionom centru – rezonantni prenos ili Förster-ov transfer. Tokom ovog procesa ne dolazi do emisije fotona od strane molekula pigmenta i njegove ponovne apsorpcije od sledećeg molekula već se energija prenosi s molekula na molekul rezonantnim putem. Efikasnost ovakvog transporta energije zavisi od rastojanja, položaja i frekvencija pigmenta u antenskim kompleksima. Kao rezultat ovakvog prenosa energije 95-99% fotona koje apsorbuje antenski kompleks prenosi svoju energiju na reakcioni centar gde se koristi za fotohemijske procese.

Energija koja se apsorbuje u pigmentima antenskog kompleksa prenosi se do reakcionog centra nizom molekula pigmenata od kojih se svakom sledećem pigmentu maksimum apsorpcije pomera ka crvenim talasima većih talasnih dužina (Slika 3, B). Ovaj prenos energije ka molekulima sa većim talasnim dužinama ima za posledicu smanjenje energije ekscitacije kako se približava reakcionom centru. Tako na primer, ako se energija prenese sa hlorofila *b* (650 nm) na hlorofil *a* (670 nm) razlika u energiji se oslobađa kao toplota. Da bi se ponovo pobudio hlorofil *b* više nije dovoljna samo energija pobuđenog molekula već i ekstra energija. Stoga se može zaključiti da ovakav transport energije ima još jednu osobinu – nepovratni transfer ka reakcionom centru.



Slika 4. Položaj karotenoida u antenskom kompleksu viših biljaka.

### 2.2.3. Zaštitna uloga karotenoida

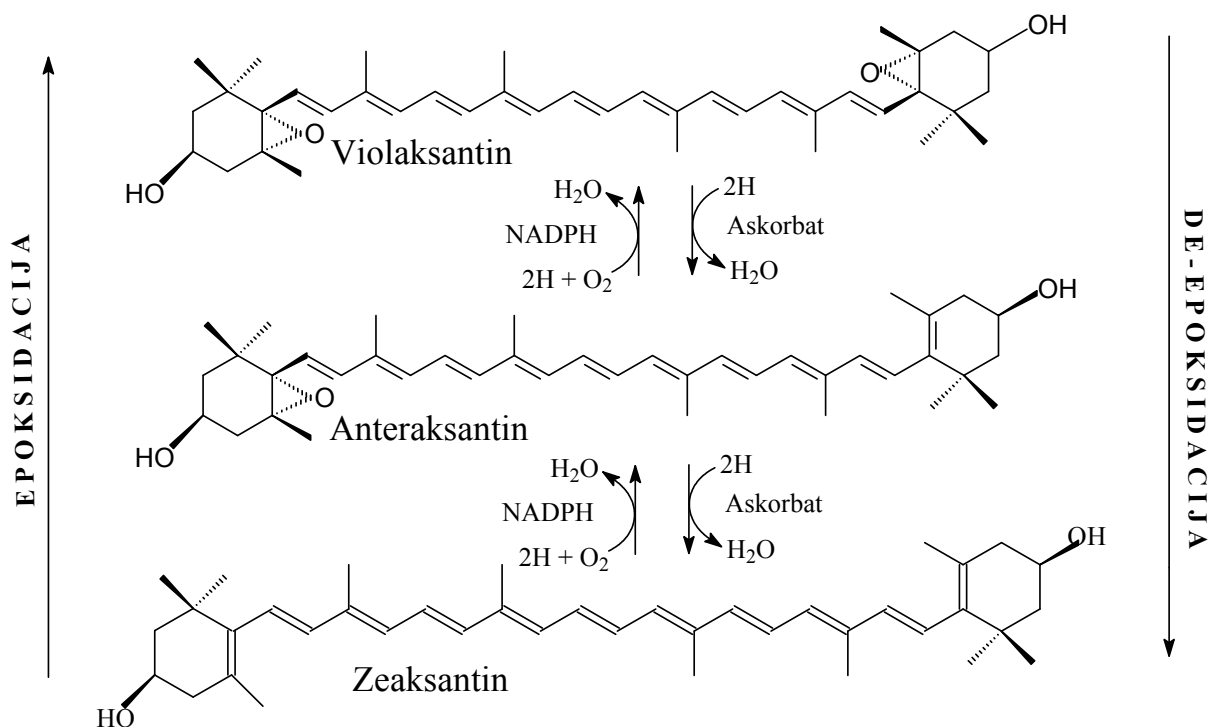
Pored uloge koju karotenoidi imaju u procesu fotosinteze, a koja podrazumeva apsorpciju i transport energije, karotenoidi imaju i zaštitnu ulogu. Zaštitna uloga karotenoida se odvija pomoću dva mehanizma. Prvi mehanizam podrazumeva vraćanje molekula hlorofila u osnovno stanje a drugi regulisanje količine energije koja će od antenskog kompleksa stići do molekula hlorofila.

Fotosintetski aktivna membrana hloroplasta može se lako oštetiti ukoliko na nju padne velika količina svetlosti. Stoga se fotoprotektivni mehanizam može poistovetiti sa sigurnosnim ventilom koji se otvara pre nego što dođe do oštećenja fotosintetičkog tkiva. Kada se energija koja je hlorofil dovela u pobuđeno stanje naglo potroši (bilo upotrebom energije za fotohemijske procese ili oslobađanjem putem ekscitacije) kaže se da se molekul vratio u



osnovno stanje. Ukoliko molekul hlorofila ne potroši energiju koja ga je dovela do pobuđenog stanja a do molekula hlorofila stigne nova količina svetlosne energije postoji mogućnost da hlorofil reaguje sa molekulskim kiseonikom formirajući pobuđeno stanje kiseonika poznato kao singlet stanje kiseonika ( $^1O_2^*$ ). Ovaj oblik kiseonika je izuzetno reaktivan i može da ošteti ćeliju i jedinjenja u njoj, a naročito lipide. Karotenoidi pokazuju svoje fotoprotektivno dejstvo vraćajući hlorofil u osnovno stanje pri čemu oni prelaze u pobuđeno stanje. Pobuđeni molekuli karotenoida nemaju dovoljno energije za formiranje singlet kiseonika pa dalje gube energiju kao toplotu. Stoga mutanti kukuruza koji ne sadrže hlorofil mogu da opstanu samo pri slabom svetlu dok mutanti algi koji nemaju mogućnost sinteze karotenoida mogu da prežive samo u anaerobnim uslovima.

U drugi proces zaštite uključeni su ksantofili: violaksantin, anteraksantin i zeaksantin. Ovi ksantofili mogu da se transformišu jedan u drugi pomoću enzima epoksidaze i deepoksidaze koji su prisutni u hloroplastu. Ukoliko do antenskog kompleksa stiže velika količina svetla pospešuje se aktivnost deepoksidaze i u hloroplastu se može uočiti prisustvo veće količine zeaksantina i obrnuto u uslovima slabijeg osvetljenja pospešuje se aktivnost epoksidaze i u hloroplastu se može uočiti akumulacija anteraksantina (slika 5).



Slika 5. Šematski prikaz drugog zaštitnog dejstva karotenoida

Povećano prisustvo zeaksantina u odnosu na violaksantin pokazuje da se sistem nalazi u pobuđenom stanju a prisustvo violaksantina da je u nepobuđenom stanju. Još uvek nije

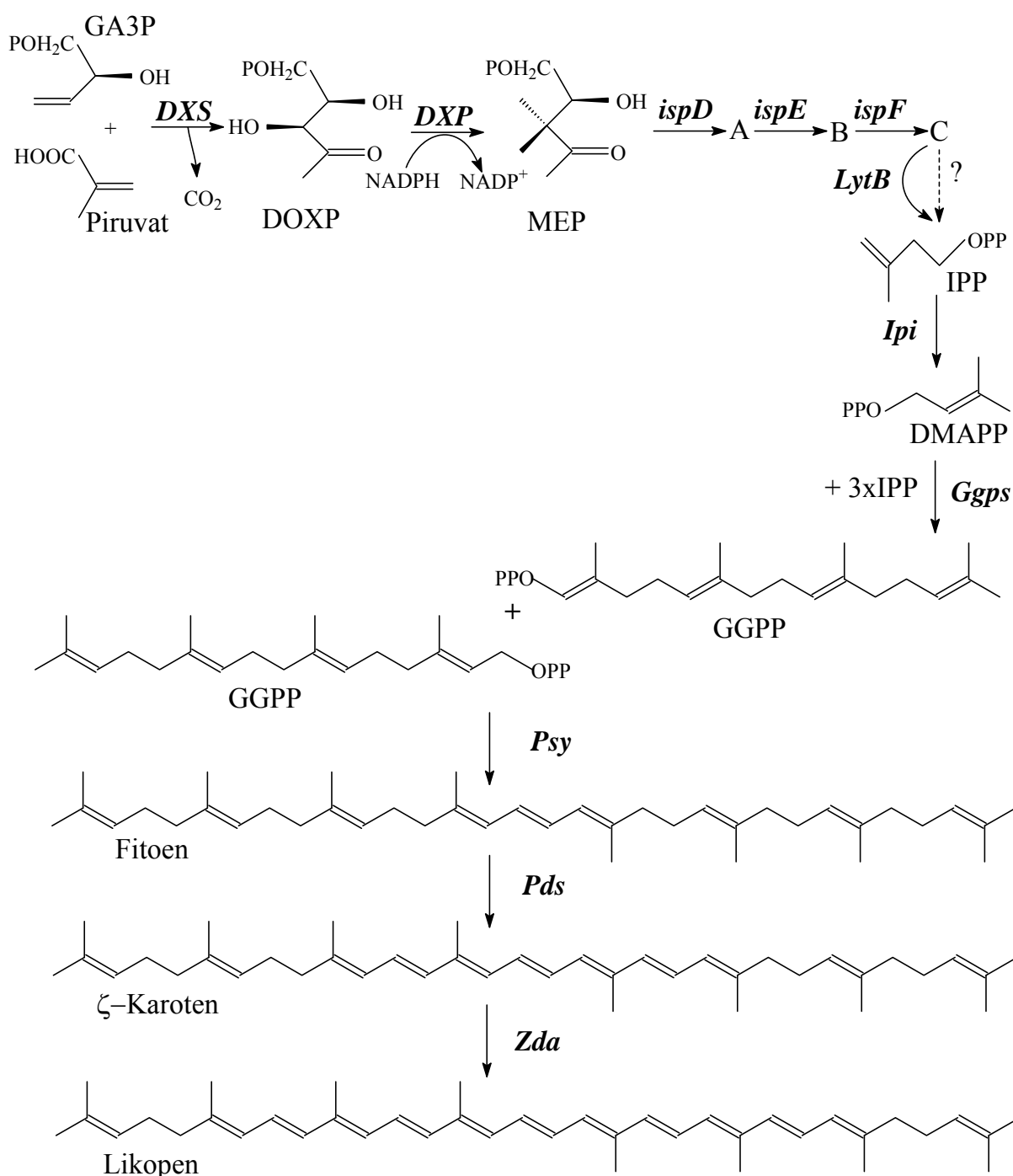
jasno da li su karotenoidi direktno uključeni u ovaj proces (Demming-Adams i Adams, 1992; Pfündel i Bilger, 1994; Horton et al., 1996)

## 2.2.4. Biosinteza karotenoida

Biosinteza karotenoida je već ranije detaljno opisana (Hirschberg, 2001, Tepić, 2005) te će se ovde prikazati samo najnovija saznanja vezana za biosintezu karotenoida u paprici.

Pošto su enzimi koji učestvuju u biosintezi karotenoida izuzetno nestabilni pomenuti proces nije moguće objasniti korišćenjem klasičnih biohemijskih metoda. Zato je za objašnjenje biosinteze karotenoida bio neophodan interdisciplinarni pristup koji je podrazumevao uključivanje molekularne biologije (Hirschberg, 2001). Biosinteza karotenoida u biljkama se odvija u plastidima pomoću enzima koji su kodirani jedarnom DNK.

Šematski prikaz biosinteze karotenoida prikazan je na slikama 6, 7, 8 i 9 (Hirschberg, 2001). Kao i svi drugi izoprenoidi i karotenoidi su izgrađeni iz „aktivne“ izoprenske jedinice izopentenil-difosfata (IPP). Za razliku od većine izoprenoida karotenoidi ne nastaju putem mevalonske kiseline već tzv. GAP/piruvat putem, koji se kod viših biljaka odvija isključivo u plastidima. U plastidima, izopentenil-difosfat nastaje preko 1-deoksiksiluloza-5-fosfatnog (DOXP) puta iz piruvata i gliceralhid-3-fosfata (GA3P) (Lichtenthaler et al., 1997; Lichtenthaler et al., 1997) (Slika 6). Prvi enzim koji učestvuje u izgradnji izopentenil-difosfata je 1-deoksiksiluloza-5-fosfatsintetaza (DXS). Gen za sintezu ovog enzima pronađen je u paprici (Bouvier et al., 1998a), menti (Lange i Croteau, 1999), paradajzu (Lois et al., 2000) i arabidopsisu (Araki et al., 2000). Kod mutanata arabidopsisa koji je osetljiv na niske temperature, sniženjem temperature umanjuje se aktivnost DXS enzima što ima za posledicu pojavu hloroze kod mladih listova dok stariji listovi ne trpe promene. Iz ovoga se može zaključiti da je aktivnost DXS enzima bitna u ranim fazama razvoja (Araki et al., 2000). Pretpostavlja se da bi DXS enzim mogao imati regulatornu ulogu u biosintezi karotenoida kod mladih plodova paradajza (Lois et al., 2000). DOXP (1-deoksiksiluloza-5-fosfat) se transformiše u 2C-metil-D-eritritol-2,4-ciklodifosfat preko 2C-metil-D-eritritol-4-fosfata (MEP), 4-difosfocitidil-2C-metil-D-eritritol-2-fosfata (DPME) i 4-difosfocitidil-2C-metil-D-eritritol-2-fosfata. Ove transformacije su katalisane enzimima 1-deoksiksiluloza-5-fosfatredukoizomeraze (DXR) (Schwender et al., 1999), 4-difosfocitidil-2C-metil-D-eritritol-2-fosfatsintetaze (*ispD* [ygbP]), 4-difosfocitidil-2C-metil-D-eritritol-2-fosfatkinaze (*ispE*) i 2C-metil-D-eritritol-2,4-ciklodifosfatsintetaze (*ispF*) (Eisenreich et al., 2001). Pretpostavlja se da enzim koji nastaje ekspresijom *LytB* gena katališe sledeću reakciju u nizu, koja utiče na odnos izopentenil-difosfata (IPP) i dimetilalil-difosfata (DMAPP) (Cunningham et al., 2000). Dejstvom enzima izopentenildifosfatizomeraze (koja je kodirana *lpi* genom) nastaje izomer izopentenil-difosfata (DMAPP). U biljkama postoje dva *lpi* gena a za jedan od njih se pretpostavlja da se nalazi u plastidima (Cunningham i Gantt, 1998). DMAPP reaguje sa IPP (elektrofilna adicija karbokatjona na IPP) pri čemu nastaje geranilpirofosfat (GPP) koji vezuje sledeći molekul IPP dajući C<sub>15</sub> derivat farnezildifosfat (FPP). FPP se kondenzuje sa još jednim molekulom IPP pri čemu nastaje C<sub>20</sub> izoprenoid geranil-geranildifosfat.



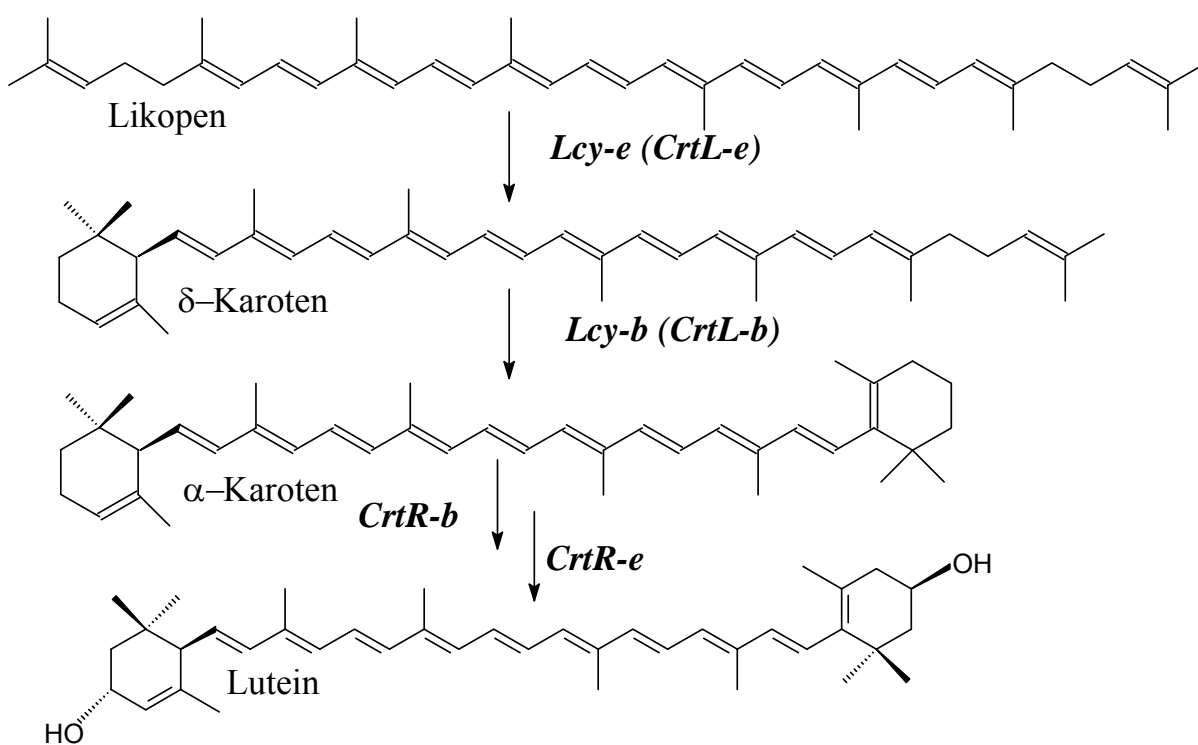
Slika 6. Biosinteza karotenoida. Biosinteza likopena. A – DPME; B – 4-difosfocitidil-2C-metil-D-eritritol-2-fosfat, C – 2C-metil-D-eritritol-2,4-ciklodifosfat.

Prvi korak posvećen isključivo biosintezi karotenoida je spajanje dva molekula geranilgeranildifosfata, dejstvom enzima fitoensintetaze (*Psy*) u jedan molekul 15-*cis* fitoena (Slika 6) (Camara, 1993). Fitoensintetaza je protein koji je po sastavu aminokiselina sličan geranilgeranildifosfatsintetazi i drugim prenilttransferazama. Kod paradajza postoje dva gena za fitoensintetazu: *Psy-1* čijom sintezom se dobija enzim koji se nalazi u cvetu i plodu i gen

*Psy-2* koji odgovoran za enzim koji se nalazi u zelenim delovima biljke (Bartley i Scolnik, 1993; Fraser et al., 1999). Fitoensintetaza je enzim koji limitira biosintezu karotenoida u plodovima paradajza (Bramley et al., 1992; Fraser et al., 1994), semenu uljane repice (Shewmaker et al., 1999) i cvetu nevena (Moehs et al., 2001). Ova limitirajuća osobina fitoen sintetaze (*Psy*) čini je ključnim regulatorom biosinteze karotenoida.

Dva strukturno i funkcionalno slična enzima, fitoendesaturaza (*Pds*) i ζ-karotendesaturaza (*Zda*) transformišu fitoen do likopena preko ζ-karotena (Slika 6.) Ovi enzimi (*Pds* i *Zda*) sadrže FAD i katališu dve simetrične dehidrogenacije koje zahtevaju prisustvo plastokinona (Mayer et al., 1992; Norris et al., 1995) i plastidne terminalne oksidaze kao akceptora elektrona (Carol i Kuntz, 2001).

Ciklizacija likopena predstavlja račvanje u biosintezi karotenoida: jedan put vodi ka sintezi α-karotena i luteina (Slika 7), dok druga faza vodi do karotenoida i njihovih derivata ksantofila (Slika 8).

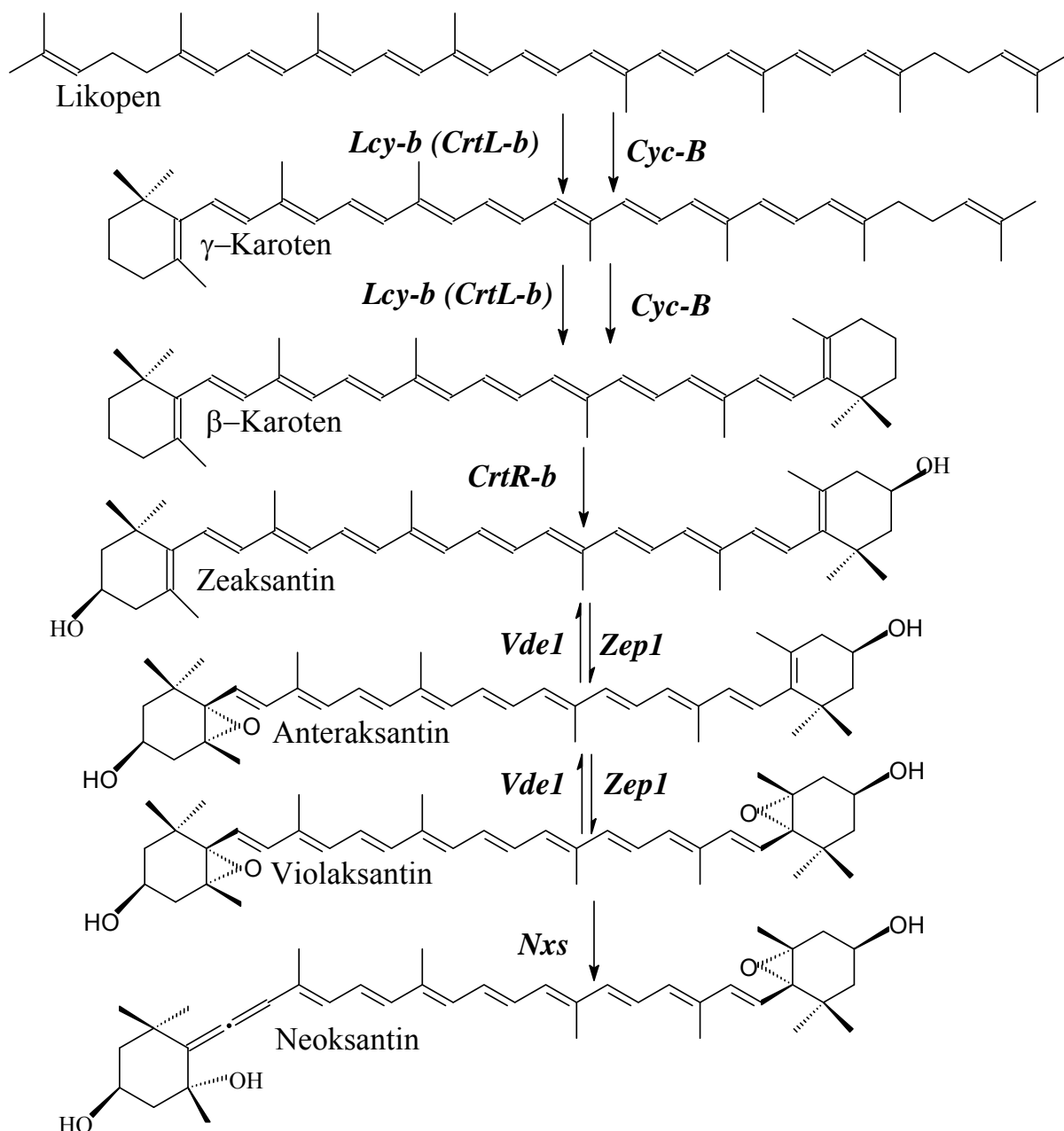


Slika 7. Biosinteza karotenoida. Put 1 – biosinteza δ-karotena, α-karotena i luteina.

Likopen β-ciklaza (*Lcy-b/CrtL-b*) katališe dvostepenu reakciju kojom se stvara po jedan β-prsten na oba kraja molekula likopena pri čemu se dobija β-karoten (Slika 8), dok dejstvom likopen ε-ciklaze (*Lcy-e/CrtL-e*) nastaje jedan ε-prsten pri čemu nastaje δ-karoten (Slika 7). Pretpostavlja se da α-karoten (β,ε-karoten) nastaje dejstvom oba enzima. Između enzima β-

ciklaze i  $\epsilon$ -ciklaze postoji velika strukturna sličnost a aminokiselinska sekvenca je 30% identična i to kako kod paradajza tako i kod arabidopsisa. Oba pomenuta enzima sadrže karakterističnu FAD/NAD(P)-vezujuću sekvencu aminokiselina. Kod paradajza postoje dva likopen  $\beta$ -ciklaza enzima, *Lcy-b* (*CrtL-b*) (Pecker et al., 1996) i *Cyc-b* (enzim karakterističan za hromoplaste) (Ronen et al., 2000) čije su amino sekvence 53% identične. *Lcy-b* enzim je aktivan u zelenim tkivima paradajza dok je *Cyc-b* aktivan samo u tkivima koja sadrže hromoplaste. Interesantno je napomenuti da je aminokiselinska sekvenca enzima *Cyc-b* sličnija (86,1% identična) sa kapsantin-kapsorubinsintetazom (*Ccs*), enzimom paprike koji prevodi anteraksantin i violaksantin u crvene ksantofile kapsantin i kapsorubin, nego *Lcy-b* (Bouvier et al., 1994). Mutacija kojom se odstranjuje *Ccs* gen ima za posledicu akumulaciju violaksantina koji je odgovoran za žutu boju plodova ovog mutanta (Lefebvre et al., 1998). Enzim *Ccs* pokazuje slabu likopen  $\beta$ -ciklaznu aktivnost kad se unese u *E. coli* (Hugueney et al., 1995). Sličnost u funkciji, strukturi i poziciji gena upućuju na zaključak da su geni *Ccs* i *Cyc-b* ortolozi koji su nastali duplikacijom gena pretka, najverovatnije *Lcy-b* (Ronen et al., 2000). Kod paradajza duplicirani gen zadržava originalnu katalitičku funkciju, dok ciklaza u plodu paprike tokom evolucije stiče novu enzimatsku aktivnost slične biohemijske prirode. Očuvanje aminokiselinske sekvence kao i sličnost u mehanizmu upućuju na zaključak da sve biljne ciklaze, uključujući tu i *Ccs* i verovatno neoksantin sintetazu, vode poreklo od istog gena, najverovatnije cijanobakterijskog *CrtL* (Hirschberg, 2001).

Hidroksilacija cikličnih karotenoida na 3C i 3'C pozicijama se odvija dejstvom dva tipa enzima: prvi su specifični za  $\beta$ -prsten a drugi za  $\epsilon$ -prsten (Sun et al., 1996; Pogson et al., 1996) (Slika 8).  $\beta$ -karotenhidroksilaze su feredoksin zavisne i zahtevaju gvožđe, slično enzimima koji oksidišu ugljene hidrate (Bouvier et al., 1998b).  $\beta$ -karoten se transformiše u zeaksantin preko  $\beta$ -kriptoksantina dejstvom pomenutih enzima. Postoje dve  $\beta$ -karotenhidroksilaze kako u arabidopsisu tako i u paradajzu (Bouvier et al., 1998b). Kod paradajza transkripcija jedne hidroksilaze se odvija u zelenim tkivima, dok se druga isključivo nalazi u cvetu paradajza. Gen odgovoran za transkripciju  $\epsilon$ -prstena nije još pronađen. *Zep1* (ABA2) prevodi zeaksantin u violaksantin preko anteraksantina uvodeći 5,6-epoksi grupe u 3-hidroksi- $\beta$ -prsten u reakciji koja zahteva redukovani feredoksin (Bouvier et al., 1996). *Zep1* je kloniran iz *Nicotiana plumbaginifolia* (Marin et al., 1996) i paprike (Bouvier et al., 1996). U listovima, violaksantin se može transformisati ponovo u zeaksantin dejstvom enzima violaksantindeepoksidaze (*Vde*), enzima koga aktivira niska vrednost pH, koja se stvara u hloroplastima dejstvom jakog svetla. Zeaksantin je efikasan u termalnom rasipanju suvišne energije u antenama fotosistema I i II i stoga ima važnu ulogu u zaštiti fotosistema od oštećenja intenzivnim svetlom. Unutrašnja konverzija zeaksantina i violaksantina je poznata kao "ksantofilni krug". Nedostatak ksantofilnog kruga kod mutanata Arabidopsisa ima za posledicu povećanu osetljivost biljaka prema intenzivnom svetlu (Niyogi et al., 1998). Aminosekvencu *Zep* i *Vde* enzima ukazuje da oni spadaju u lipokaline, grupu proteina koja vezuje i transportuje male hidrofobne molekule (Hieber et al., 2000). Aktivnošću neoksantinsintetaze (*Nxs*) od violaksantina nastaje neoksantin.



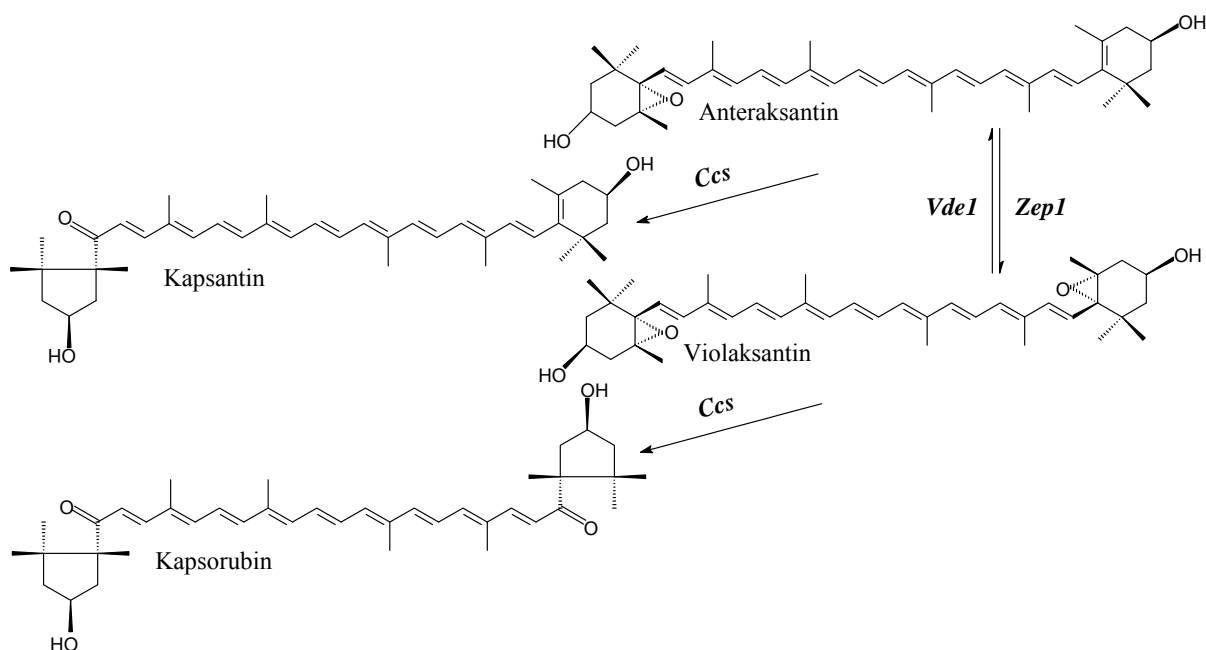
Slika 8. Biosinteza karotenoida. Put 2 – biosinteza anteraksantina i violaksantina.

Aktivnošću homologa enzima *Ccy-b*, kapsantin-kapsorubinsintetaze (*Ccs*) nastaju dva crvena karotenoida, kapsantin i kapsorubin koji su karakteristični samo za plod paprike (Slika 9).

### 2.2.4.1. Regulacija biosinteze karotenoida u hromoplastima

Karotenogeneza u plodovima i cvetovima je kontrolisana mehanizmima koji su odvojeni od mehanizama koji su zaduženi za biosintezu karotenoida u zelenim tkivima biljaka (Thelander et al., 1986). Sastav karotenoida u zelenim plodovima je sličan sastavu karotenoida zelenih

listova. Međutim, kad počne pojava boje ploda karakteristične za zreo plod, dešavaju se promene, i dolazi do: povećane sinteze karotenoida i do povećane sinteze enzima zaduženih za biosintezu karotenoida. Tokom ranog razvoja ploda paradajza uočena je povećana ekspresija gena zaduženih za biosintezu enzima koji učestvuju u biosintezi izoprenoida (Marin et al., 1996; Josse et al., 2000). U vreme pojave crvene boje ploda paradajza koncentracija mRNA koja je zadužena za transkripciju enzima *Psy* i *Pds* povećava se 10-20 puta (Pecker et al., 1992; Giuliano et al., 1993; Bramley, 1997; Ronen et al., 1999). U isto vreme mRNA obe likopen ciklaze *Lcy-b* (*CrtL-b*) i *Lcy-e* (*CrtL-e*) nestaju (Pecker et al., 1996; Ronen et al., 1999). Pretpostavka da se zbog različite ekspresije gena tokom zrenja paradajza nakuplja likopen u plodu dalje je potvrđena akumuliranjem  $\delta$ -karotena kod biljaka *Delta* mutanata što ima za posledicu povećanu transkripciju *CrtL-e* (*Lcy-e*) (Ronen et al., 1999) i sintezom  $\beta$ -karotena i plodovima *B* mutanata što je izazvano regulacijom drugog likopen  $\beta$ -ciklaza gena, *Cyc-b* (*B*) (Ronen et al., 2000). Slična regulacija ekspresije gena tokom zrenja plodova uočena je kod paprike (Kuntz et al., 1992; Römer et al., 1993; Bouvier et al., 1996; Bouvier et al., 1998a), lubenice (Aggelis et al., 1997) i mandarine (Ikoma et al., 2001). Ekspresija gena zaduženih za karotenogenezu kod plodova paprike se povećava dejstvom oksidativnog stresa, koji olakšava sintezu karotenoida tokom diferencijacije hromoplasta (Hugueney et al., 1996; Bouvier et al., 1998c).



Slika 9. Biosinteza kapsantina i kapsorubina dejstvom enzima kapsantin-kapsorubinsintetaze (CCS).

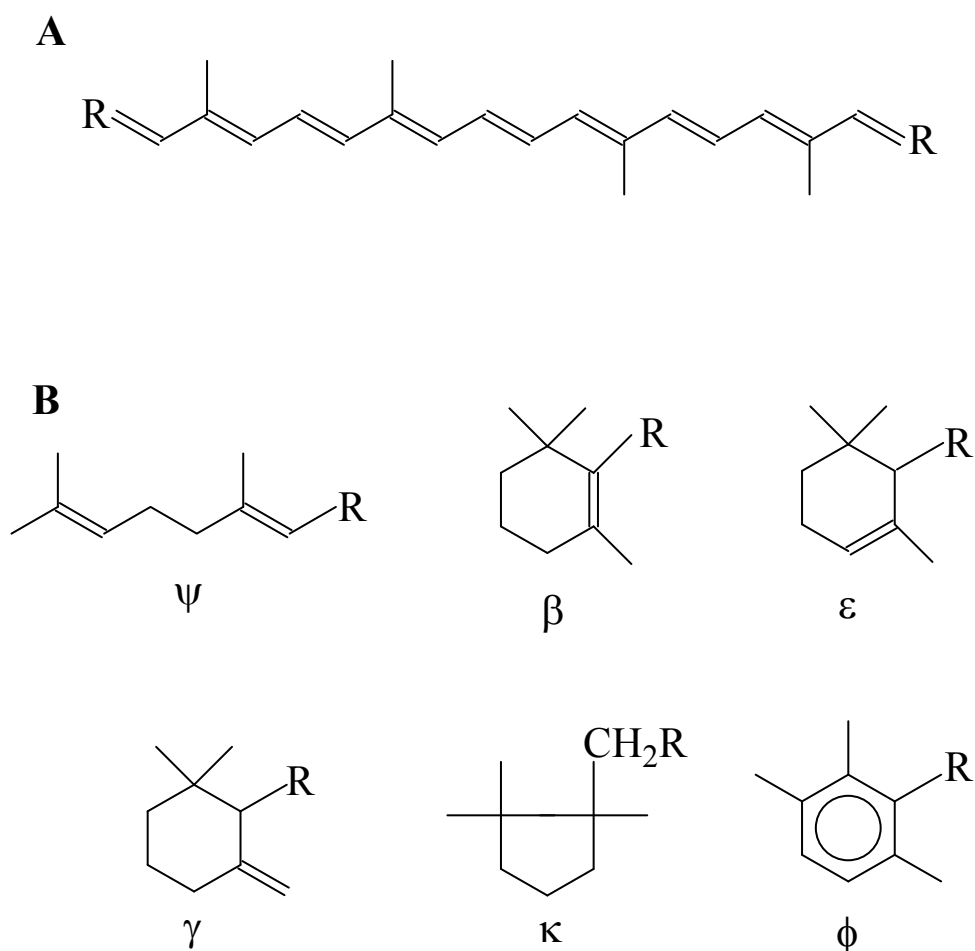
## 2.2.5. Osobine karotenoida

Karotenoidi kao grupa jedinjenja su izuzetno hidrofobne supstance, koje se vrlo teško ili uopšte ne rastvaraju u vodi. Stoga, očekuje se da će se hidrofobni karotenoidi nalaziti u

hidrofobnim delovima ćelije kao što su unutrašnji delovi membrana. Od pomenutog pravila izuzetak predstavljaju karotenoidi vezani za proteine koji se mogu naći u vodenoj sredini.

Najuočljivija i karakteristična osobina strukture karotenoida je dugački niz jednostrukih i dvostrukih veza koje čine centralni deo molekule karotenoida. Pomenuti niz čini konjugovani sistem u kom je  $\pi$ -elektronima omogućeno da se delokalizuju duž celog polienskog lanca. Ova osobina daje molekulima karotenoida karakterističan oblik, hemijske osobine i sposobnost apsorpcije svetla. Pojednostavljeno posmatrano, strukturu karotenoida čini polienski lanac od 16 C atoma koji sa obe strane ima ciklične ili aciklične nastavke (Slika 10).

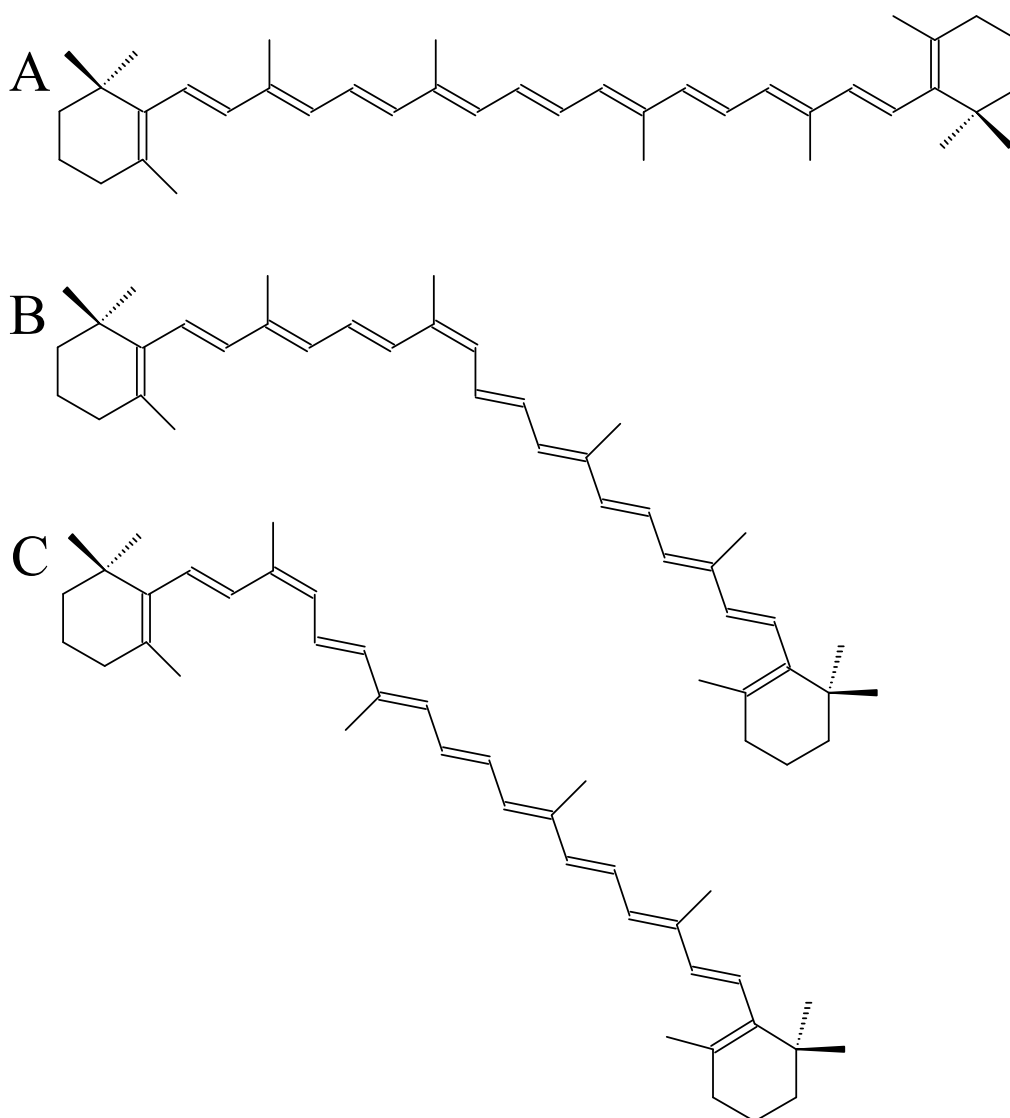
Polienski lanac je pored nabrojanih osobina uzrok nestabilnosti karotenoida pod kojim se podrazumeva mogućnost oksidacije i geometrijska izomerizacija. U teoriji, svaka dvostruka veza u polienskom lancu može biti u dva geometrijska oblika *cis* i *trans*, a u kom obliku će biti zavisi od niza atoma koji se nalaze sa obe strane dvostruke veze. Izomerizacija bi u teoriji mogla da proizvede veliki broj mono-*cis* i poli-*cis* izomera. U stvarnosti mali broj *cis* izomera se može sresti u prirodi. Toplota, svetlost i kiseline potpomažu izomerizaciju iz uobičajene forme tzv. *trans*-konfiguracije u *cis*-konfiguraciju (Slika 11).



Slika 10. Osnovna struktura karotenoida. A-polienski lanac, B- neke krajnje grupe koje se mogu naći u karotenoidima, R-mesto spajanja krajnjih grupa i polienskog lanca.



Oksidacija, najčešći uzrok raspadanja karotenoida zavisi od pristupačnog kiseonika, vrste izloženih karotenoida i njihovog fizičkog stanja. Oksidacija se ubrzava svetlošću, toplotom, metalima, enzimima, i peroksidima, a inhibira se antioksidantima kao što su tokoferoli i askorbinska kiselina. Smatra se da su inicijalni produkti oksidacije epoksidi i apokarotenoidi (karotenoidi sa skraćenim lancem) (Hunter i Krakenberger 1947; El-Tinay i Chichester 1970; Ramakrishnan i Francis 1979; Marty i Berset 1988). Dalja fragmentacija ima za posledicu stvaranje serije niskomolekularnih jedinjenja slično kao kod jedinjenja dobijenih oksidacijom masnih kiselina. Uslovi koji su neophodni za izomerizaciju i oksidaciju karotenoida postoje prilikom pripreme i čuvanja hrane što ima za posledicu smanjenje sadržaja vitamina A i drugih bioloških sposobnosti. Degradacija karotenoida je povezana i sa razvojem nepoželjne promene arome u hrani kao na primer kod sušene mrkve i pahuljica od slatkog krompira (Falconer et al., 1964).



Slika 11. *Cis* izomerizacija  $\beta$ -karotenoida. A-  $\beta$ -karoten, B- 13-*cis*-  $\beta$ -karoten, C- 9-*cis*-  $\beta$ -karoten.

Hemijske i fizičke osobine karotenoida *in vivo* mogu se značajno modifikovati interakcijom sa drugim molekulima u okruženju, a takođe se mogu i značajno razlikovati od karotenoida rastvorenih u organskom rastvaraču. Ove interakcije sa drugim molekulima, naročito sa proteinima, mogu biti kritične za funkcionisanje ili ulogu molekula karotenoida *in vivo*, kao na primer u membranama.

## 2.2.6. Promene na karotenoidima tokom zrenja plodova

Promena sadržaja karotenoida tokom zrenja plodova je dobro opisana u literaturi i pokazuje različite puteve kod različitih plodova (Gross, 1987). Kod plodova čija osnovana boja potiče od antocijana, kao što je crvena ribizla (Gross, 1982/83), maslina (Mínguez-Mosquera i Garrido-Fernandez 1989) i jagoda (Woodward 1972; Gross 1982a) kao i kod plodova koji zadržavaju zelenu boju ploda kao na primer kivi (Gross 1982b) sadržaj karotenoida se smanjuje tokom zrenja. Sličan trend se uočava i kod plodova kod kojih boja karotenoida dolazi do izražaja usled degradacije hlorofila a primer ovakvog ploda je banana (Giami i Alu, 1994).

Kod nekih plodova sadržaj karotenoida se smanjuje do sredine vegetacije a od sredine vegetacije dolazi do sinteze novih karotenoida i povećanja njihove koncentracije. Ovakva promena je uočena kod kumkvata (*Citrus* sp.) (Huyskens et al., 1985), zatim kod sorti mandarina Dancy i Clementine (Gross, 1981) i kori hibridne mandarine (Farin et al., 1983).

Kod najvećeg broja plodova koji sadrže karotenoide zrenje je praćeno povećanjem biosinteze karotenoida na primer kod kruške (Katayama et al., 1971), manga (John et al., 1970 Mercadante i Rodriguez-Amaya, 1993), pomorandže (Rotstein et al., 1972), dinje (Reid et al., 1970), papaje (Wilberg i Rodriguez-Amaya, 1995), paprike (Rahman i Buckle, 1980; Mattus et al., 1991; Deli et al., 1992; Howard et al., 1994; Moya et al., 1994; Mínguez-Mosquera i Hornero-Méndez, 1994a), urme (Kon i Shimba, 1987; Homnava et al., 1991), soka mandarine (Gross, 1982c) i paradajza (Koskitalo i Ormrod, 1972; Raymundo et al., 1976). Sa prestankom sinteze hlorofila i prelaskom hloroplasta u hromoplaste, karotenoidi hloroplasta menjaju svoj sastav, sadržaj im se povećava, a naročito sadržaj dominantnih karotenoida. Biosinteza karotenoida koja uključuje enzim  $\epsilon$ -hidroksilazu (Slika 7) smanjuje intenzitet pa se količina karotenoida tipa  $\beta, \epsilon$  a naročito lutein smanjuje dok se istovremeno aktivira enzim  $\beta$ -hidroksilaza (Slika 8) što rezultira povećanjem sadržaja  $\beta, \beta$  tipa karotenoida.

### 2.2.6.1. Paprika

Kod crvene paprike tokom zrenja uočava se značajno povećanje u sadržaju crvenih pigmenata kapsantina i kapsorubina (Rahman i Buckle, 1980; Deli et al., 1992; Mínguez-Mosquera i Hornero-Méndez, 1994). Pored ova dva crvena karotenoida povećava se i sadržaj  $\beta$ -karotena i  $\beta$ -kriptoksantina. Na primer, u ispitivanjima u Australiji (Rahman i Buckle, 1980) su utvrdili, na tri crvene i jednoj žutoj sorti, da se sadržaj  $\beta$ -karotena u nezrelim plodovima paprike kretao od 0,4 do 8  $\mu\text{g/g}$  sveže materije, dok se u zrelih plodovima sadržaj  $\beta$ -karotena kretao od 16 do 108  $\mu\text{g/g}$  sveže materije. U pomenutom ispitivanju u nezrelim plodovima nije utvrđeno prisustvo  $\beta$ -kriptoksantina, dok se njegov sadržaj u zrelih plodovima kretao od 5 do 37  $\mu\text{g/g}$  sveže materije.

### 2.2.7. Promene na karotenoidima nakon ubiranja plodova

Karotenogeneza se može nastaviti i posle branja plodova pod uslovom da je plod ostao ceo i neoštećen. Afrički mango, ubran u zelenoj fazi, nastavlja zrenje na ambijentalnoj temperaturi koju prati povećanje sadržaja karotenoida (Aina, 1990). Podaci o tri sezone sa dva različita lokaliteta ukazuju i na bitan uticaj temperature (Thomas i Janave, 1975). Biosinteza karotenoida u plodu indijskog manga sorte „Alphonso“ je bila najintenzivnija na tropskim temperaturama od 28 do 32 °C. Čuvanje ovih plodova na temperaturama od 7 do 20 °C u periodu od 16 do 43 dana uslovljava je smanjenje u sadržaju karotenoida, čak i kada su plodovi kasnije izloženi optimalnim uslovima.

Sadržaj  $\beta$ -karotena u ljusci japanske urme se povećao sa 73 na 423  $\mu\text{g/g}$  dok se sadržaj  $\beta$ -kriptoksantina smanjio sa 53 na 21  $\mu\text{g/g}$  tokom skladištenja (Kon i Shimba, 1987). Sadržaj  $\beta$ -karotena u mesu ploda japanske urme se povećao sa 8,5 na 18,5  $\mu\text{g/g}$  a sadržaj  $\beta$ -kriptoksantina se smanjio sa 13,0 na 4,5  $\mu\text{g/g}$ . Takođe, u zrelih bundevama i tikvama čuvanim 70 dana na ambijentalnoj temperaturi sadržaj karotenoida se povećao (Pedrosa et al., 1983).

Crvene paprike, bez obzira na tretman zračenjem u cilju dezinfekcije, povećale su sadržaj karotenoida tokom čuvanja u trajanju od tri nedelje na temperaturi od 5 °C (Mitchell et al., 1990). Za razliku od paprike, indijski krompir je pokazao nepravilno ponašanje povećavajući sadržaj karotenoida na temperaturi od 4 °C i u opsegu temperatura od 25 do 30 °C dok se sadržaj karotenoida smanjio u rasponu temperatura od 15 do 20 °C (Bhushan i Thomas, 1990).

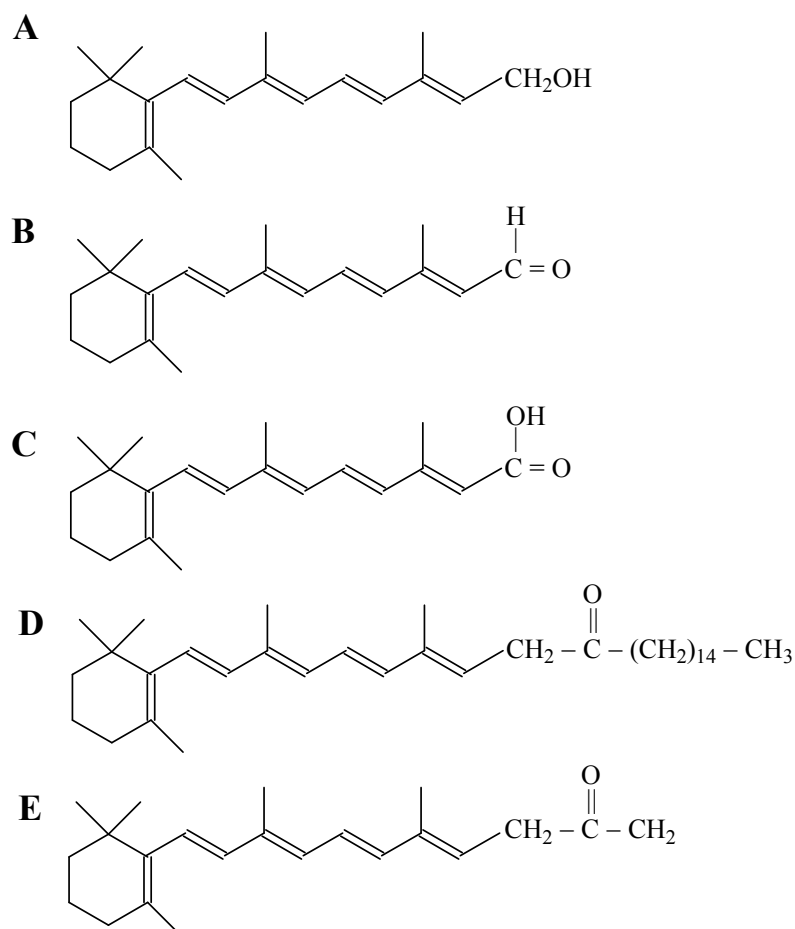
### 2.2.8. Značaj karotenoida u ljudskoj ishrani

Pored toga što daju boju hrani, karotenoidi imaju i druge funkcije. Jedna od tih uloga je da su oni provitamini vitamina A. Vitamin A je u ishrani zastupljen kao preformirani vitamin A (retinol, retinal, retinolna kiselina, retinol palmitat, retinol acetat i dr., Slika 12) i poreklom je iz hrane životinjskog porekla kao što su jetra, mleko, mlečni proizvodi, riba i meso ili kao karotenoidi koji se transformišu (provitamin A) u vitamin A i uglavnom su biljnog porekla. U svetu, oko 60% vitamina A koji se unese ishranom je poreklom od provitamina A (Simpson, 1983). Zbog visoke cene hrane životinjskog porekla u zemljama u razvoju udeo provitamina A iz biljaka u ishrani dostiže i 82%.

Prednost provitamina A je da se pretvara u vitamin A kada je to neophodno, te se tako izbegava mogućnost predoziranja vitaminom A. S druge strane mnogi faktori utiču na apsorpciju provitamina A, na primer prisutna količina, vrsta, oblik karotenoida u ishrani, količina masti u ishrani, vitamina E i dijetetskih vlakana, količina proteina i cinka, postojanje nekih bolesti itd.

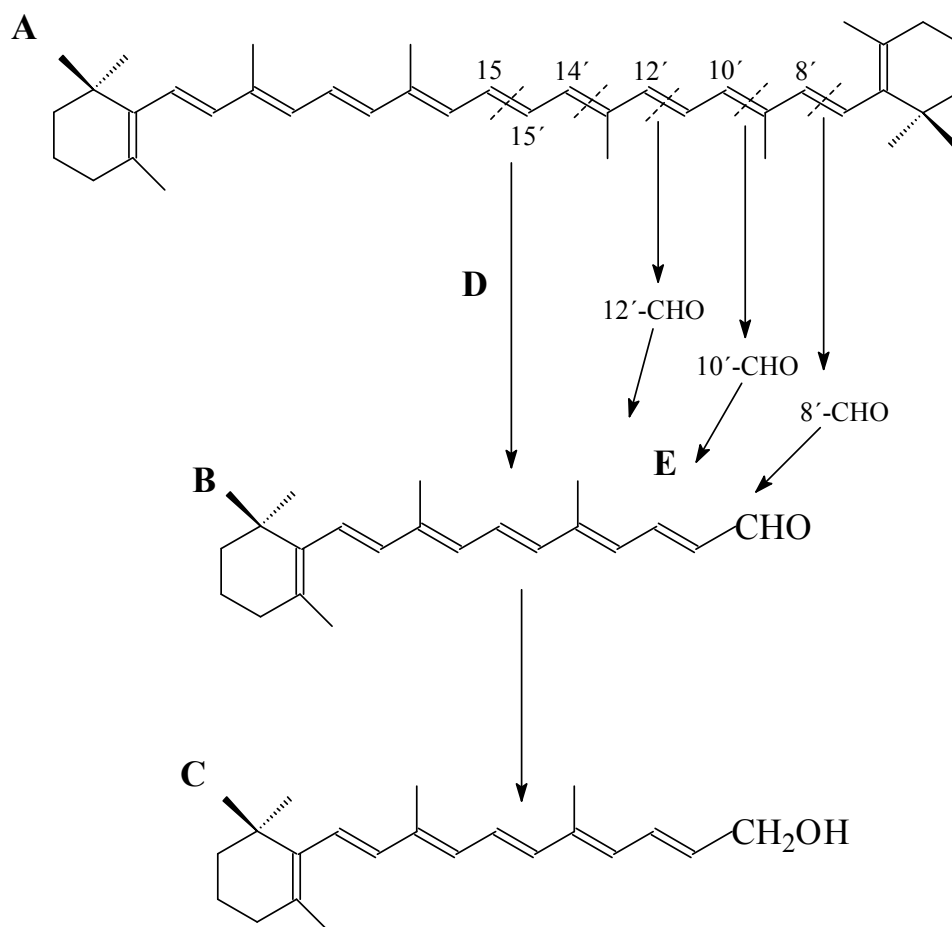
Od preko 600 poznatih karotenoida prema strukturi oko 50 karotenoida mogu biti prekusori vitamina A. Najvažniji provitamin A je  $\beta$ -karoten, kako sa aspekta bioaktivnosti tako i sa aspekta rasprostranjenosti u prirodi. Skoro sva biljna hrana koja sadrži karotenoide sadrži  $\beta$ -karoten kao glavni ili sporedni karotenoid. Strukturno posmatrano  $\beta$ -karoten u sebi sadrži dve jedinice vitamina A. Stoga je potencijalu  $\beta$ -karotena kao provitamina A dodeljena vrednost 100% aktivnosti. Ovakva, simetrična konverzija  $\beta$ -karotena u vitamin A odvija uz

pomoć enzima  $\beta$ -karoten-15,15'-dioksigenaze koji cepa molekul na 15,15' dvostrukoj vezi pri čemu nastaju dve molekule retinala. Ova reakcija je otkrivena još 1965. godine od dva nezavisna tima (Goodman i Huang; Olson i Hayaishi). Pored simetrične postoji i asimetrično cepanje molekula  $\beta$ -karotena. Ovakvim cepanjem dvostrukih veza lanca  $\beta$ -karotena nastaju  $\beta$ -apo-karoteni sa različitim dužinama lanaca. Daljom redukcijom lanca na mestu dvostrukih veza ponovo se stvara molekul retinala (deMan, 1999). Retinal se daljim metabolizmom transformiše u retinol (Rouseff i Nagy, 1994). Biokonverzija  $\beta$ -karotena prikazana je na slici 13. Minimalan uslov za provitamin A aktivnost je nezasićen  $\beta$ -prsten sa polienskim lancem od 11 atoma ugljenika. Provitamin A aktivnost nekih karotenoida prikazana je u tabeli 1.



**Slika 12. Oblici vitamina A. A – retinol; B – retinal; C – retinolna kiselina; D – retinil-palmitat; E – retinil-acetat.**

Dok je nedostatak vitamina A ozbiljan problem u ishrani ljudi u zemljama u razvoju, u visoko razvijenim zemljama pažnja je usmerena ka drugim (pozitivnim) uticajima karotenoida na zdravlje ljudi. Tako se danas u razvijenim zemljama sve češće sreću preparati na bazi karotenoida čije je namena smanjenje rizika od stvaranja katarakte, prevencija kardiovaskularnih oboljenja, jačanje imunog sistema, itd.



Slika 13. Biokonverzija  $\beta$ -karotena u vitamin A. A –  $\beta$ -karoten, B – retinal, C – retinol, D – simetrična konverzija, E – asimetrična konverzija.

Uloga karotenoida je povezana i sa poboljšanjem rada imunog sistema i smanjenja rizika degenerativnih promena kao što je rak, kardiovaskularne bolesti, starosna makularna degradacija i stvaranja katarakte (Mathews-Roth, 1985; 1991; Bendich i Olson, 1989; Bendich, 1990; 1994; Krinsky, 1990; 1994; Ziegler, 1991; Gerster, 1991; Byers i Perry, 1992). Ove biološke osobine su nezavisne od provitaminske funkcije a pripisuju se antioksidantnim osobinama karotenoida, koje obuhvataju sposobnost reakcije sa slobodnim kiseoničnim radikalima i deaktivaciju singlet kiseonika (Burton, 1989; Krinsky, 1989; Palozza i Krinsky, 1992). Vezivanje slobodnih kiseoničnih radikala je u funkciji lanca sa dvostrukim vezama pa je maksimalna zaštita od singletnog kiseonika uočena kod karotenoida koji imaju devet i više dvostrukih veza (Foote et al., 1970). Takođe je uočeno da aciklični likopen efikasniji od bicikličnog  $\beta$ -karotena (Di Mascio et al., 1989). Rezultati ispitivanja sistema sa slobodnim radikalima pokazuju da kantaksantin i astaksantin, oba sa konjugovanim keto grupama imaju veće antioksidativne sposobnosti od  $\beta$ -karotena i zeaksantina (Terão, 1989). Nasuprot ovom uvođenje hidroksi grupa u karotenoidnu strukturu dovodi do sniženja antioksidativne sposobnosti hidroksi-karotenoida. Mono-keto-karotenoidi, na primer, etionen su veoma slabi antioksidanti, dok dve keto grupe ili aldehidna grupa u molekulu dovode do potpunog gubitka antioksidantne moći (Woodall et al., 1997).

**Tabela 1. Relativna provitamin A bioaktivnost nekih karotenoida.**

Provitamin A	Provitamin A bioaktivnost %	
	Bauernfeind (1972)	Zechmeister (1949)
$\beta$ -karoten	100	100
13- <i>cis</i> - $\beta$ -karoten	—	53
9- <i>cis</i> - $\beta$ -karoten	—	38
$\alpha$ -karoten	50-54	53
<i>cis</i> - $\alpha$ -karoten (13- <i>cis</i> ?)	—	16
<i>cis</i> - $\alpha$ -karoten (9- <i>cis</i> ?)	—	13
$\beta$ -zeakaroten	20-40	—
$\gamma$ -karoten	42-50	42
<i>cis</i> - $\gamma$ -karoten	—	19
5,6-monoepoksi- $\beta$ -karoten	21	—
$\beta$ -kriptoksantin	50-60	57
<i>cis</i> - $\beta$ -kriptoksantin (9- <i>cis</i> ?)	—	27
<i>cis</i> - $\beta$ -kriptoksantin (15- <i>cis</i> ?)	—	42
$\beta$ -apo-8'-karotenal	72	—

*Ukoliko nije drugačije navedeno, karotenoidi se nalaze i trans-obliku.*

## 3. MATERIJAL I METODE

### 3.1. Biljni materijal

Materijal korišten u ovom radu je plod začinske paprike. Plodovi začinske paprike su uzorkovani četiri puta sa polja veličine 8 ha. Začinska paprika gajena na pomenutom polju namenjena je daljoj preradi. Polje na kom je gajena začinska paprika vlasništvo je AD „Napredak“ iz Stare Pazove (Slika 14). Tokom gajenja začinske paprike primenjene su sve agrotehničke mere i operacije u optimalnom roku. Na polju je gajena začinska paprika sorte „Aleva NK“ koje je priznata 2000. godine. Visina razgranatog stabla ove sorte je od 45 do 55 cm sa krupnim zelenim listovima. Dužina vegetacije do pune ili fiziološke zrelosti iznosi od 135 do 140 dana. Plodovi su viseći, dužine od 12 do 15 cm, glatki, slatkog ukusa i intenzivne crvene boje. U proseku sorta „Aleva NK“ obrazuje 20 plodova prosečne mase od 26 do 30 g. U tehnološkoj zrelosti plod je tamno crven, 3/4 plodova sazrevaju združeno a manje od 1/4 plodova ostaje za drugu berbu. Visokog je genetskog potencijala.

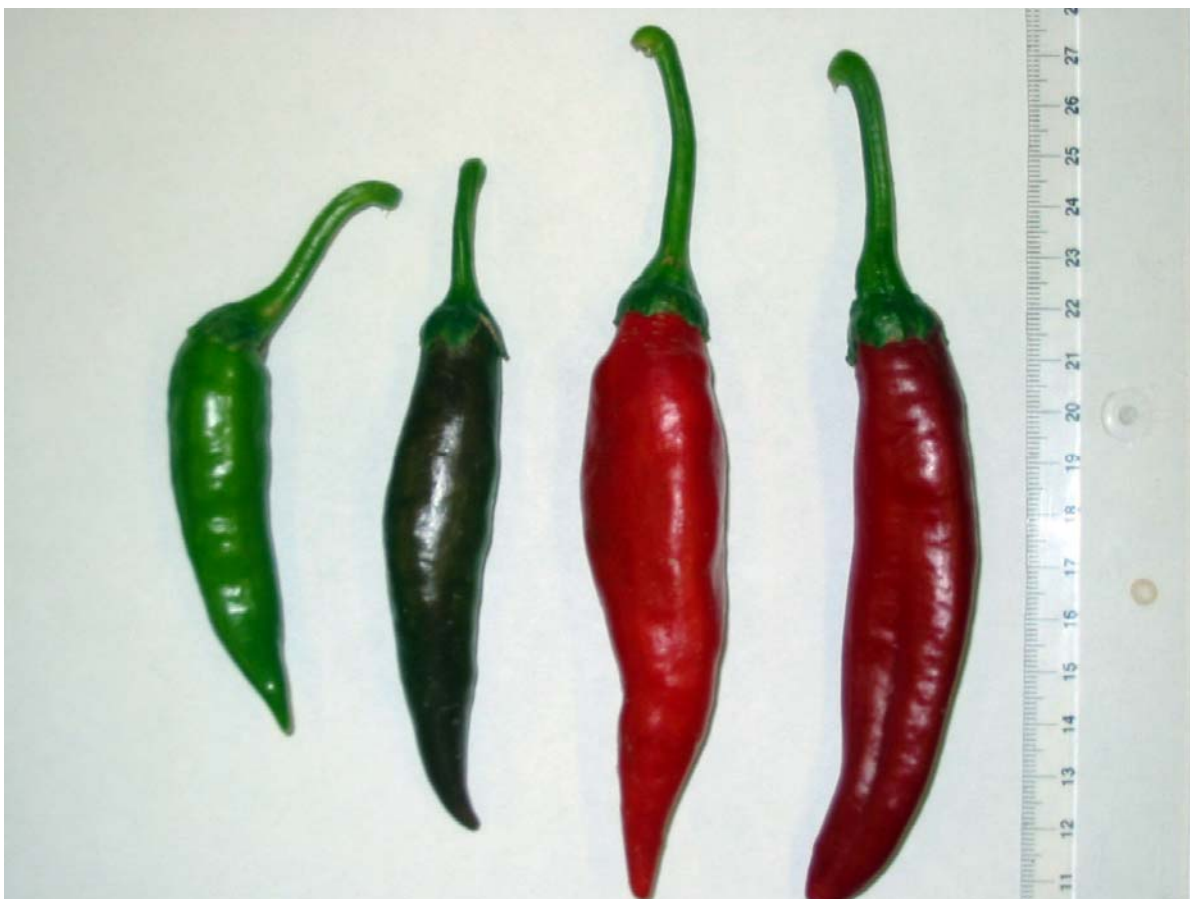


Slika 14. Polje začinske paprike sa kog su uzimani uzorci. Slika desno: polje paprike sa sistemom za navodnjavanje.

#### 3.1.1. Uzorkovanje začinske paprike i šema ogleda

Uzimanje uzoraka je izvršeno u različitim fazama zrelosti paprike. Prvo uzorkovanje je izvršeno 12. VIII 2005. kada je 90% plodova paprike bilo zelene boje (u daljem tekstu - zelena). U prelazu između zelene i crvene boje, tj. kad su paprike imale karakterističnu braon boju izvršeno je drugo uzorkovanje 20. VIII (u daljem tekstu - braon). Kada je 90% plodova paprika bilo imalo punu crvenu boju, izvršeno je treće uzorkovanje, 1. IX (u daljem tekstu - crvena). Poslednje uzorkovanje je izvršeno 15. IX i tada je 90% paprika bilo tamno crvene boje (u daljem tekstu - tamno crvena ili t. crvena). Plodovi paprike u pomenutim, karakterističnim fazama zrelosti prikazani su na slici 15.





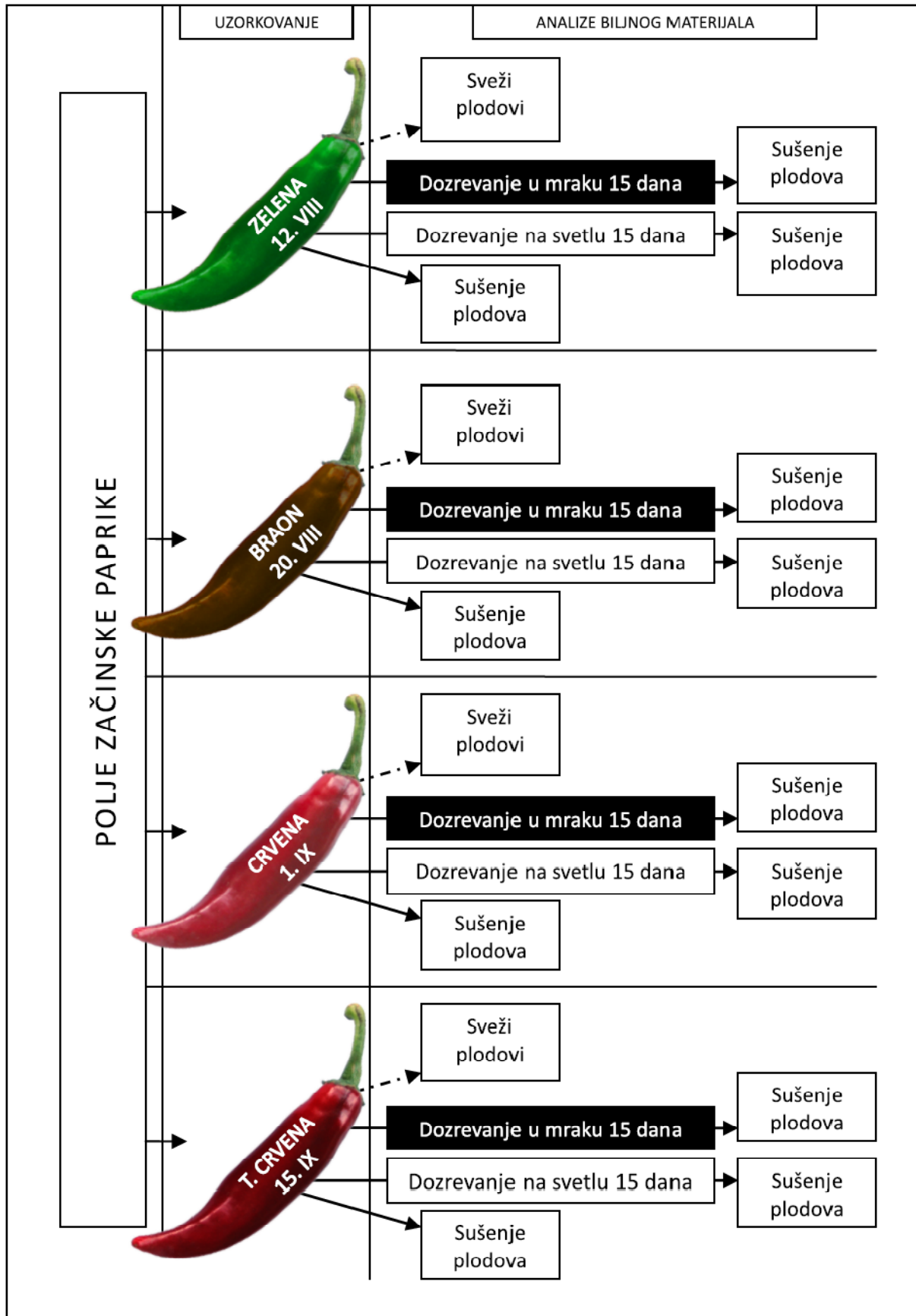
**Slika 15. Plodovi paprike u karakterističnim fazama zrelosti.**

Nakon uzorkovanja uzorak je podjeljen na četiri dela. Prvi deo uzorka je iskorišćen u svežem stanju kako bi se na njemu odredili pokazatelji zrenja dok su ostala tri dela sušena na sledeći način: drugi deo je odmah osušen u struji toplog vazduha dok su druga dva uzorka ostavljena da dozru u trajanju od 15 dana uz prisustvo svetla odnosno bez prisustva svetla, nakon čega su i oni osušeni u struji toplog vazduha. Plan ogleđa je prikazana na shemi 1.

Paprika je sušena u struji toplog vazduha. Plodovi su sušeni u laboratorijskim uslovima, u sušnici sa ventilatorom (Instrumentarija, Zagreb model STERIMATIC ST-11). U cilju bržeg i efikasnijeg sušenja plodovi paprike su zasečeni na više mesta. Na početku sušenja temperatura toplog vazduha je bila 60 °C. Izlaganje paprike ovako visokim temperaturama vazduha je trajalo vrlo kratko (30-60 minuta) da bi se zatim sušenje nastavilo na znatno nižim temperaturama.

Posebna pažnja je posvećena mlevenju uzoraka. Suv perikarp paprike je mleven u laboratorijskim uslovima u mlinu za kafu. Kako je mlevenje proces koji zagreva uzorak mlevenje uzoraka paprike je uređeno uz najveću pažnju tako da temperatura uzorka tokom mlevenja nije prelazila 40 °C.





Shema 1. Ogled sa začinskom paprikom

## 3.2. Metode analize

### 3.2.1. Određivanje sadržaja vode, ukupnih mineralnih materija, mikro i makro elemenata i askorbinske kiseline

U svim uzorcima kako u perikarpu tako i semenu je određen sadržaj vlage sušenjem na 105°C do konstantne mase.

Sadržaj ukupnih mineralnih materija određen je žarenjem na 550 °C nakon čega je dobijeni pepeo preveden u rastvor i metodom atomske apsorpcione spektrofotometrije određen je sadržaj mikro i makro elemenata na instrumentu VARIAN model SpectrAA-10.

U perikarpu je određen sadržaj L-askorbinske kiseline (vitamina C) oksidacijom sa 2,6-p-dihlorofenolindofenol-om pri čemu dolazi do promene boje (Trajković et al., 1983).

### 3.2.2. Određivanje površinske boje

Promena boje perikarpa tokom zrenja ocenjena je vizuelno i instrumentalno. Za instrumentalno određivanje boje, od plodova odabranih četvrtanjem, isečena su tri dela perikarpa i to sa vrha, sredine i dna ploda. Na ovim uzorcima instrumentalno je određena boja merenjem razlike vrednosti  $x_1$ ,  $x_2$ ,  $y$  i  $z$  u odnosu na beli standard instrumentom MOMCOLOR 100 (MOM – Budapest). Pomoću MOMCOLOR 100 – *Computing unit* dobijene  $x_1$ ,  $x_2$ ,  $y$  i  $z$  vrednosti su preračunate u pokazatelje CIELAB sistema (Slika 16):

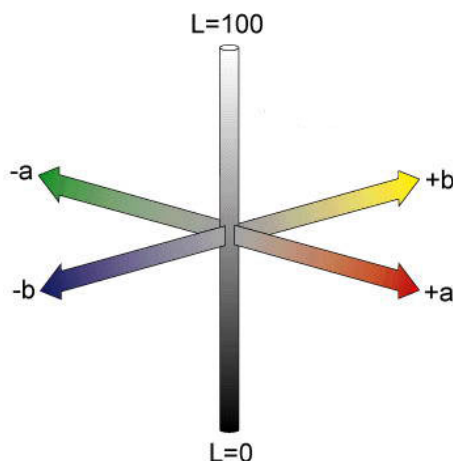
Svetloću  $L^*$  (bela=100, crna=0)

Crveno-zelena osa  $a^*$  (negativne vrednosti predstavljaju zelenu boju a pozitivne crvenu boju)

Žuto-plava osa  $b^*$  (negativne vrednosti predstavljaju žutu boju a pozitivne plavu boju)

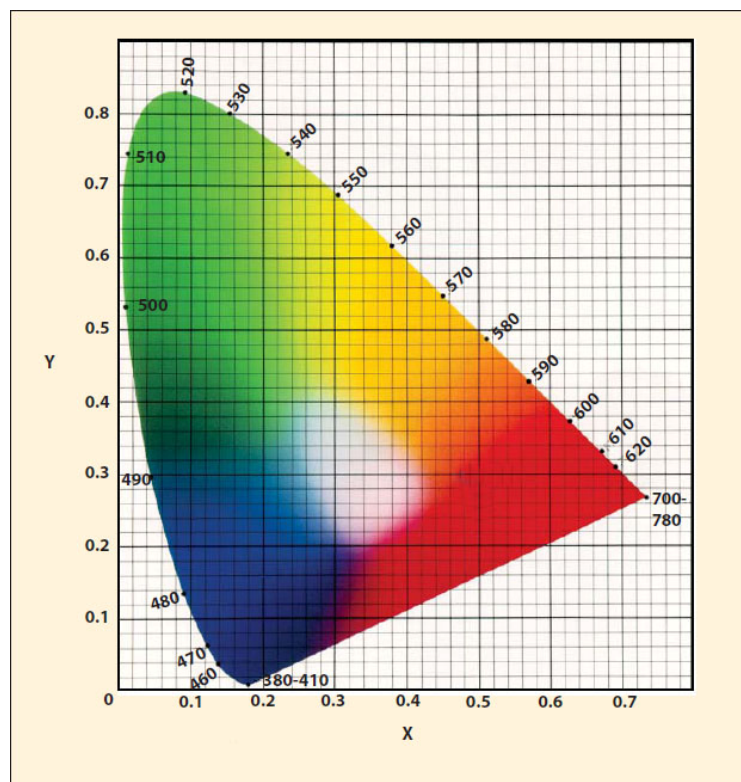
$\Delta E_{ab}$  – ukupna razlika boja

$\Delta C_{ab}$  – punoća boje



Slika 16. CIELAB dijagram hromatičnosti.

Čistoća boje i dominantna talasna dužina  $\lambda$  (nm) određene su pomoću  $x,y$  dijagrama hromatičnosti (Slika 17)



Slika 17.  $x,y$  dijagram hromatičnosti

### 3.2.3. Određivanje sadržaja ukupnih mono i oligosaharida

Sadržaj ukupnih mono i oligosaharida (ukupnih šećera) određena je metodom po Fehlingu (Trajković et al., 1983).

Osnovni rastvor šećera dobijen je rastvaranjem 10 g uzorka paprike u 100 ml destilovane vode koji je profiltriran. 10 ml filtrata je preneto u normalni sud od 100 ml u koji je dodato 0,5 ml cHCl, u cilju hidrolize oligosaharida u monosaharide. Nakon hidrolize vršeno je bistrenje dodatkom olovo-acetata i filtriranje.

Ključalom Fehling-ovom rastvoru (25 ml Fehling I + 25 ml Fehling II + 25 ml H<sub>2</sub>O) dodato je 10 ml filtrata, nakon čega je rastvor ključao sledeća 2 minuta. Vruć rastvor je filtriran kroz stakleni lončić G4, uz ispiranje filtrata vrućom vodom. Stakleni lončić je osušen i meren. Pomoću odgovarajućih tablica izračunat je sadržaj ukupnih mono i oligosaharida.

### 3.2.4. Spektrofotometrijsko određivanje sadržaja pigmenta

Pigmenti iz perikarpa paprike (1 g) su ekstrahovani hladnim (4 °C) acetonom (15 ml) maceracijom u avanu sa tučkom. Macerirani uzorak sa ekstrahovanim pigmentima se profiltrira kroz B4 filter a zatim dopuni acetonom do 25 ml u normalnom sudu. Dobijenom ekstraktu se meri apsorbancija na spektrofotometru na talasnim dužinama 662 nm, 644 nm i 440 nm. Pomoću formula za preračunavanje po Wettstein-u (1957) izračunava se koncentracija hlorofila *a* i *b* i ukupnih karotenoida.

### 3.2.5. Određivanje aktivnosti peroksidaze (EC 1.11.1.7)

U cilju određivanja aktivnosti peroksidaze iz uzoraka paprike prvo se odstrane bojene materije koje smetaju tokom kasnijeg određivanja aktivnosti enzima metodom Russo i Biles (2004). Postupak je sledeći: 10 g smrznutog perikarpa paprike se homogenizuje sa 30 ml hladnog etanola (4 °C). Dobijeni homogenat se profiltrira kroz *Buchner*-ov levak. Posle prvog filtriranja uzorak je ispran još tri puta sa hladnim etanolom, kako bi se potpuno odstranila crvena boja. Dobijeni obezbojeni uzorak se zatim osušen na sobnoj temperaturi a zatim čuva na -20 °C do početka analize.

Iz dobijenog obezbojenog uzorka enzimi su ekstrahovani hladnim (4 °C) 0,02 mol/L fosfatnim puferom pH 6,5 u odnosu mase i zapremine 1:10. Nakon ekstrakcije i centrifugiranja dobijeni supernatant je korišćen za određivanje aktivnosti peroksidaze.

Aktivnost peroksidaze određena je metodom Quesada et al. (1992). U cilju merenja aktivnosti peroksidaze 3,5 ml 0,1 M fosfatnog pufera (pH 6,5), 0,2 ml 0,1% metanolnog rastvora O-diansidina i 0,5 ml ekstrakta uzorka je inkubirano u vodenom kupatilu na temperaturi od 28 °C 10 minuta. Nakon toga je dodato 0,2 ml 0,2 M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a zatim je merena apsorbancija na 530 nm u intervalima od 1 min sledećih 10 minuta.

Od dobijenih vrednosti napravljena je kriva, koja je kompjuterski „fitovana“ pri čemu koeficijent uz promenljivu *X* izražava aktivnost peroksidaze. Jedinica peroksidne aktivnosti (U) se definiše kao porast apsorbance po minuti u uslovima pod kojima se izvodi eksperiment a enzimska aktivnost se odnosi na svež perikarp.

### 3.2.6. Određivanje aktivnosti β-glukozidaze (EC 3.2.1.21)

Priprema uzorka, koja podrazumeva obezbojenje uzorka, identična je pripremi uzorka za određivanje aktivnosti peroksidaze. Nakon ekstrakcije i centrifugiranja peroksidaze i dobijanja supernatanta, u kome je aktivnost β-glukozidaze određena metodom preporučenoj od strane IUPAC-a (Ghose, 1987). Smeša zapremine 3 ml, koja sadrži 1 ml 0,1% (m/V) p-nitrofenil-β-D-glukozida (pNFG) u Na-citratnom puferu (pH 4,8, c=0,05 mol/dm<sup>3</sup>) i 2 ml ekstrakta enzima iz ploda paprike, inkubirana je 90 min na 50 °C. Reakcija je prekinuta dodatkom 2 ml 10,6% (m/V) Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Oslobođeni p-nitrofenol je određen merenjem apsorbancije na 420 nm. Dobijene apsorbance su upoređene sa serijom standarda p-nitrofenol-a, a rezultati aktivnosti β-glukozidaze su izraženi kao μM oslobođenog nitrofenola pri opisanim uslovima.

### 3.2.6. Određivanje ukupne (ekstrahovane) boje paprike metodom ASTA 20

Metoda je razvijena i odobrena od strane AOAC-a (Association of Official Analytical Chemists) i ASTA (Americal Spice Trade Association). Ekstrahovana boja se meri spektrofotometrijski i izražava se u ASTA jedinicama. Postupak je sledeći: odmeriti 0,1 g uzorka i pomoću acetona kvantitativno preneti u normalni sud od 100 ml. Normalni sud dopuniti acetonom, promućkati i ostaviti da stoji na tamnom mestu 4 h. Intenzitet boje meriti na spektrofotometru, na talasnoj dužini od 460 nm, uz aceton kao slepu probu, u staklenim kivetama debljine 1cm. Radi izračunavanja varijabilnosti i standardizovanja instrumenta koristi se standardni rastvor kalijum-dihromata i kobalt-amonijum-sulfata. Meriti apsorbancija standardnog rastvora ( $A_s$ ) na 460 nm i izračunati korelacioni faktor pomoću formule:

$$I_f = \frac{0,6}{A_s}$$

ASTA vrednost se izračunava pomoću formule:

$$ASTA = \frac{A \times 16,4}{m} \times I_f$$

gde je:

A – apsorbancija acetonskog ekstrakta na 460nm;

$I_f$  – korelacioni faktor;

m – masa uzorka (g).

### 3.2.7. Razdvajanje i određivanje karotenoida

Ekstrakcija karotenoida iz uzorka sveže paprike je izvršena po metodu Mínguez-Mosquera i Hornero-Méndez (1993). Uzorci sveže paprike su odvojeni od drške i semena a zatim je perikarp isečen na sitne kockice ( $\approx 0,5 \times 0,5$  cm). Ekstrakcija karotenoida iz uzoraka perikarpa paprike (10 g) je vršena homogenizacijom sa hladnim (4 °C) acetonom (50 ml) pomoću ultraturaksa (IKA WERK model T45/N). Ekstrakcija je ponavljana do momenta kada ekstrakti postanu bezbojni (najčešće su potrebne 4 ekstrakcije). Dobijeni ekstrakti su spojeni u levak za odvajanje a zatim je dodato 100 ml etra. Nakon mućkanja levak je ostavljen u mraku kako bi se razdvojile faze pri čemu karotenoidi prelaze u etarsku fazu. Ukoliko se faze ne razdvajaju potrebno je dodati 10% rastvor NaCl. Razdvojene faze prilikom pripreme uzoraka braon paprike prikazani su na slici 18. Vodeno-acetonska faza se odbaci a etarska upari, kako bi se karotenoidi rastvorili u acetonu do zapremine od 25 ml. Dobijeni ekstrakt se koristi za analizu karotenoida metodom HPLC.



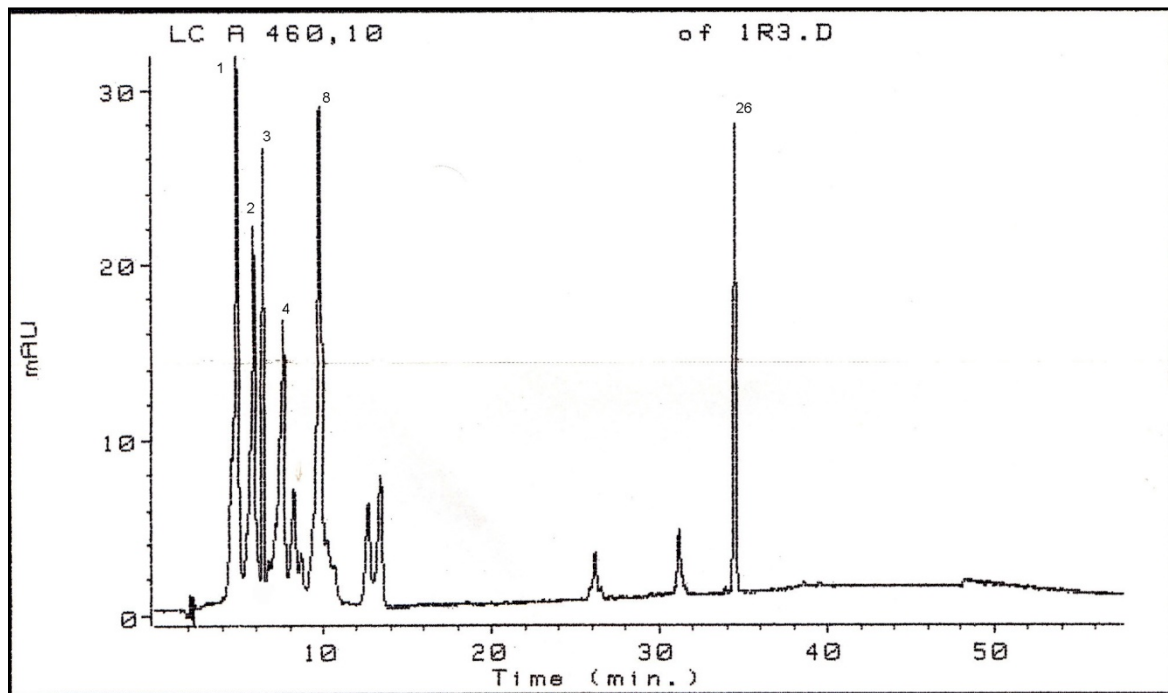
**Slika 18.** Razdvajanje organske faze sa pigmentima (gornji sloj) i neorganske faze (donji sloj) prilikom pripreme uzorka „braon“ paprike. Slika levo prvo ispiranje, slika desno finalno ispiranje.

Standardi kapsorubina, anteraksantina, zeaksantina, violaksantina i  $\beta$ -karotena nabavljeni su od proizvođača "Carotenature"-Švajcarska, dok je standard kapsantina nabavljen od Hoffman La Roche.

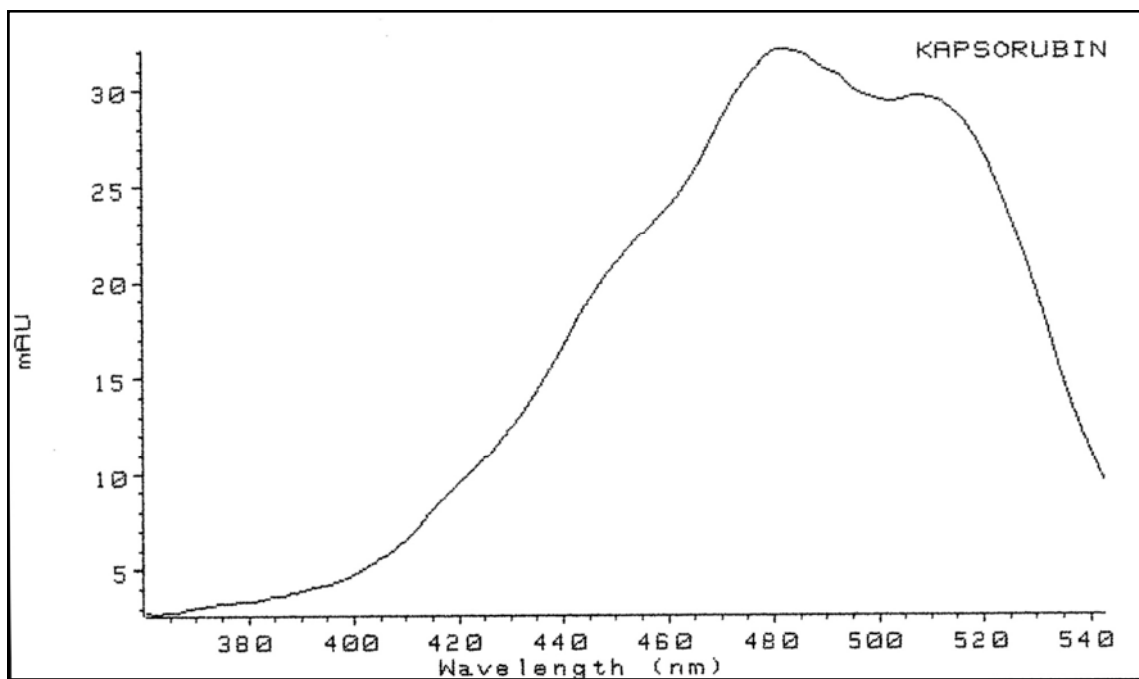
Kvalitativno i kvantitativno određivanje karotenoida je izvršeno prema metodi Morais et al (2001) sa malim modifikacijama. Uslovi hromatografskog određivanja su:

Instrument:	Liquid Chromatograph HP1090, HewlettPackard
Detektor:	Diode Array Detector, DAD
Talasna dužina:	460±4 nm
Opseg snimanja spektara:	350 – 550 nm
Injektovana zapremina:	10 $\mu$ L, ručno
Kolona:	„Zorbax SB C18“ kolona 30×250 mm i.d., čestice 5 $\mu$ m
Predkolona:	„Zorbax SB C18“ 4,6×12 mm i.d., čestice 5 $\mu$ m
Rastvarači:	A – aceton:voda (75:25); B – aceton:metanol (75:25)
Gradijent – linearni:	od 0 do 25 % B do 10 minuta od 25 do 100 % B do 35 minuta 100 % B do 45 minuta 0 % B do 65 minuta
<i>Post time:</i>	15 minuta

Hromatogram razdvojene smeše standarda karotenoida prikazan je na slici 19. Korišćenje DAD detektora omogućilo je da se determinacija pikova pored retencionog vremena i površine opiše i spektrom apsorpcije. Spektar apsorpcije pojedinih karotenoida iz standardne smeše prikazan je na slikama 20, 21, 22, 23, 24 i 25.

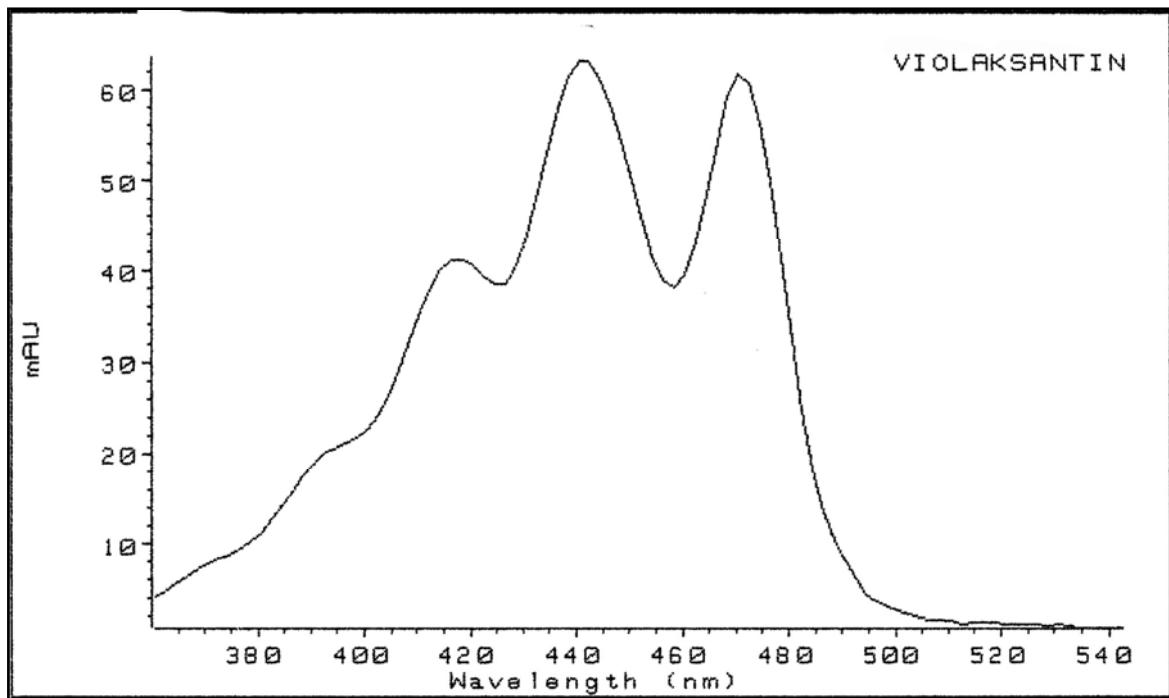


Slika 19. Hromatogram smeše standarda. 1-kapsorubin, 2-violaksantin, 3-kapsantin, 4-anteraksantin, 8-zeaksantin i 26  $\beta$ -karoten.

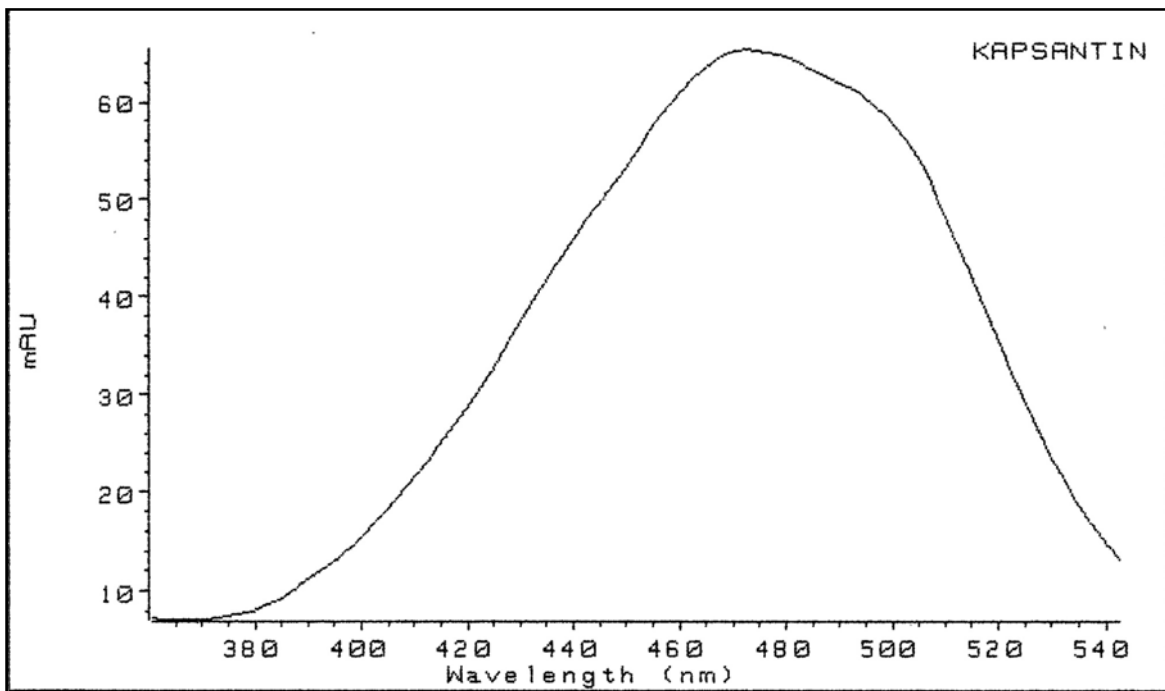


Slika 20. Spektar apsorpcije kapsorubina (maksimumi apsorpcije na 446, 470, 480)



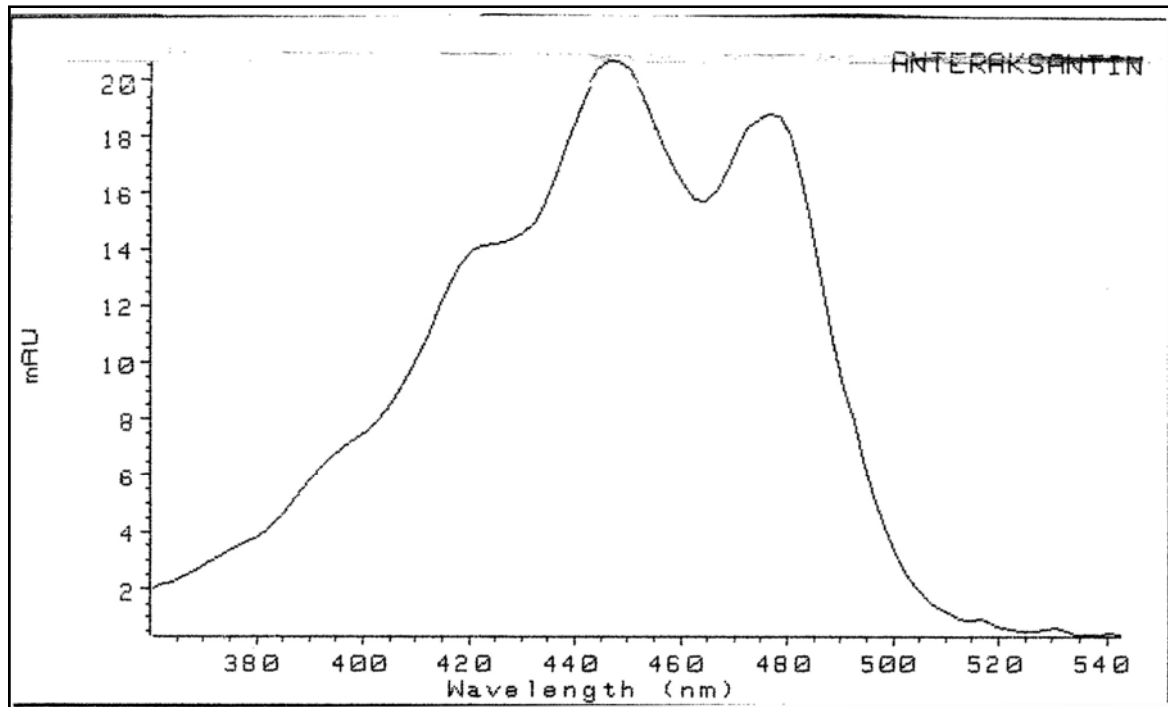


Slika 21. Spektar apsorpcije violaksantina (maksimumi apsorpcije na 421, 442, 473)

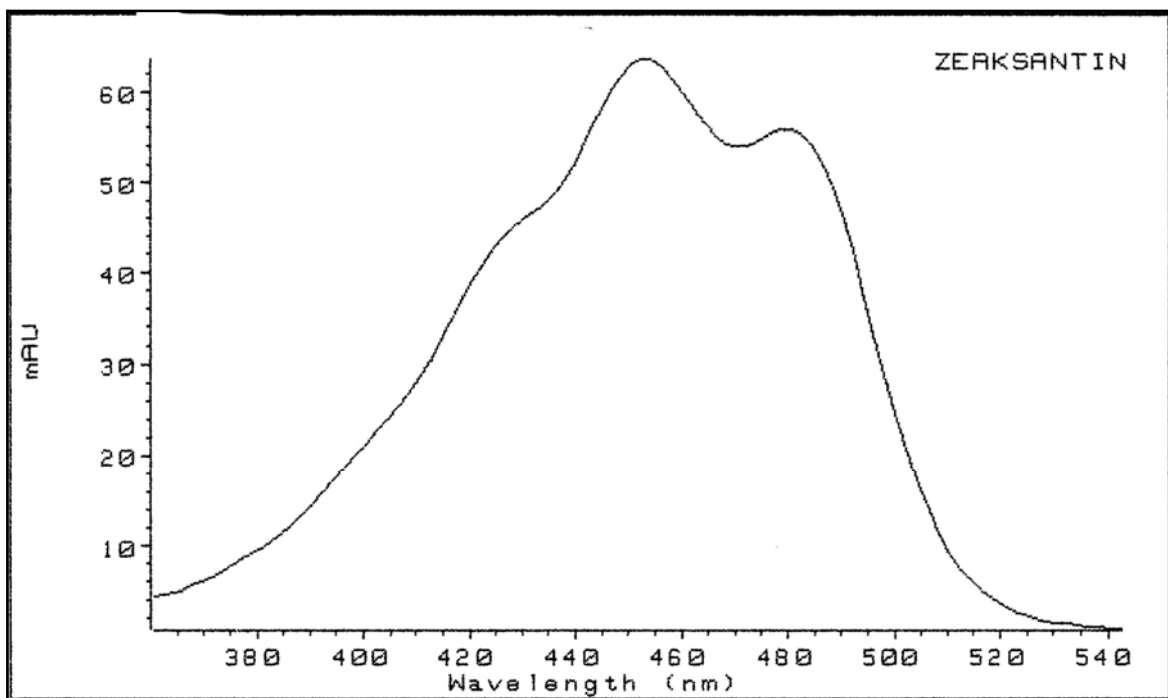


Slika 22. Spektar apsorpcije kapsantina (maksimumi apsorpcije na (446), 470, 486)

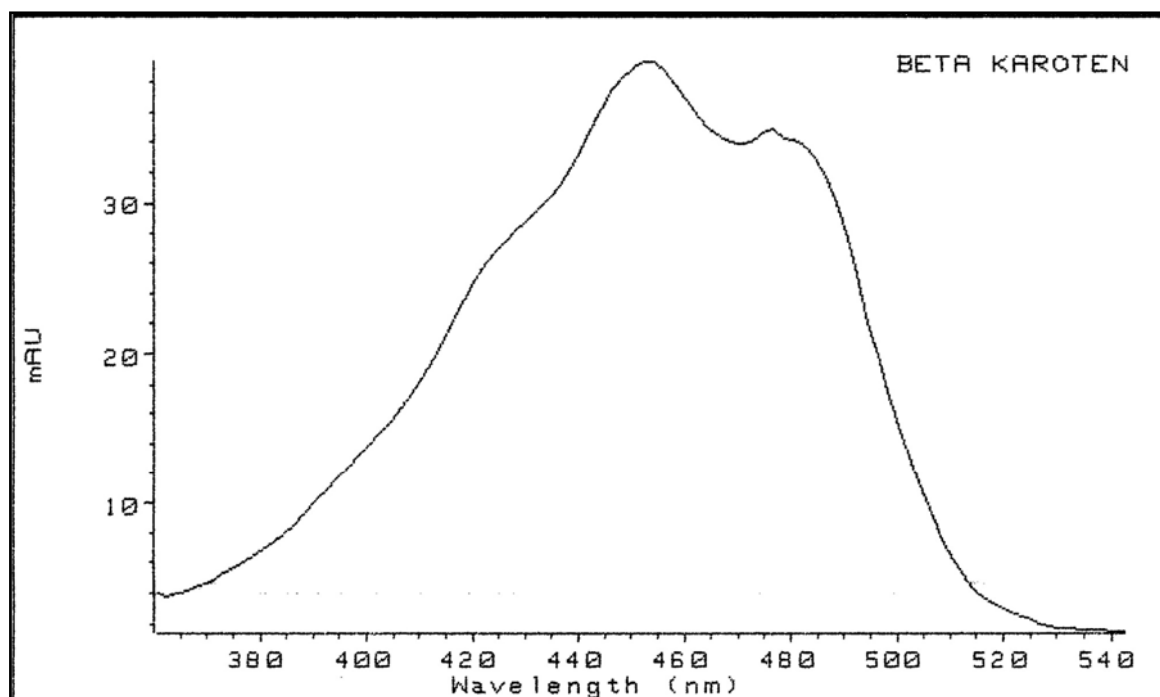




Slika 23. Spektar apsorpcije anteraksantina (maksimumi apsorpcije na 422, 445, 472)



Slika 24. Spektar apsorpcije zeaksantina (maksimumi apsorpcije na 430, 452, 479)



Slika 25. Spektar apsorpcije  $\beta$ -karotena (maksimumi apsorpcije na (428), 450, 484)

Nakon determinacije pikova, površine pikova su upoređene sa površinama pikova serije standarda odgovarajućih standarda karotenoida.

### 3.2.8. Određivanje sastava etarskih ulja

Etarska ulja perikarpa su dobijena destilacijom vodenom parom. Sto grama svežeg (Pino et al., 2006) ili 30 g suvog perikarpa (Kocsis et al., 2002, 2003) je homogenizovano sa 500 ml destilovane vode u blenderu sa noževima a destilacija je vršena aparaturom za određivanje sadržaja etarskih ulja. Zbog malog sadržaja etarskih ulja, neposredno pre destilacije u uzorak je dodato 1 ml heksana. Posle 90 minuta destilacije organska faza uzorka je odvojena od vode i čuvana na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  do analize.

Analiza je vršena na gasnom hromatografu sa masenim detektorom. Uslovi hromatografije su bili:

<b>Instrument:</b>	Thermo Finnigan Trace GC – Trace MS
Temperatura interfejsa:	280 $^{\circ}\text{C}$
Temperatura jonskog izvora:	230 $^{\circ}\text{C}$
Gas nosač:	He, protok: 1.5 ml/min
Injektor:	PTV Splitless, $t=250\text{ }^{\circ}\text{C}$
Jonski izvor:	EI, 70 eV

### Za svežu papriku

Kolona:	30 m × 0,25 mm, PS 255, MEGA, Italy
Debljina filma:	0,25 μm
Stacionarna faza:	1-3% metilvinilksiloksan – 97-99% polidimetilsiloksan
Početna temperatura:	50 °C
Temperaturni program:	4 °C/minuti
Krajnja temperatura:	280 °C

### Za suhu papriku

Kolona:	60 m × 0.25 mm, J&W DB-5MS - Agilent, USA
Debljina filma:	0.25 μm
Stacionarna faza:	5% difenil - 95% dimetilsiloksan
Početna temperatura:	50 °C
Temperaturni program:	2 °C/minuti
Krajnja temperatura:	280 °C

Jedinjenja su identifikovana poređenjem masenih spektara pikova sa NIST spektralnom bazom podataka (The NIST Mass Spectral Search Program for the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, Version 2.0a, build Sep 18 2001).

### 3.2.9. Statistička obrada podataka

Upoređenja vrednosti dobijenih analizama obrađeni su analizom varijanse a značajnost razlika između pojedinih aritmetičkih sredina određena je Dankanovim višestrukim testom intervala. Razlike između rezultata dobijenih hromatografskim metodama, predstavljeni kao frekvencije pojavljivanja pojedinih jedinjenja upoređene su  $\chi^2$  testom (Hadživuković, 1991).

## 4. REZULTATI I DISKUSIJA

### 4.1. PROMENE TOKOM ZRENJA NA SVEŽOJ PAPRICI

#### 4.1.1. Promene tokom zrenja na perikarpu sveže paprike

Zrenje začinske paprike je proces čiji se tok najlakše može pratiti promenom boje perikarpa ploda. Stoga, je promena boja paprike tokom zrenja uzeta kao parametar koji je odredio momentat uzorkovanja. Rezultati vizuelne i instrumentalne ocene boje su prikazani u tabeli 2.

**Tabela 2. Vizuelna ocena boje, promene pokazatelja hromatičnosti prema CIE xy sistemu (dominantna talasna dužina ( $\lambda$ ) i čistoća) i CIELAB sistemu ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $\Delta E_{ab}$  i  $\Delta C_{ab}$ ) perikarpa začinske paprike tokom zrenja.**

Faze zrenja	Vizuelna ocena boje	$\lambda$ (nm)	Čistoća	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E_{ab}$	$\Delta C_{ab}$
<b>Zelena</b>	<i>Dominantni ton:</i> majsko zelena	562	50,0	35,80	-17,65	27,00	64,68	30,78
	<i>Dominantni ton:</i> tamno-smeđa, <i>prateći ton:</i> tamno zelena	561	40,4	31,27	10,71	16,64	64,23	18,33
	<i>Dominantni ton:</i> svetlije zelena, <i>prateći ton:</i> smeđa	579	34,8	33,16	1,2	33,16	60,77	14,09
<b>Braon</b>	<i>Dominantni ton:</i> crvenkasto-smeđa, <i>prateći ton:</i> slabo zelena	586	23,0	28,91	4,46	9,55	64,25	9,08
	<i>Dominantni ton:</i> smeđi, <i>prateći ton:</i> crveni	600	36,8	28,14	16,33	13,80	67,95	19,97
	<i>Dominantni ton:</i> narandžasti, <i>prateći ton:</i> crveni	605	66,1	42,93	40,04	33,78	72,46	50,91
<b>Crvena</b>	<i>Dominantni ton:</i> crveni, <i>prateći ton:</i> bordo	615	58,5	33,77	39,23	22,98	74,72	44,05
	<i>Dominantni ton:</i> bordo	615	55,2	28,71	36,12	19,56	76,30	39,56
	<i>Dominantni ton:</i> tamno bordo	635	45,2	28,87	31,92	14,73	73,60	34,90
<b>Tamno crvena</b>	<i>Dominantni ton:</i> tamno bordo	635	44,1	28,45	31,77	13,46	73,13	33,15

Nakon prvog branja paprike boja paprike je vizuelno ocenjena kao majsko zelena a u daljem radu biće označena kao **zelena**. Papriku zelene boje karakterisala je dominantna talasna dužina od 562 nm visoke čistoće ( $\check{C}=50$ ), dominirala je zelena boja u odnosu na crvenu ( $a^*=-17,65$ ) i žuta u odnosu na plavu ( $b^*=27,00$ ). Intenzitet obojenosti ( $\Delta E_{ab}$ ) je iznosio 64,68 (Tabela 1). Prilikom prvog branja, boja plodova na celoj parceli je bila ujednačena, dok se kod drugog branja boja plodova, koji su počeli da menjaju boju znatno razlikovala između sebe. Kod drugog branja paprike vizuelna ocena boje kretala se od svetlo zelene sa pratećim tonom smeđe, preko tamno smeđe sa pratećim tonom tamno zelene i crvenkasto-smeđe sa pratećim tonom slabo zelene do smeđe boje sa pratećim tonom crvene. Iako je boja paprike drugog branja znatno varirala u daljem tekstu biće označena kao **braon**. Kod drugog branja paprike, u saglasnosti sa vizuelnom ocenom, dominantna talasna dužina je bila veća nego kod zelene i kretala se od 561 do 600 nm a čistoća dominantne talasne dužine je bila niža u odnosu na zelenu i varirala je u rasponu od 23,0 do 40,4. Već kod ove "braon" paprike dominira crvena boja u odnosu na zelenu i pokazatelj hromatičnosti  $a^*$  postaje pozitivan iako njegove vrednosti kao i vrednosti pokazatelja  $b^*$  znatno variraju. Pokazatelj obojenosti  $\Delta E_{ab}$  ostaje visok ( $>60$ ). Prilikom trećeg uzorkovanja 90% paprike imalo je crvenu boju. Nakon vizuelne analize ove paprike u laboratoriji, uočeno je da boja paprike varira od narandžaste sa pratećim tonom crvene, preko crvene sa pratećim tonom bordo, do bordo i tamno bordo boje. Iako je i u ovom, trećem uzorku uočeno prilično variranje u boji i u daljem tekstu ovaj uzorak će se zvati **crvena** paprika, a karakterisale su ga talasne dužine karakteristične za crvenu boju (od 605 do 635 nm). Interesantno je napomenuti da se kod ovog uzorka sa povećanjem talasne dužine smanjivala čistoća (sa 66,1 na 45,2), svetloća  $L^*$  (sa 42,93 na 28,87) udeo crvene boje  $a^*$  (sa 40,4 na 31,92) i udeo žute boje (sa 33,78 na 14,73) dok se obojenost uzorka ( $\Delta E_{ab}$ ) nije bitnije menjala. Ovakav trend se nastavio i kod paprike uzorkovane prilikom četvrtog izlaska na parcelu. Paprika uzorkovana četvrti put vizuelno je okarakterisana kao tamno bordo svi pokazatelji su vrlo slični uzorku tamno bordo kod crvene paprike. Paprika uzorkovana poslednja u daljem tekstu će se nazivati **tamno crvena**.

Neophodno je napomenuti da iako je boja kod uzorka kod braon i crvene paprike, kako vizuelno tako i instrumentalno, znatno varirala najveći broj plodova je po boji bio ujednačen. Prosečan uzorak kod ove dve grupe koji je korišćen za ispitivanja sačinjen je od svih poduzoraka.

Tokom zrenja sadržaj vlage se smanjivao dok se sadržaj mineralnih materija i ukupnih šećera u perikarpu paprike povećavao (Tabela 3). Nakon formiranja plod prolazi kroz dve bitne faze: povećanje mase i zrenje. Tokom povećanja mase plod je mesto sa najmanjom koncentracijom asimilata pa je posledica toga stalan transport asimilata u plod. Kako bi plod ostao mesto sa najnižom koncentracijom asimilata neophodno je pokretanje biohemijskih procesa koji asimilate prispele u plod konvertuju u drugi oblik, kako se ne bi poremetio tok asimilata ka plodu. Sposobnost ploda da tokom zrenja stalno predstavlja mesto potrošnje asimilata je složen biohemijsko-fiziološki proces koji još uvek nije u potpunost razjašnjen (Ho, 1988). Glavni asimilat koji proizvode listovi paprike je saharoza (Nielsen i Veierskov, 1989), a kako je poznato da je transport saharoze kroz floem biljke proces zavisian od gradijenta koncentracije pretpostavlja se da ove osobine čine saharozu idealnom za transport asimilata do ploda. Stoga, pretpostavlja se da biohemijska konverzija saharoze i smanjenje njenog sadržaja u plodu ima vrlo važnu ulogu u transportu saharoze u biljci (Morris, 1982; Eschrich, 1989). Uočena je korelacija između porasta ploda paprike u ranim fazama razvića i visoke aktivnosti kisele invertaze i nakupljanja heksoza (Nielsen et al., 1991). Slična korelacija

uočena je i kod drugih biljaka na primer paradajza (Yelle et al., 1988) i *Solanum muricatum* (Schaffer et al., 1989). Pored kisele invertaze tokom nakupljanja asimilata u plodu paprike značajnu ulogu imaju i drugi enzimi kao na primer, neutralna invertaza mada je aktivnost drugih enzima znatno niža (Nielsen et al., 1991). Kao posledica transporta asimilata tokom zrenja paprike povećava se sadržaj suve materije sa 9,45 na 13,86% i ukupnih mineralnih materija sa 0,53 na 0,65% u plodu ispitane sorte paprike (Tabela 3) a što su uočili i drugi autori (Nielsen et al., 1991).

**Tabela 3. Promene sadržaja suve materije, ukupnih mineralnih materija i redukujućih šećera u perikarpu tokom zrenja začinske paprike.**

Faze zrenja	Suva materija (%)	Mineralne materije (%)	Ukupni šećeri (%)
Zelena	9,45 <sup>a</sup>	0,53 <sup>a</sup>	1,74 <sup>a</sup>
Braon	12,59 <sup>b</sup>	0,67 <sup>b</sup>	2,40 <sup>ab</sup>
Crvena	13,86 <sup>c</sup>	0,65 <sup>b</sup>	2,72 <sup>bc</sup>
T. Crvena	13,52 <sup>c</sup>	0,73 <sup>c</sup>	3,17 <sup>c</sup>

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju (Duncan-ov test,  $p < 0,05$ )

Kada plod postigne punu veličinu smanjuje se aktivnost enzima koji razlažu saharozu a povećava se aktivnost enzima koji je sintetišu, na primer saharozne sintetaze i saharozno-fosfatne sintetaze, pa se koncentracija saharoze i skroba povećava. Ovim biohemijskim procesima može se objasniti povećanje sadržaja ukupnih šećera tokom zrenja ploda paprike. Nakon toga, kada plod počinje da sazreva ponovo se aktiviraju enzimi koji razlažu saharozu i skrob a nastale heksoze se koriste u toku biohemijskih procesa zrenja ploda (Nielsen et al., 1991). Potrošnjom asimilata tokom zrenja paprike može se objasniti blagi, nesignifikantni pad suve materije sa 13,86 na 13,52% (Tabela 3).

Promena koncentracije askorbinske kiseline u perikarpu tokom zrenja ploda paprike prikazana je u tabeli 4. Posmatrajući sadržaj askorbinske kiseline u perikarpu paprike tokom zrenja može se uočiti da se njen sadržaj povećava kako proces zrenja odmiče.

**Tabela 4. Promena sadržaja askorbinske kiseline tokom zrenja perikarpa začinske paprike.**

Faze zrenja	Askorbinska kiselina (mg/100g sveže materije)
Zelena	58,2 <sup>a</sup>
Braon	162,5 <sup>b</sup>
Crvena	190,4 <sup>c</sup>
T. Crvena	216,8 <sup>d</sup>

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju (Duncan-ov test,  $p < 0,05$ )

U zavisnosti od sorte ispitivane paprike, njene zrelosti i korišćene metode određivanja, sadržaj askorbinske kiseline u perikarpu može da varira od 14,8 do 276,6 mg/100 g (Osuna-García et al., 1998) ili od 18,88 do 299,89 mg/100 g sveže mase (Khadi et al., 1987). Zrenjem

ploda povećao se sadržaj askorbinske kiseline (Tabela 4) što su uočili i drugi autori (Daood et al., 1996; Simone et al., 1997; Osuna-García et al., 1998; Howard et al., 2000; Martínez et al., 2005).

Potpuno poznavanje mehanizma kojim se askorbinska kiselina nakuplja u plodu još uvek nije potpuno poznat ali je njen sadržaj verovatno povezan sa metabolizmom ugljenih hidrata (Lantz, 1943; Mozafar, 1994; Barata-Soares, et al., 2004) i starenjem (Leshem, 1988). U zelenim tkivima najveće nakupljanje askorbinske kiseline se uočava u hloroplastima gde sa askorbat-oksidadom ima ulogu hvatača slobodnih radikala. Intenzitet svetlosti povećava sadržaj askorbinske kiseline i glukoze, koja je njen prekursor. Utvrđeno je, da tokom dana sadržaj askorbinske kiseline zavisi od količine svetla koja padne na biljku, pa čak i na individualni plod a pored svetla sadržaj askorbinske kiseline zavisi i od dnevnih promena u temperaturi (Mozafar, 1994). Takođe moguć je i transport askorbinske kiseline iz listova u plod sa ostalim ugljenim hidratima tokom zrenja ploda (Osuna-García et al., 1998).

#### 4.1.1.1. Promene sadržaja mikro i makroelemenata u perikarpu tokom zrenja začinske paprike

Tokom zrenja začinske paprike praćena je i promena njenog mineralnog sastava (Tabela 5).

**Tabela 5. Promene sadržaja makro i mikroelemenata u svežem perikarpu začinske paprike tokom zrenja.**

Faza zrenja	Sadržaj pojedinih elemenata (mg/kg)							
	Na	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu
<b>Zelena</b>	126,1 <sup>a</sup>	2307 <sup>a</sup>	68,6 <sup>b</sup>	147,5 <sup>a</sup>	4,15 <sup>a</sup>	1,393 <sup>a</sup>	1,031 <sup>a</sup>	0,793 <sup>a</sup>
<b>Braon</b>	165,9 <sup>b</sup>	3202 <sup>b</sup>	72,3 <sup>b</sup>	172,8 <sup>c</sup>	5,64 <sup>b</sup>	1,776 <sup>d</sup>	1,201 <sup>c</sup>	1,019 <sup>b</sup>
<b>Crvena</b>	268,3 <sup>c</sup>	3582 <sup>c</sup>	55,7 <sup>a</sup>	155,4 <sup>b</sup>	5,16 <sup>ab</sup>	1,681 <sup>b</sup>	1,053 <sup>b</sup>	1,020 <sup>b</sup>
<b>T. Crvena</b>	272,2 <sup>c</sup>	3880 <sup>d</sup>	55,3 <sup>a</sup>	155,3 <sup>b</sup>	3,91 <sup>a</sup>	1,721 <sup>c</sup>	1,017 <sup>a</sup>	0,990 <sup>b</sup>

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju (Duncan-ov test,  $p < 0,05$ )

Tokom sazrevanja perikarpa paprike svi ispitani elementi, izuzev Ca i Mn, nisu smanjivali sadržaj tokom zrenja. Za Ca, koji je imao potpuno drugačiju tendenciju sadržaja od ostalih ispitanih elemenata karakterističan je signifikantno niži sadržaj u kasnijim fazama zrenja perikarpa u odnosu na rane faze zrenja. Maksimalni sadržaj Mn je bio u braon fazi zrelosti perikarpa a zatim se njegov sadržaj smanjivao da bi na kraju vegetacionog perioda ogleda njegova koncentracija bila jednaka početnoj vrednosti (zelena faza zrenja) (Tabela 5).

Rubio et al. (2002) su ispitivanjem 120 uzoraka nezaćinske paprike na sadržaj Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn i Zn sa Tenerifa takođe uočili da je najzastupljeniji element K a od mikroelemenata Fe. Ovakav sadržaj i odnos ispitanih elemenata uočen je i kod drugih, domaćih (Niketić-Aleksić et al., 1989; Marković i Vračar, 1998; Tojagić et al., 1998) i stranih (Andujar et al., 1990; Mataix, 1993) autora. Rubio et al. (2002) su ispitivali uzorke u dva

stepena zrelosti, zelenom i crvenom, i statistički pokazali da se sadržaj makroelemenata K, Mg i mikroelemenata Fe, Cu, Zn i Mn povećava tokom zrenja.

#### 4.1.1.2. Promene sadržaja pigmentata tokom zrenja začinske paprike

Rezultati prikazani u tabeli 6 pokazuju da se sadržaj hlorofila *a* i *b* naglo smanjuje tokom zrenja a zatim, kada plod ima potpuno razvijenu crvenu boju, njihov sadržaj pada ispod limita detekcije primenjene metode. Sadržaj hlorofila je ostao ispod limita detekcije i kod tamno crvene paprike.

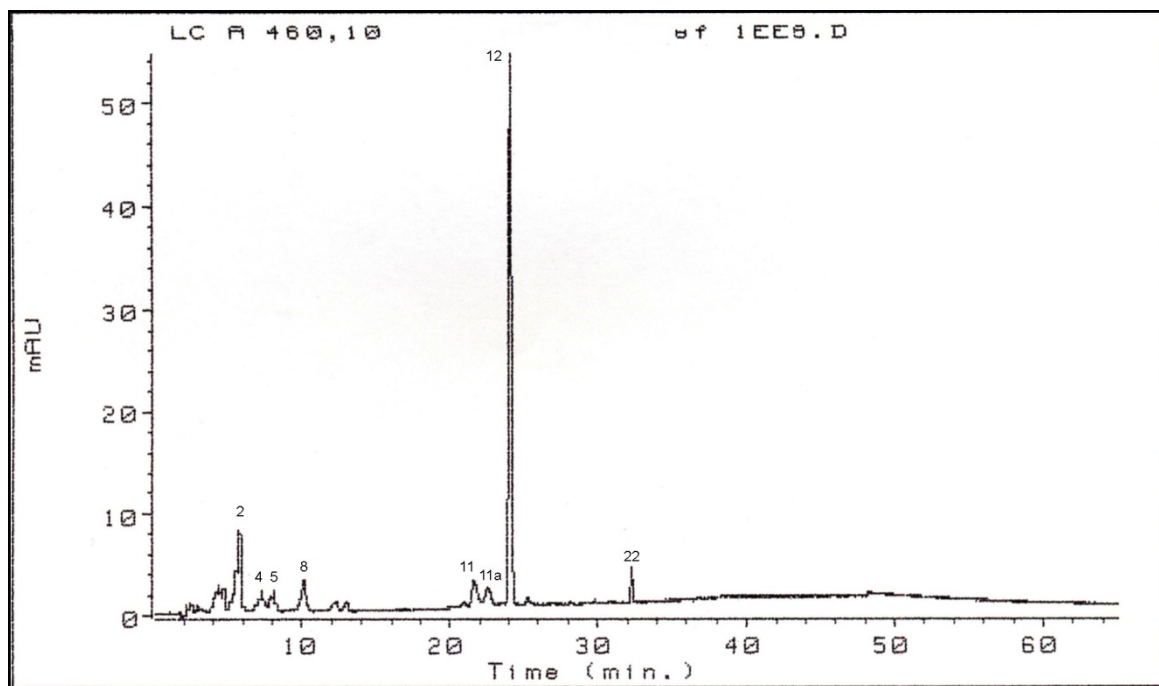
**Tabela 6. Promena koncentracije hlorofila *a*, hlorofila *b*, njihovog odnosa i ukupnih karotenoida tokom zrenja začinske paprike.**

Faze zrenja	Hl <i>a</i> (mg/kg)	Hl <i>b</i> (mg/kg)	Hl <i>a</i> /Hl <i>b</i>	Karotenoidi (mg/kg)
Zelena	82.96 <sup>b</sup>	43.68 <sup>b</sup>	1.9	37.76 <sup>a</sup>
Braon	44.63 <sup>a</sup>	24.41 <sup>a</sup>	1.8	131.88 <sup>b</sup>
Crvena	-	-	-	-
T. Crvena	-	-	-	-

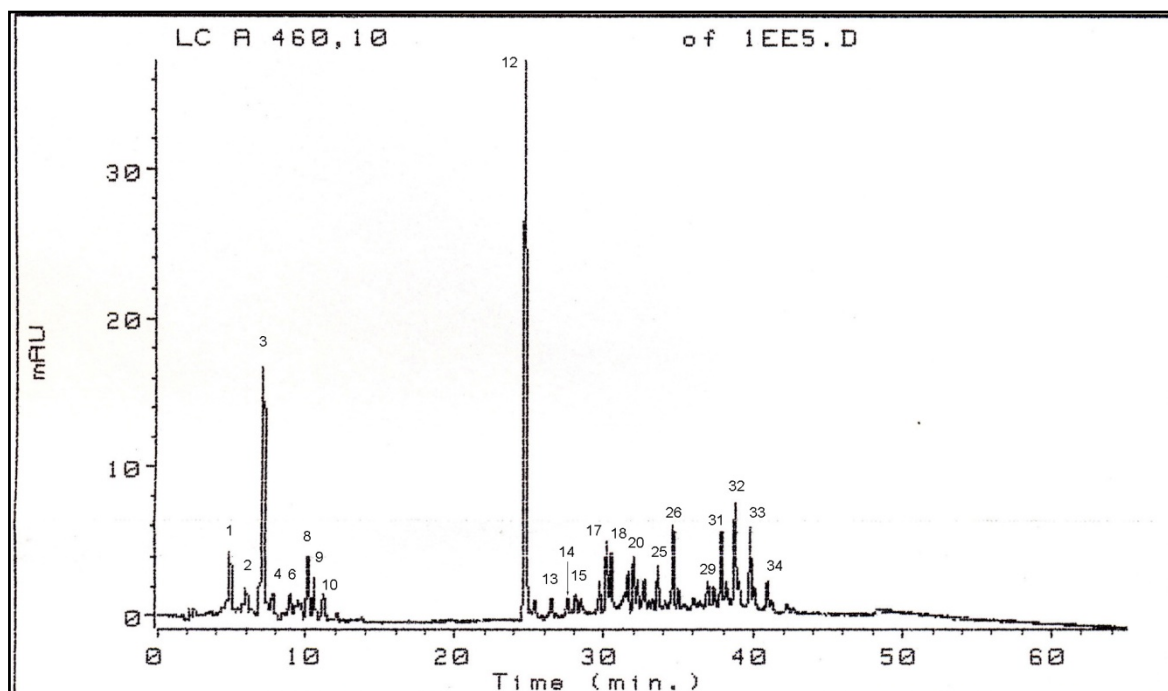
Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju (Duncan-ov test,  $p < 0,05$ )

Promena sadržaja hlorofila tokom zrenja paprike može da ide u dva pravca. Kod plodova paprike koji kao zreli imaju crvenu boju u kasnijim fazama zrenja prestaje sinteza hlorofila, a hlorofil koji se nalazi u plodu razgrađuje se složenim enzimskim procesima dok kod plodova koji kao zreli imaju mrku boju, sinteza hlorofila se nastavlja i u kasnim fazama sazrevanja. Posmatrana sorta začinske paprike spada u sorte kod kojih dolazi do razgradnje i nestajanja hlorofila tokom zrenja plodova. Razgradnja hlorofila kod plodova crvene paprike se poklapa nestankom hloroplasta ili njihovom transformacijom u hromoplaste (Roca et al., 2006). Pokazano je da tokom zrenja ploda paprike u razgradnji hlorofila učestvuju isti enzimi kao i kod starenja lista: hlorofilaza, magnezijumdehelataza i feoforbid-*a*-oksigenaza (Moser i Matile, 1997). Interesantno je napomenuti da se odnos hlorofila *a* prema hlorofilu *b* nije menjao zbog čega bi se moglo pretpostaviti da u braon fazi preostali hloroplasti i dalje zadržavaju fotosintetičku funkciju. Sadržaj karotenoida praćen spektrofotometrijskom metodom pokazuje nagli porast. S obzirom da se određivanje koncentracije karotenoida spektrofotometrijskom metodom vrši očitavanjem vrednosti na 440 nm (žuta boja) (ova metoda razvijena za određivanje karotenoida u listovima) njome se ne mogu odrediti karotenoidi crvene boje. Iz tog razloga je praćenje kvalitativnih i kvantitativnih promena sadržaja karotenoida u toku zrenja začinske paprike vršeno metodom HPLC-a. Dobijeni hromatogrami prikazani su na slikama 26, 27, 28 i 29.

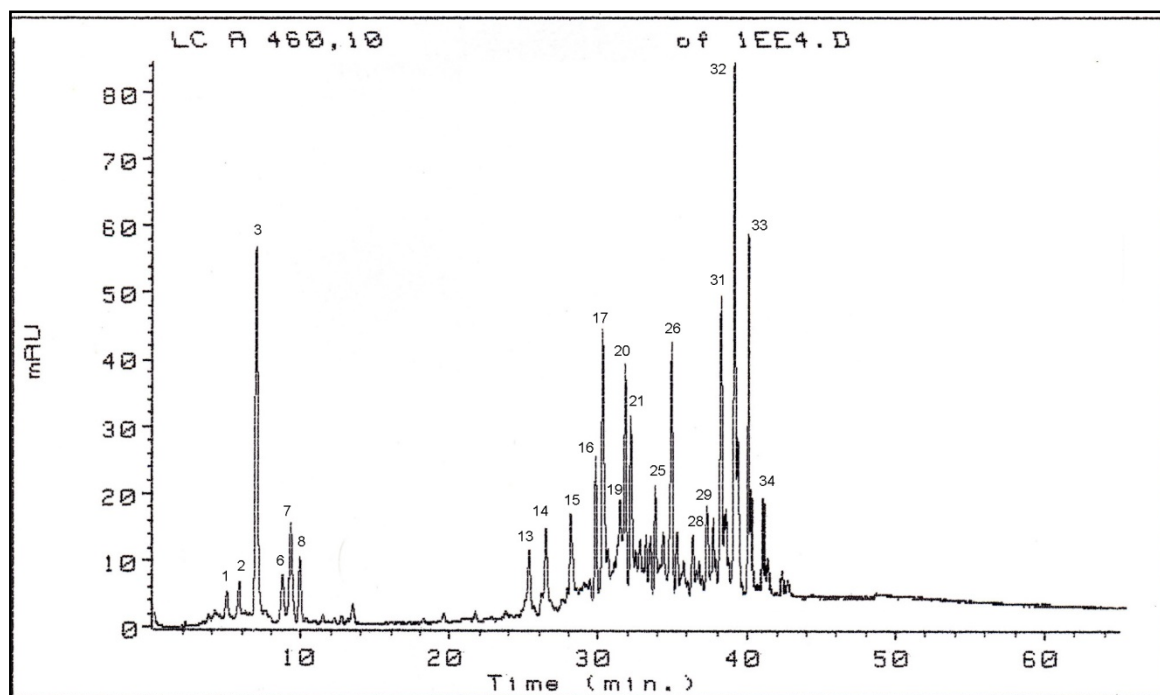




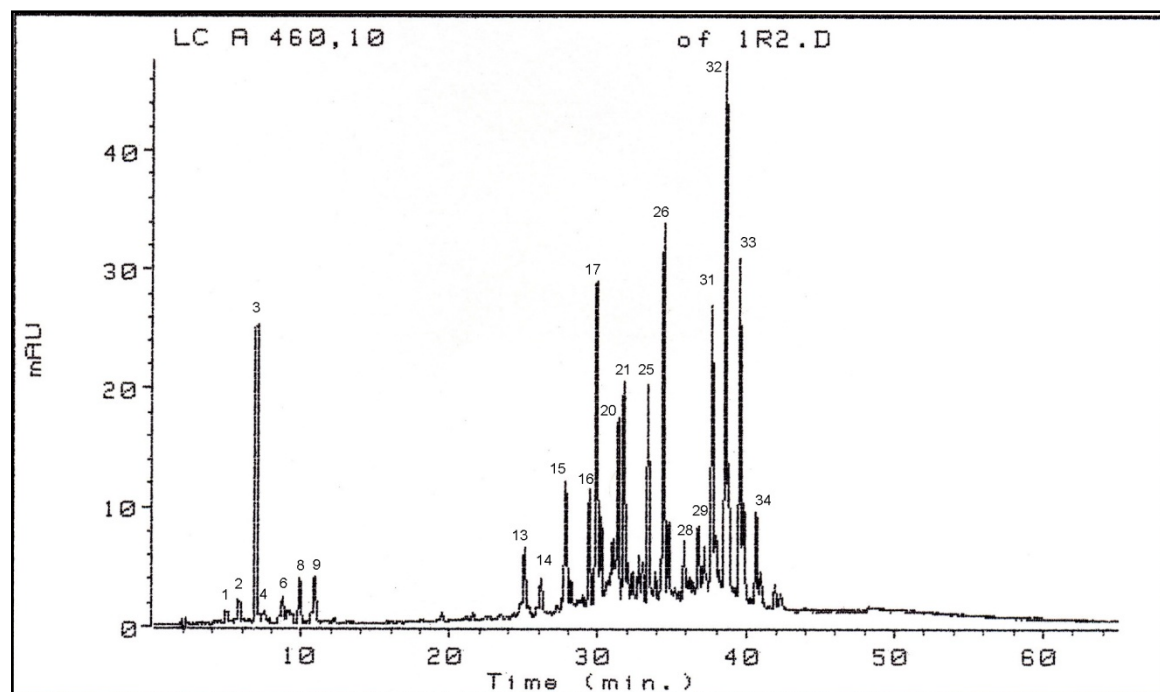
Slika 26. Hromatogram karotenoida ekstrahovanih iz zelene paprike (brojevi iznad pikova označavaju redni broj karotenoida u tabeli 8).



Slika 27. Hromatogram karotenoida ekstrahovanih iz braon paprike. Od pika 1 do pika 14 slobodni (nevezani) karotenoidi, od 15 do 25 monoesterifikovani karotenoidi i od 28 do 34 potpuno esterifikovani karotenoidi (brojevi iznad pikova označavaju redni broj karotenoida u tabeli 8).



Slika 28. Hromatogram karotenoida ekstrahovanih iz crvene paprike. Od pika 1 do pika 14 slobodni (nevezani) karotenoidi, od 15 do 25 monoesterifikovani karotenoidi i od 28 do 34 potpuno esterifikovani karotenoidi (brojevi iznad pikova označavaju redni broj karotenoida u tabeli 8).



Slika 29. Hromatogram karotenoida ekstrahovanih iz tamno crvene paprike. Od pika 1 do pika 14 slobodni (nevezani) karotenoidi, od 15 do 25 monoesterifikovani karotenoidi i od 28 do 34 potpuno esterifikovani karotenoidi (brojevi iznad pikova označavaju redni broj karotenoida u tabeli 8).

Prema Mínguez-Mosquera i Hornero-Méndez, (1994), Breithaupt i Schwack (2000) svaki od hromatograma (slike 26, 27, 28 i 29) se može podeliti na tri dela:

- **slobodni** (nesaponifikovani) karotenoidi koji imaju najmanja retencionna vremena i na hromatogramu se nalaze do dvadesetog minuta (pikovi 1-14 i pikovi 26 i 27 ( $\beta$ -karoten i *cis*- $\beta$ -karoten)),
- **delimično esterifikovani** odnosno karotenoidi koji su esterifikovani sa **jednom** masnom kiselinom. Na hromatogramu se nalaze posle slobodnih karotenoida a pre  $\beta$ -karotena (od pika 15 do pika 25) i
- **potpuno esterifikovani** karotenoidi odnosno karotenoidi esterifikovani sa **dve** masne kiseline. Na hromatogramu se nalaze iza  $\beta$ -karotena (od pika 28 do pika 34).

Rezultati spektrofotometrijskog određivanja pigmenata su indicirali, a hromatogrami (Slike 26, 27, 28 i 29) su potvrdili, da se sadržaj karotenoida povećava kako zrenje odmiče i kvalitativno (broj karotenoida, odnosno pikova na hromatogramu) tako kvantitativno (veličina odnosno površina pikova). Na hromatogramu karotenoida iz zelene paprike (Slika 26) uočavaju se samo pikovi sa niskim retencionim vremenima iz čega se može zaključiti da se karotenoidi nalaze u slobodnoj formi. Kod braon paprike uočava se pojava esterifikovanih formi karotenoida čiji se sadržaj povećava kako zrenje odmiče (Slika 27). Velika razlika u drugom i trećem delu hromatograma opaža se između braon i crvene paprike kada dolazi do intenzivne sinteze i esterifikacije ksantofila (Slika 27 i 28). Na prvi pogled hromatogrami karotenoida iz crvene i tamno crvene paprike (Slika 28 i 29) se ne razlikuju ali neophodno je napomenuti da je ekstrakt karotenoida tamno crvene paprike četiri puta razblažen kako bi se karotenoidi mogli lepo razdvojiti pa se nameće zaključak da se intenzivna sinteza karotenoida nastavlja i kod tamno crvene paprike (Slika 29).

Na osnovu retencionih vremena pojedinih pikova i spektara pikova, karotenoidi su podeljeni na žute i crvene, a iz površine pikova utvrđena je promena u sadržaju pomenute dve grupe karotenoida tokom sazrevanja začinske paprike koje je prikazana u tabeli 7.

**Tabela 7. Promena sadržaja karotenoida u plodu paprike tokom zrenja (mg/kg suve materije)**

Karotenoidi	Zelena <sup>a</sup>	Braon <sup>b</sup>	Crvena <sup>c</sup>	T. Crvena <sup>d</sup>
Žutih	357,0	305,1	963,6	2040,8
Crvenih	0,0	334,0	2004,4	5770,2
<b>Ukupno</b>	<b>357,0</b>	<b>639,2</b>	<b>2968,0</b>	<b>7810,9</b>

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju ( $\chi^2$  test,  $p < 0,05$ )

Na osnovu rezultata iz tabele 7 može se uočiti da najniži sadržaj karotenoida u plodu ima zelena paprika (357,0 mg/kg) a najveći tamno crvena paprika (7810,9 mg/kg) što predstavlja porast sadržaja karotenoida za 21,9 puta. Posmatrajući porast sadržaja karotenoida između susednih faza razvića paprike, porast između zelene i braon paprike bio je 1,79 puta, između braon i crvene 8,31 puta a od crvene do tamno crvene koncentracija karotenoida povećala se za 2,63 puta. Promene u sadržaju pojedinih karotenoida prikazane su u tabeli 8.

Tabela 8. Promena sadržaja pojedinih karotenoida u plodu paprike tokom zrenja (mg/kg)

RB	karotenoid	Zelena <sup>a</sup>	Braon <sup>b</sup>	Crvena <sup>c</sup>	T. Crvena <sup>d</sup>	boja	max. aps. (nm)	t <sub>R</sub> (min)
1	kapsorubin <sup>1</sup>		23,4	19,4	19,9	crven	446,470,480	<b>4,883</b>
2	violaksantin <sup>1</sup>	50,7	18,3	63,4	70,4	žut	421,442,473	<b>5,788</b>
3	kapsantin <sup>1</sup>		111,4	325,8	463,3	crven	(446),470,486	<b>6,928</b>
4	anteraksantin <sup>1</sup>	9,4	9,6		20,2	žut	422,445,472	<b>7,501</b>
5	?	7,2				žut		<b>8,128</b>
6	?		8,9	35,7	44,8	žut	(402),432,454,488	<b>8,678</b>
7	?		12,5	68,8		žut	<sup>(UV)</sup> ,___,464-2,486	<b>9,246</b>
8	zeaksantin <sup>1</sup>	28,2	20,6	60,2	71,3	žut	430,452,479	<b>9,895</b>
9	?		14,0	17,3	74,5	žut	(430),448,475	<b>10,665</b>
10	?		9,9	18,4		žut	(430),448,475	<b>11,740</b>
11	?	18,5				žut		<b>21,550</b>
11a	?	14,7				žut		<b>22,508</b>
12	?	219,3	129,7			žut		
13	?		6,6	66,1	127,2	žut	(434),452,476	<b>24,633</b>
14	?		6,2	52,5	50,2	žut	(434),452,476	<b>26,177</b>
15	Kapsorubin <sup>2</sup>		6,6	69,4	177,0	crven	(446),470,480	<b>27,802</b>
16	Kapsantin <sup>2</sup>		8,9	86,0	105,5	crven	(446),470,486	<b>29,450</b>
17	Kapsantin <sup>2</sup>		25,7	198,4	418,4	crven	___,474,(502)	<b>29,915</b>
18	Kapsantin <sup>2</sup>		15,6	43,9	92,9	crven	___,474,(502)	<b>30,244</b>
19	?		10,9	86,5	97,8	žut	<sup>(374)</sup> ,(434),456,486	<b>31,145</b>
20	Kapsantin <sup>2</sup>		15,5	151,0	206,1	crven	(446),470,502	<b>31,514</b>
21	Kapsantin <sup>2</sup>		6,3	142,6	318,4	crven	___,468,___	<b>31,850</b>
22	?	8,9				žut		<b>32,258</b>
23	?		1,2	28,0	42,4	žut	<sup>(UV)</sup> ,(408),430,454	<b>32,768</b>
24	?		2,8	36,3	44,3	žut	(430),456,___	<b>33,041</b>
25	?		10,2	71,1	224,7	žut	(428),450,475	<b>33,384</b>
26	β-karoten <sup>1</sup>		18,6	164,9	376,4	žut	(428),450,484	<b>34,442</b>
27	cis-β-karoten <sup>3</sup>		4,1	42,9	175,9	žut	<sup>(352,366)</sup> ,(422),450,484	<b>34,794</b>
28	Kapsorubin <sup>2</sup>		3,1	36,3	148,8	crven	<sup>UV</sup> ,___,460,480	<b>35,832</b>
29	Kapsantin <sup>2</sup>		14,5	67,6	277,4	crven	(444),474,502	<b>36,760</b>
30	Kapsorubin <sup>2</sup>		7,6	37,3	152,8	crven	<sup>UV</sup> , 434,454,484	<b>37,140</b>
31	Kapsantin <sup>2</sup>		25,8	186,4	764,5	crven	___,472,(500)	<b>37,677</b>
32	Kapsantin <sup>2</sup>		32,3	310,2	1272,1	crven	___,472,(500)	<b>38,551</b>
32a	Zeaksantin <sup>2</sup>		10,0	83,7	343,1	žut	<sup>(358)</sup> ,___,460,480	<b>38,762</b>
33	Kapsantin <sup>2</sup>		25,7	242,4	994,1	crven	___,472,(500)	<b>39,536</b>
33a	Zeaksantin <sup>2</sup>		10,9	67,7	277,8	žut	<sup>(358)</sup> ,___,460,480	<b>39,792</b>
34	Kapsantin <sup>2</sup>		11,4	87,6	359,1	crven	___,472,(500)	<b>40,664</b>

Identifikacija karotenoida: 1-na osnovu retencionog vremena i apsorpcionog spektra; 2-na osnovu apsorpcionog spektra; 3-na osnovu apsorpcionog spektra i literaturnih podataka

RB – redni broj jedinjenja

t<sub>R</sub> – retenciono vreme jedinjenja

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju ( $\chi^2$  test,  $p < 0,05$ )

Na osnovu hromatograma (Slike 21, 22, 23 i 24) i tabela 7 i 8 se zapaža da se sastav karotenoida zelene paprike znatno razlikuje od sastava karotenoida u ostalim fazama zrelosti paprike. Dominantni pigment kod zelene paprike bio je u ovom radu neidentifikovan pigment čije je učešće u sastavu karotenoida iznosilo čak 58,6% (Red 12, Tabela 8). Kod paprike braon boje u sastav karotenoida ulaze i mono- potpuno esterifikovani karotenoidi čime se smanjuje udeo slobodnih karotenoida u ukupnim karotenoidima paprike. Bez obzira na pojavu esterifikovanih karotenoida dominantan karotenoid perikarpa paprike braon boje bio je neidentifikovan karotenoid čiji je udeo bio 20,9% (Red 12, Tabela 8). Pored pomenutog neidentifikovanog karotenoida, kod paprike braon boje vrlo je značajna pojava kapsantina (Red 3, Tabela, 8) čiji je udeo iznosio 17,2% a zajedno ova dva karotenoida su činili 38,1% od ukupnih karotenoida. Kod crvene i tamno crvene paprike po udelu su se izdvajali slobodan kapsantin koji je činio 11,1% sastava karotenoida crvene paprike dok je kod tamno crvene paprike potpuno esterifikovan kapsantin (Red 32, Tabela 8) učestvovao sa 16,3% u ukupnoj masi karotenoida. Strukturne formule determinisanih karotenoida, prema redosledu kojim su „silazili“ sa HPLC kolone prikazani su na slici 30.

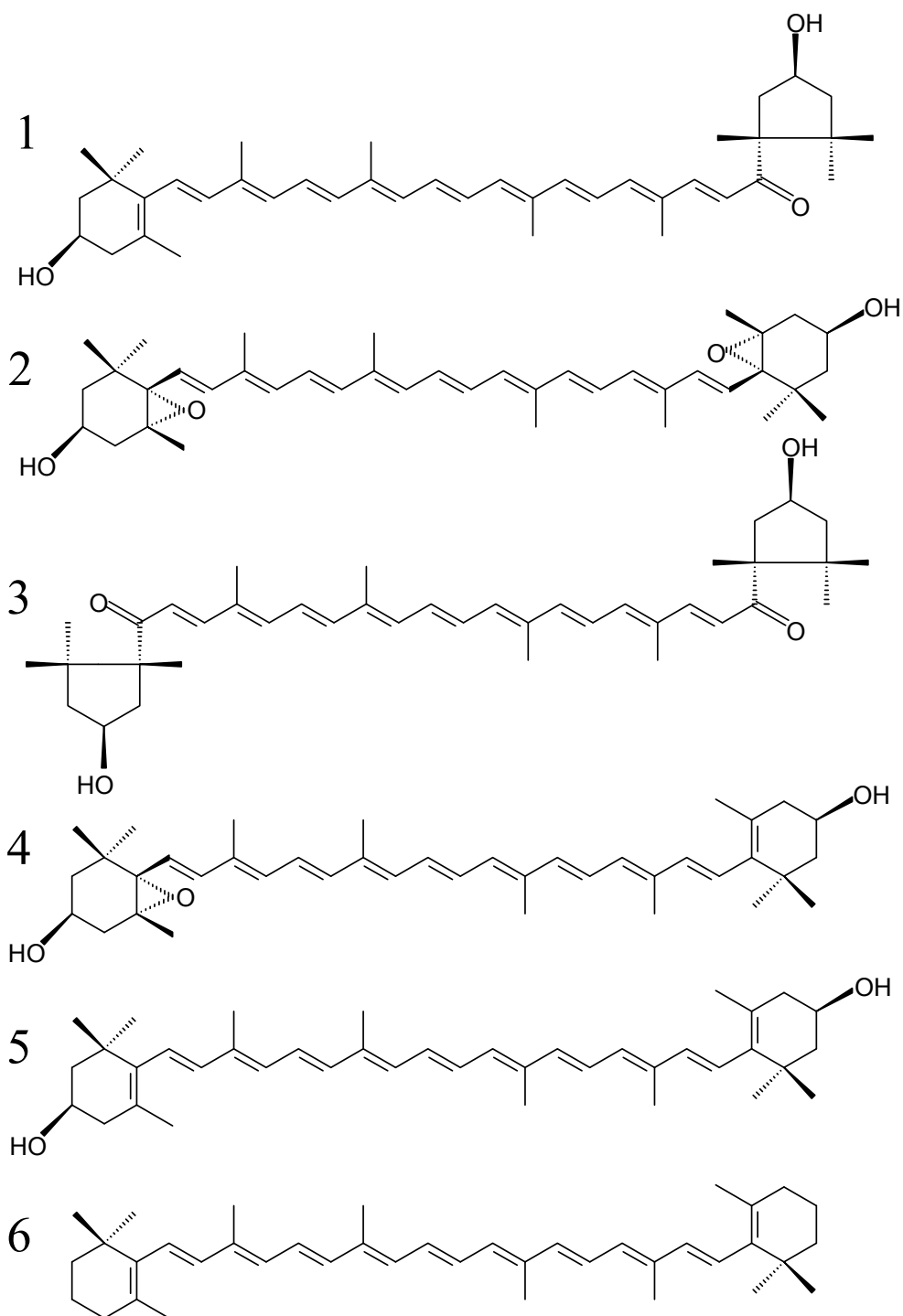
Udeo svih slobodnih karotenoida (od 1 do 14, Tabela 8) se smanjuje tokom sazrevanja paprike dok se procentualno učešće svih potpuno esterifikovanih karotenoida (od 28 do 34, Tabela 8) povećava. Svi monoesterifikovani karotenoidi (od 15 do 25, Tabela 8) osim karotenoida u 25 redu (Tabela 8) su svoje maksimalno procentualno učešće imali kod crvene paprike.

Ispitivanja masnih kiselina perikarpa paprike pokazala su da je 72% masnih kiselina nezasićeno (Breithaupt i Schwack, 2000). Pa ipak ispitivanje esterifikacije karotenoida u paprici sa masnim kiselinama pokazala su da se za diesterifikovani kapsantin vezuju laurinska (C12:0), miristinska (C14:0) i palmitinska (C16:0) kiselina. Vezivanje kapsantina za zasićene masne kiseline ukazuje na kontrolisane biohemijske procese esterifikacije koje imaju za posledicu smanjenje mogućnost oksidacije ovakvih jedinjenja. Ista istraživanja su pokazala da je esterifikacija kapsorubina i zeaksantina slična kao kod kapsantina (Biacs et al., 1989; Breithaupt i Schwack, 2000)

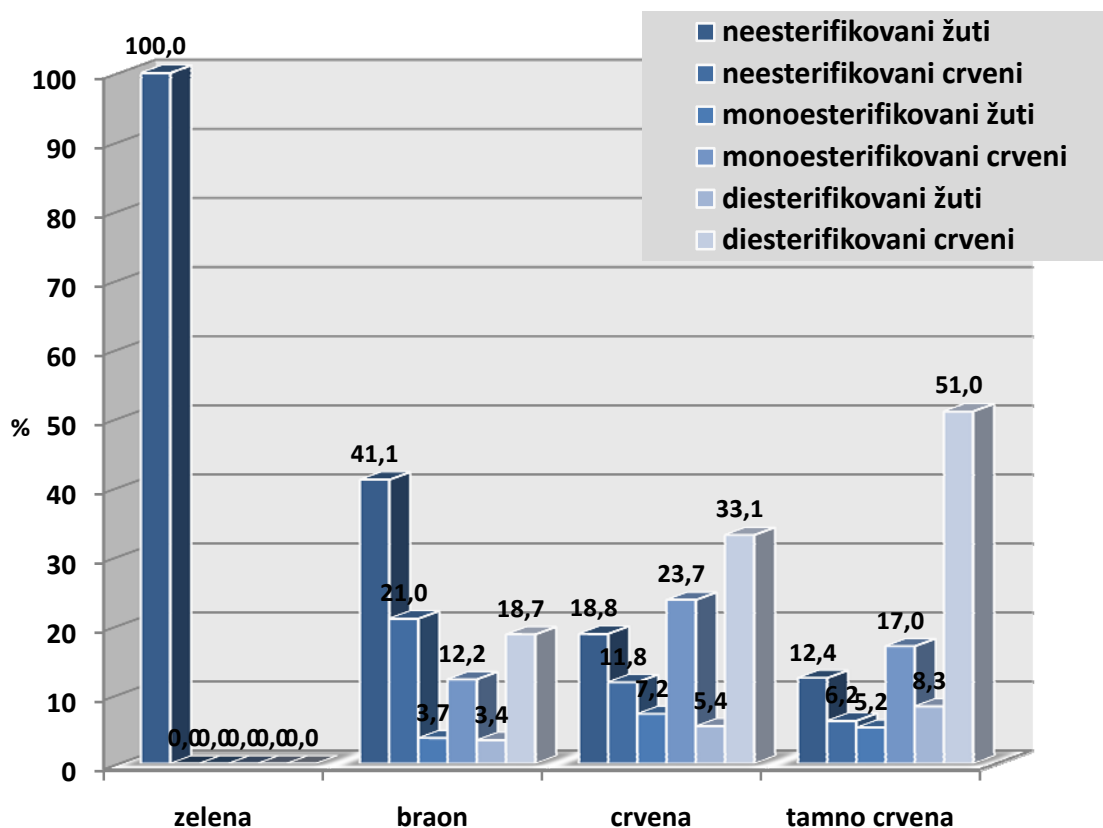
**Tabela 9. Promena učešća crvenih i žutih karotenoida u ukupnim karotenoidima tokom zrenja perikarpa začinske paprike (%).**

Karotenoidi	Zelena	Braon	Crvena	T. Crvena
<b>Žuti</b>	100,0	48,1	31,4	25,9
<b>Crveni</b>	0,0	51,9	68,6	74,1
<b>Crveni/žuti</b>	-	1,08	2,18	2,86

Iz tabele 9 jasno se može uočiti da su kod zelene paprike 100% pigmenata bili žute boje, kod braon paprike učešće žutih i crvenih karotenoida bilo je skoro jednako na šta ukazuje i odnos crvenih prema žutim koji je iznosio 1,08. Kod crvene paprike počinje dominacija crvenih karotenoida u odnose na žute (odnos crveni/žuti 2,18) a kod tamno crvene paprike dominacija crvenih karotenoida se povećava (odnos crveni/žuti 2,86).



Slika 30. Strukturne formule determinisanih karotenoida. 1 – kapsorubin, 2 – violaksantin, 3 – kapsantin, 4 – anteraksantin, 5 – zeaksantin, 6 –  $\beta$ -karoten.



Slika 31. Promena učešća crvenih i žutih karotenoida tokom zrenja začinske paprike u zavisnosti od stepena esterifikacije karotenoida (%).

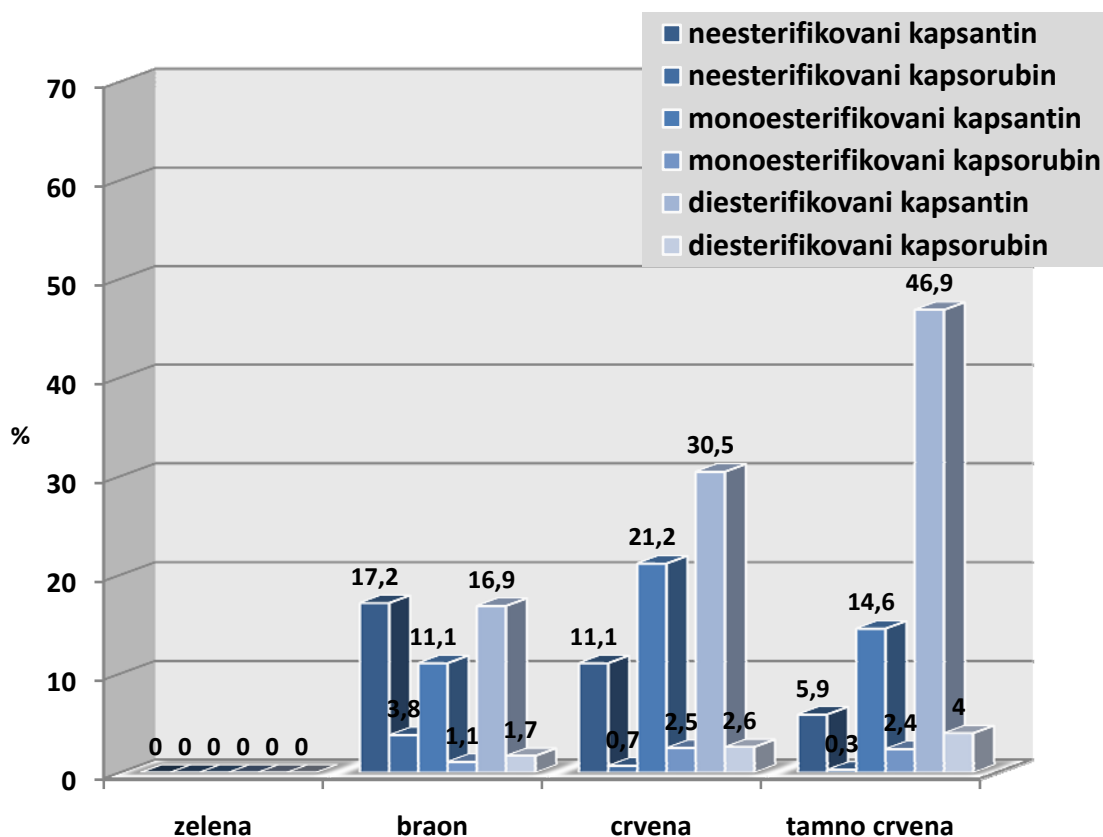
Posmatrajući dve velike grupe karotenoida crvene i žute, njihov stepen esterifikacije i stepen zrelosti ploda (Slika 26) uočava se da su neesterifikovani karotenoidi dominantniji kod začinske paprike nižeg stepena zrelosti, a naročito kod zelene paprike, kod koje su svi karotenoidi neesterifikovani. Kod braon paprike više od polovine karotenoida su neesterifikovani karotenoidi (62,1%) dok je kod crvene učešće neesterifikovanih karotenoida 30,6% da bi kod tamno crvene palo na 18,6%. Monoesterifikovani karotenoidi su najveći procentualni udeo imali kod crvene paprike gde su činili približno trećinu (30,9%) od prisutnih karotenoida. Udeo potpuno esterifikovanih karotenoida se povećavao kako je zrenje odmicalo pa je kod tamno crvene paprike udeo ove grupe karotenoida iznosio 59,3%.

Najveći udeo žutih karotenoida, kod paprike u svim grupama zrenja, bio je u grupi neesterifikovanih karotenoida (Slika 31). Takođe, jedino u pomenutoj grupi je udeo žutih karotenoida uvek bio veći od udela crvenih karotenoida, kapsantina i kapsorubina. Iako su žuti karotenoidi dominirali u grupi neesterifikovanih karotenoida, njihovo učešće se smanjivalo kako je zrenje odmicalo. Nasuprot neesterifikovanim žutim karotenoidima, mono i diesterifikovani žuti karotenoidi su imali najmanje učešće kod braon paprike. U grupama esterifikovanih karotenoida uvek su dominirali crveni pigmenti.

Iz tabele 10 se vidi da je učešće kapsantina bilo uvek veće u odnosu na učešće kapsorubina. Najveća dominacija kapsantina u odnosu na kapsorubin uočava se kod crvene paprike (10,8%) dok je najmanja uočena kod braon paprike (6,9%).

**Tabela 10. Promena učešća kapsantina i kapsorubina u ukupnim karotenoidima tokom zrenja začinske paprike (%).**

Karotenoidi	Zelena	Braon	Crvena	T. Crvena
<b>Kapsantin</b>	-	45,3	62,8	67,5
<b>Kapsorubin</b>	-	6,6	5,8	6,7
<b>Kapsantin/kapsorubin</b>	-	6,9	10,8	10,1

**Slika 32. Promena učešća kapsantina i kapsorubina tokom zrenja perikarpa začinske paprike u zavisnosti od stepena esterifikacije karotenoida (%).**

Slično kao u tabeli 10, i na slici 32 uočava se dominacija kapsantina u odnosu na kapsorubin bez obzira na stepen esterifikacije. Odnos kapsantina i kapsorubina raste kod neesterifikovanih i potpuno esterifikovanih karotenoida što ukazuje na povećanje učešća kapsantina u odnosu na kapsorubin. Nasuprot ovom, kod monoesterifikovanih karotenoida smanjuje se odnos kapsantina i kapsorubina.



### 4.1.1.3. Promene sastava etarskih ulja tokom zrenja začinske paprike

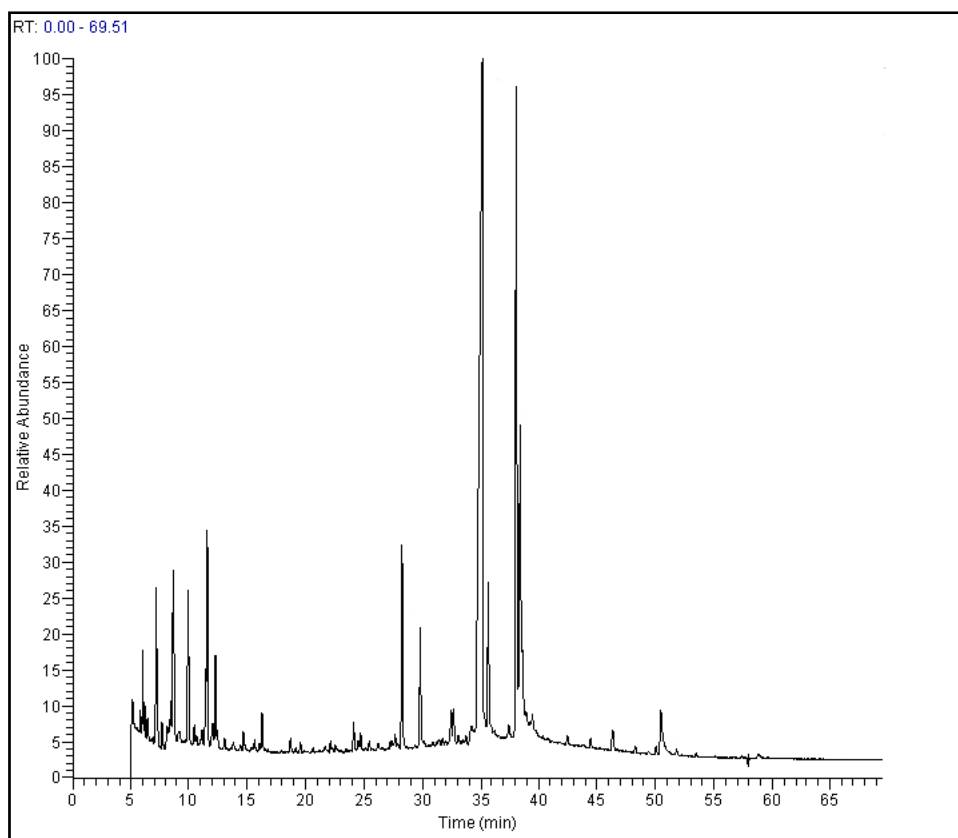
Značajne promene u hemijskom sastavu perikarpa tokom zrenja začinske paprike ukazuju da zrenje inicira niz biohemijskih procesa koji se odražavaju na promene senzornih svojstava ploda paprike koji se mogu opaziti vizuelno (boja) ili gustativno-oralno (sladak ukus). Pored toga dešavaju se intenzivne promene u sastavu sekundarnih biomolekula. Kako bi se pratile ove promene određen je sastav etarskih ulja perikarpa začinske paprike dobijenih destilacijom sa vodenom parom.

Saznanje da biljke imaju sposobnost da emituju aromatične materije u atmosferu poznata je od davnina. Otkriće gasovitog hormona etilena pre oko 70 godina pokazalo je da bar neke od emitovanih lako isparljivih jedinjenja imaju i fiziološku funkciju. Saznanja o pojavi i distribuciji lako isparljivih jedinjenja znatno su se unapredila poslednjih 15 godina i to najviše zahvaljujući razvoju i sve većoj pristupačnosti gasnih hromatografa sa masenim detektorom. Supstance koje su identifikovane kao isparljiva jedinjenja biljaka su uglavnom lipofilni produkti čija molekulska masa na prelazi 300. Većina pomenutih jedinjenja se može svrstati u klase, koje su nabrojane po zastupljenosti u opadajućem nizu: terpeni, masne kiseline i njihovi derivati zatim aromatična jedinjenja bilo da nastaju putem šikimske kiseline (fenilpropanidi) bilo acetogeninskim putem (benzidi) (Dudareva et al., 2004).

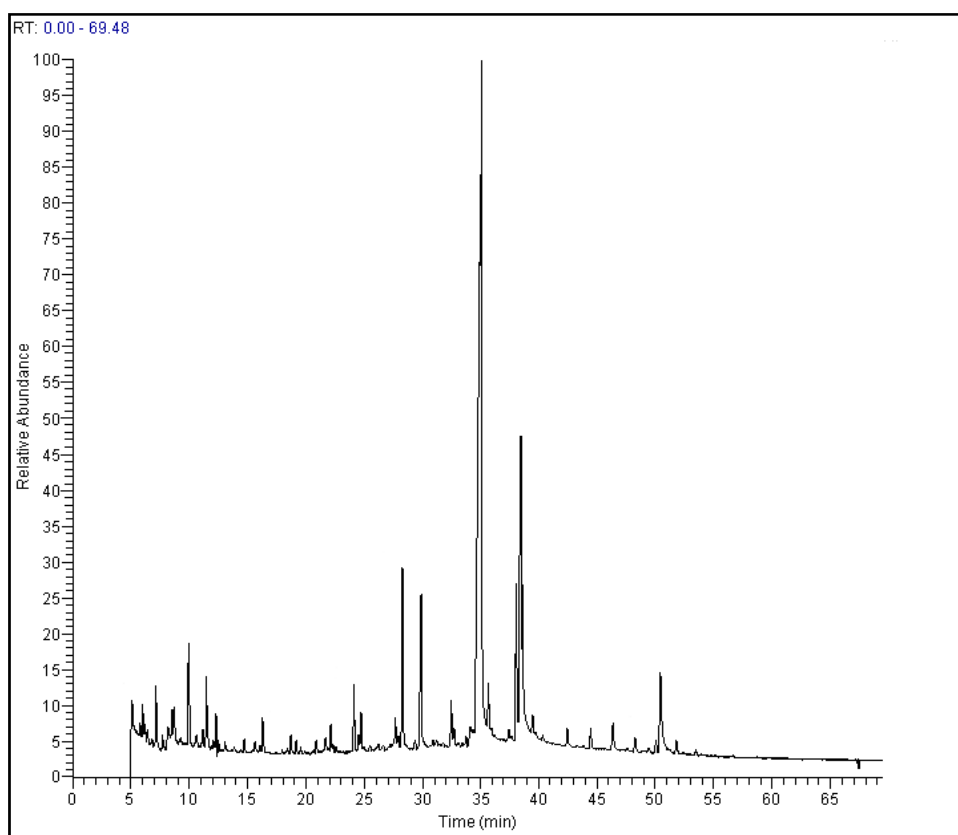
Otpuštanje lako isparljivih jedinjenja odvija se iz nadzemnih delova (Knudsen et al., 1993) ali i iz korena (Steeghs et al., 2004). Veliki napredak u ovoj oblasti ostvaren je otkrićem da biljke emituju znatno veću količinu i broj lako isparljivih supstanci nakon oštećenja i to ne samo sa mesta povrede (Pare i Tumlinson, 1999).

Primenom molekularnih i biohemijskih tehnika otvoren je nov pravac u istraživanjima lakoisparljivih supstanci. Zahvaljujući pomenutim metodama otkriven je veliki broj gena koji su zaduženi za kodiranje enzima zaduženih za biosintezu lako isparljivih supstanci.

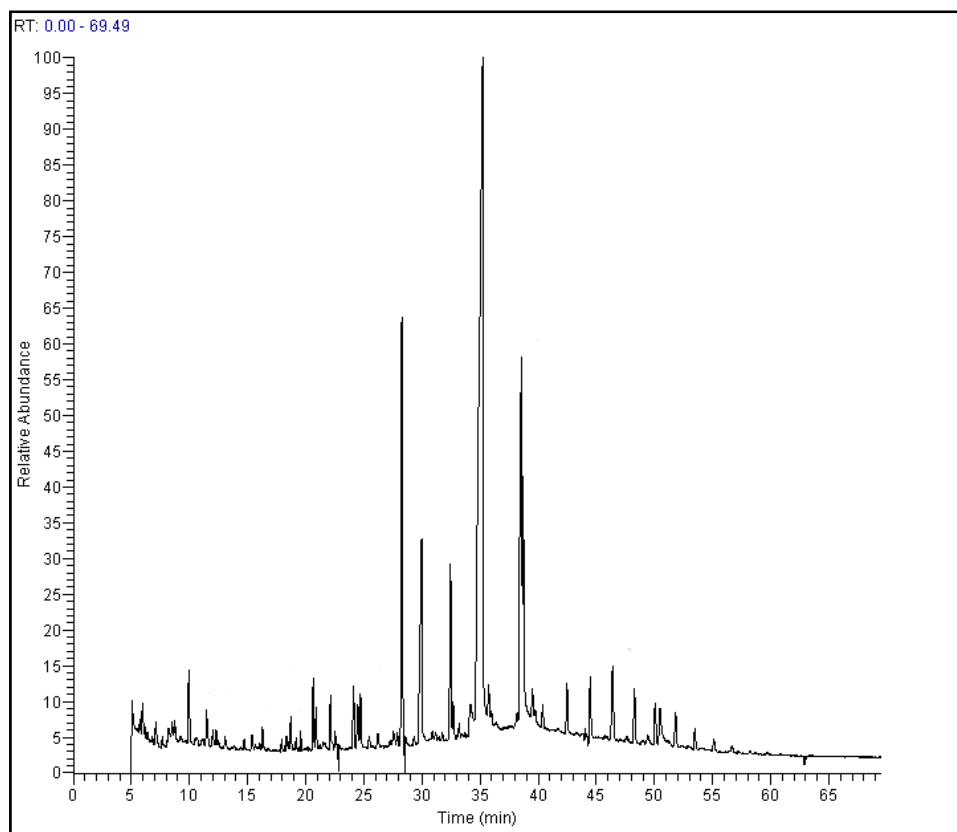
Hromatogrami etarskih ulja perikarpa začinske paprike u raznim fazama zrenja dobijenih na gasnom hromatografu sa masenim detektorom prikazani su na slikama 33, 34, 35 i 36.



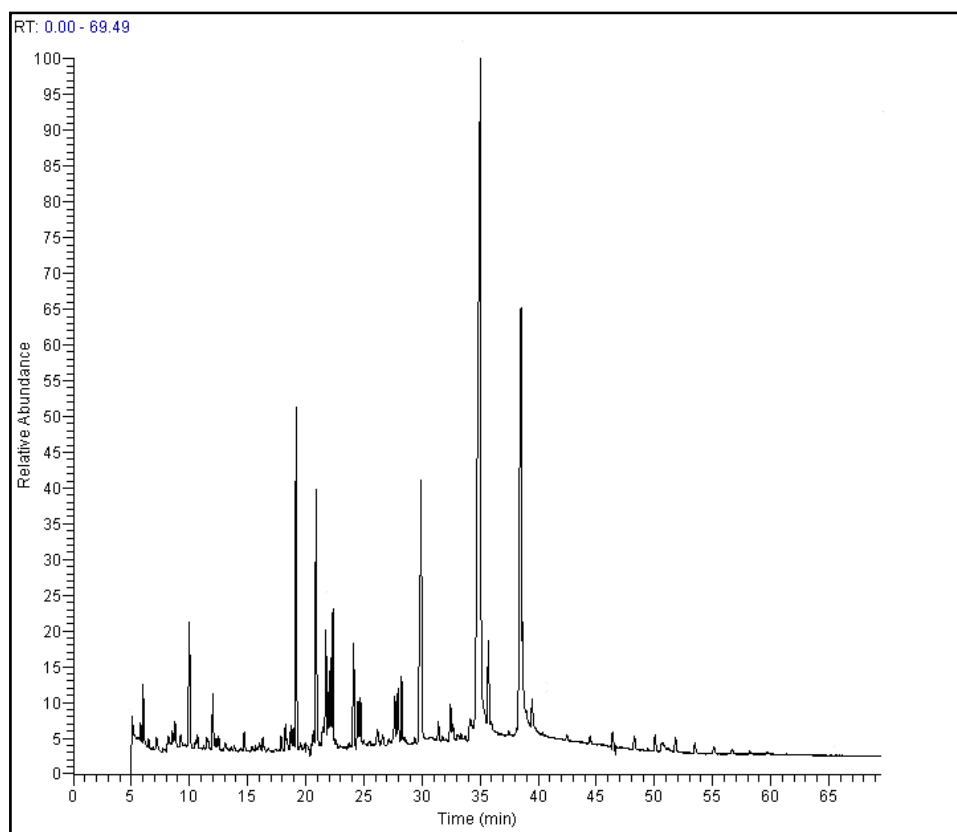
Slika 33. Hromatogram etarskih ulja dobijenih iz perikarpa zelene paprike.



Slika 34. Hromatogram etarskih ulja dobijenih iz perikarpa braon paprike.

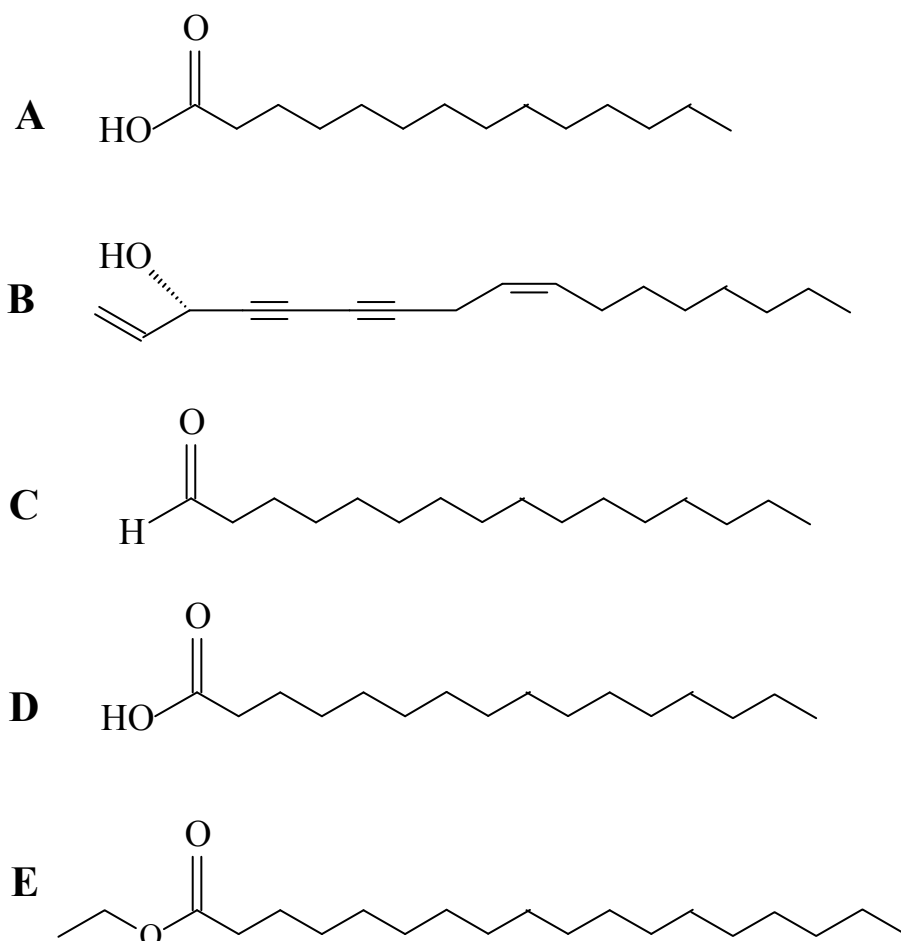


Slika 35. Hromatogram etarskih ulja dobijenih iz perikarpa crvene paprike.



Slika 36. Hromatogram etarskih ulja dobijenih iz perikarpa tamno crvene paprike.

Dominantni pikovi koji se javljaju na svim hromatogramima etarskih ulja (Slike 33, 34, 35 i 36) su: tetradekanska kiselina njen pik pratilac falkarinol, zatim heksadekan aldehyd, heksadekanska kiselina, metil-estar linolenske kiseline (Slika 37), i niz jedinjenja koji se javljaju posle 45. minute. Pored pomenutih dominantnih jedinjenja, karakteristično za hromatogram zelene paprike (slika 33) je niz jedinjenja koji imaju retenciona vremena manja od 13 min. Na hromatogramu braon paprike (slika 34) grupa jedinjenja koja je dominirala kod zelene paprike više nije karakteristična ali se sad javljaju jedinjenja između osamnaestog i dvadesetsedmog minuta. Kod crvene paprike (Slika 35) najuočljiviji je relativni porast jedinjenja koji imaju retenciona vremena veća od 40 min dok učešće jedinjenja od osamnaestog do dvadesetsedmog minuta ostaju na nivou braon paprike. Kod tamno crvene paprike (Slika 36) smanjuje se učešće jedinjenja posle 40-te minute ali zato značajno raste procentualno učešće jedinjenja od osamnaestog do dvadesetsedmog minuta. Determinacija pojedinih jedinjenja sa hromatograma etarskih ulja prikazana je u tabeli 11.



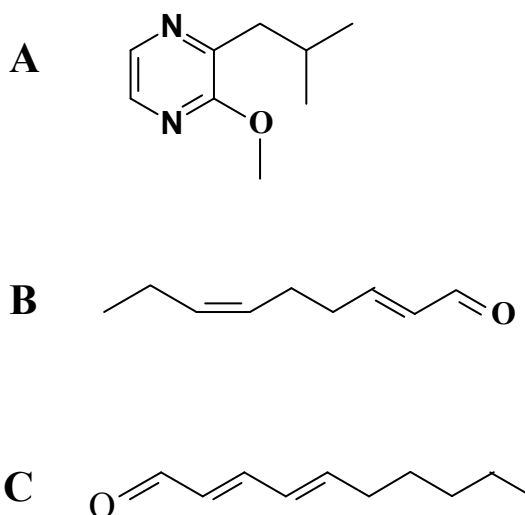
Slika 37. Dominantna jedinjenja etarskih ulja sveže paprike. A-tetradekanska kiselina, B- falkarinol, C-heksadekan aldehyd, D-heksadekanska kiselina i E-metil-estar linolenske kiseline.

Tabela 11. Relativni udeo determinisanih jedinjenja u etarskom ulju začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti,  $t_R$ -retenciono vreme.

Jedinjenje	Zelena	Braon	Crvena	T. Crvena	$t_R$ (min)
3-hepten-2-on			0,69	0,86	5,75
Benzaldehid	1,09	3,33	0,67	0,86	5,99
2-Pentilfuran	2,12	1,18	0,45		7,11
Undekan	0,28	0,32	0,15	0,15	7,68
<i>trans</i> -2-oktenal	0,76	1,73			8,49
$\alpha$ -pinen	2,90	1,57		0,32	8,68
Linalol (3,7-dimetil-1,6-oktadien-3-ol)	2,09	2,09	1,12	1,20	9,96
4-metil-1,5-heptadien	0,23	0,40	0,13	0,25	10,63
2,6-nonadienal	0,54	0,38	0,12		11,15
2-Nonenal	1,30	1,30	0,40	0,13	11,45
<i>cis</i> -6-Nonenal	3,16				11,57
<i>trans</i> -2-nonenal	0,57				12,07
2-metoksi-3-izobutilpirazin	1,63	1,46			12,29
$\alpha$ -terpineol			0,38		12,45
Dekanal			0,75		13,04
<i>cis</i> -geraniol	0,23	0,15	0,11	0,14	13,85
Geraniol	0,27	0,24	0,14	0,22	14,71
4-hidroksi-2-metilacetofenon			0,14	0,30	16,03
2,4-dekadienal	0,59	1,12	0,20	0,30	16,28
Borneol			0,10	0,22	17,90
Damascenon	0,11	0,15	0,18	0,12	18,41
Kopaen	0,27	0,36	0,56	0,45	18,70
$\beta$ -elemen				2,79	19,17
3-tetradecen	0,15	0,13	0,15	0,15	19,56
geranil aceton	0,10	0,25	0,71	0,64	20,65
7,8-epoksi- $\alpha$ -jonon			0,66	3,26	20,88
1-undekanol				1,06	21,70
2-tridekanon		0,47	0,65	1,09	22,13
propanska kiselina	0,15		0,22	0,17	22,55
2,6,8-trimetildekan			0,45	0,34	22,91
<i>trans</i> nerolidol	0,42	0,99	1,01	1,80	24,11
undekanska kiselina			1,04	1,39	24,50
(Z)-2,6,10-trimetil-1,5,9-undekatrien		1,22	0,85	0,81	24,71
tetradekanal	0,18	0,13	0,18	0,10	25,47
<i>trans</i> -Z- $\alpha$ -bisabolen epoksid				0,52	26,16
kariofilen oksid				0,20	26,56
10 Undekanal			1,00		27,55
<i>cis</i> -lanceol				0,73	27,66
2-dekanon			0,51	0,80	27,87
heksadekan aldehid	3,32	2,92	5,63	0,77	28,25
etil-estar laurinske kiseline				0,55	28,37

<b>Heksadekanska (palmitinska) kiselina</b>	2,24	4,09	5,80	7,20	<b>29,83</b>
<b>izopropilestar palmitinske kiseline</b>	0,48	0,96	0,33	0,81	<b>31,40</b>
<b>9,17-oktadekadial</b>	1,56	1,35	2,11	0,72	<b>32,44</b>
<b>1-heksadekanol</b>	0,62	0,50	0,92	1,00	<b>32,65</b>
<b>farnezil aceton</b>				0,44	<b>33,21</b>
<b>Z-9-tetradecenska (miristoleinska) kiselina</b>	0,52	0,85	0,78	0,58	<b>34,15</b>
<b>tetradekanska (miristinska) kiselina</b>	29,61	40,49	37,25	27,74	<b>35,12</b>
<b>Falkarinol</b>	2,11	0,61	0,64	1,71	<b>35,72</b>
<b>citronelol</b>	4,63	4,31			<b>38,09</b>
<b>metil-estar linoleinske kiseline</b>	13,36	13,20	7,41	9,23	<b>38,49</b>
<b>Z-9-oktadekansaka (oleinska) kiselina</b>	6,73				<b>38,61</b>
<b>9-oktadekanal</b>	0,34		1,69	1,98	<b>38,62</b>
<b>farnezol</b>	0,57	0,38	0,57	0,67	<b>39,48</b>
<b>farnezan</b>			0,63		<b>42,46</b>
<b>oktil-estar 10-undekanske kiseline</b>			0,35		<b>43,88</b>
<b>2,5,9 - trimetildekan</b>				0,99	<b>44,27</b>
<b>heptakosan</b>			0,72	0,35	<b>44,46</b>
<b>2,2,3,4-tetrametilpentan</b>				0,55	<b>45,19</b>
<b>diizooktil-estar ftalne kiseline</b>				0,64	<b>46,25</b>
<b>eikosan</b>	0,67	0,58	1,88	0,75	<b>46,38</b>
<b>amid oleinske kiseline</b>	2,44	2,06	1,89	2,19	<b>50,44</b>

I drugi autori su identifikovali veliki broj jedinjenja u svežoj slatkoj (Luning et al., 1994) i ljutoj paprici (Pino et al., 2006; Conforti et al., 2007). Međutim, još 1969 godine su BATTERY et al. pokazali da u sastav aromatskih materija sveže paprike tipa babura ulaze 2-metoksi-3-izobutilpirazin, 2,6-nonadienal i dekadial i da pomenuta jedinjenja imaju karakterističan miris za svežu papriku (Slika 38). Vrlo bitna osobina ovih jedinjenja je da pri niskim koncentracijama imaju jasnu aromu. Chitwood et al. (1983) je u istraživanjima na tri sorte paprike doveo u korelaciju odnos 2-izobutil-3-metoksipirazin, 2-sec-butil-3-metoksipirazin i 3-heksanol sa senzornom ocenom arome zelene paprike. Wu i Liou (1986) su utvrdili da oštećenje tkiva povećava prisustvo isparljivih nezasićenih C<sub>6</sub> aldehida i alkohola. Neka od ovih jedinjenja se senzorski vezuju za zelene biljke (Dravnieks, 1985). S tim u vezi pomenuti aldehidi i alkoholi mogu imati važnu ulogu u aromi zelenih paprika tipa babura (Luning et al., 1994).



Slika 38. Jedinjenja karakteristična za karakterističnu aromu svežih plodova paprike (Buttery et al., 1969). A-2-metoksi-3-izobutilpirazin, B-2,6-nonadienal i C-dekadienal

Iz tabele 11 može se uočiti da sastav etarskih ulja zavisi od faze zrelosti paprike. Posmatrajući stepen zrelosti jedinjenja iz tabele 11 se mogu podeliti u nekoliko grupa:

- prisutna **tokom celog perioda** zrenja kao naprimer benzaldehid, linalol...
- prisutna u **početnim fazama** zrenja a zatim u kasnijim fazama iščezavaju naprimer *trans* 2-oktenal, 2-metoksi-3-izobutilpirazin...
- jedinjenja koja se javljaju u **kasnijim fazama** zrelosti naprimer 3-hepten-2-on, borneol, 2-dekanon...

Radi lakšeg sagledavanja promena koja nastaju tokom zrenja začinske paprike determinisana jedinjenja koje čine etarska ulja paprike su podeljena u sledeće grupe:

- Ugljovodonici
- Aldehidi
- Ketoni
- Alkoholi
- Kiseline
- Estri
- Terpeni
- Ostala jedinjenja

#### 4.1.1.3.1. Ugljovodonici

Ugljovodonici koji se nalaze u sastavu etarskih ulja paprike prikazani su u tabeli 12. Osobina ove grupe jedinjenja je da u malim koncentracijama imaju vrlo izražene aromatične karakteristike.

**Tabela 12. Relativni udeo ugljovodonika u etarskom ulju začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti,  $t_R$ -retenciono vreme.**

Ugljovodonik	Zelena	Braon	Crvena	T. Crvena	$t_R$ (min)
undekan (C11, linearan)	0,28	0,32	0,15	0,15	<b>7,68</b>
4-metil-1,5-heptadien (C8, račvast)	0,23	0,40	0,13	0,25	<b>10,63</b>
3-tetradecen (C14, linearan)	0,15	0,13	0,15	0,15	<b>19,56</b>
2,6,8-trimetil-dekan (C13, račvast)			0,45	0,34	<b>22,91</b>
(Z)-2,6,10-trimetil-1,5,9-undekatrien (C14, račvast)		1,22	0,85	0,81	<b>24,71</b>
2,5,9-trimetildekan (C13, račvast)				0,99	<b>44,27</b>
2,2,3,4-tetrametilpentan (C9, račvast)				0,55	<b>45,19</b>

Za ugljovodonike koji se nalaze u etarskom ulju sveže začinske paprike (Tabela 12) može se uočiti da se jedinjenja sa ravnim nizom C atoma javljaju u svim fazama zrelosti, dok se račvasti ugljovodonici pojavljuju u kasnijim fazama zrelosti. Relativni udeo determinisanih ugljovodonika bio je relativno mali, najčešće ispod 0,5%. Jedinjenje sa najvećim relativnim udelom bio je (Z)-2,6,10-trimetil-1,5,9-undekatrien a njegov udeo iznosio je 1,22%.

Conforti et al. (2007) su analizom etarskog ulja ljute paprike utvrdili prisustvo undekana i tetradekana, ugljovodonika sa ravnim nizom C atoma. U sastavu etarskog ulja suve paprike pronađen je i trimetildekan i to sa metil grupama sa 2,2,8 rasporedom (Kocsis et al., 2001). U ugljovodonike spadaju i terpeni, grupa jedinjenja o kojoj će biti reči kasnije.

#### 4.1.1.3.2. Aldehidi

Aldehidi koji su ulazili u sastav etarskih ulja paprike prikazani su u tabeli 13. Ovoj grupi jedinjenja pripada heksadekanal, dominantno jedinjenje koje se javlja u svim fazama zrenja perikarpa paprike i dva jedinjenja odgovorna za aromu zelene paprike 2,6-nonadienal i dekadienal (Buttery et al., 1969) (Tabela 13).

Posmatrajući podelu jedinjenja u odnosu na zrenje, *trans*-2-oktenal, 2,6-nonadienal, *cis*-6 nonadienal, *trans*-2-nonenal su aldehidi koji su prisutni samo u ranim fazama zrenja. Dekanal i undekanal su ulazili u sastav etarskih ulja samo crvene paprike, dok su ostali aldehidi bili prisutni u svim fazama zrelosti. Iz ove zadnje grupe izdvaja se 9-oktadienal, koji nije ulazio u sastav etarskog ulja perikarpa paprike u braon fazi zrenja (Tabela 13).



**Tabela 13. Relativni udeo aldehida u etarskom ulju začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti,  $t_R$ -retenciono vreme.**

Jedinjenje	Zelena	Braon	Crvena	T. Crvena	$t_R$ (min)
benzaldehyd	1,09	3,33	0,67	0,86	5,99
<i>trans</i> -2-oktenal	0,76	1,73			8,49
2,6-nonadienal	0,54	0,38	0,12		11,15
2-nonenal	1,30	1,30	0,40	0,13	11,45
<i>cis</i> -6-nonenal	3,16				11,57
<i>trans</i> -2-nonenal	0,57				12,07
dekanal			0,40		13,04
2,4-dekadienal	0,59	1,12	0,20	0,30	16,28
tetradekanal (miristol aldehyd)	0,18	0,13	0,18	0,10	25,47
10-undekanal			1,00		27,55
heksadekanal	3,32	2,92	5,63	0,77	28,25
9,17-oktadekadienal	1,56	1,35	2,11	0,72	32,44
9-oktadecenal	0,34		1,69	1,98	38,62

Nakamura et al. (1999) su takođe uočili prisustvo benzaldehida u tradicionalnoj sorti japanske paprike dok je Luning et al. (1994) utvrdila prisustvo ovog aldehida u svim ispitanim fazama zrenja kod dve sorte paprike tipa babura. Za razliku od dobijenih rezultata prikazanih u tabeli 15 gde se jasno uočava da se sa zrenjem smanjuje koncentracija *trans*-2-oktenala, Luning et al. (1994) su ispitujući etarska ulja svežih babura paprika ustanovili prisustvo pomenutog jedinjenja u zelenoj i crvenoj fazi zrenja, a u drugoj sorti samo prelaznoj fazi, koja se nalazi između zelene i crvene. Takođe, isti autor je utvrdio prisustvo 2,6-nonadienala u zelenoj i crvenoj fazi, ali ne u prelaznoj, dok u drugoj sorti babura paprika nije utvrđeno prisustvo 2,6-nonadienala. Pino et al. (2006) su utvrdili da 2-nonenal iščezava u čili paprici a rezultati iz tabele 15 pokazuju prisustvo pomenutog jedinjenja u svim fazama zrelosti. *Trans*-2-nonenal je identifikovan u paprici babura tipa (Luning et al., 1995a). Prema Luning et al. (1994) prisustvo dekanala zavisi od sorte pa je tako u jednoj sorti babura paprika uočeno prisustvo dekanala u zelenoj i prelaznoj fazi dok kod druge sorte pomenuti aldehyd nije ulazio u sastav etarskog ulja.

U dobijenim rezultatima (Tabela 13) 2,4-dekadienal je ulazio u sastav etarskih ulja u svim fazama zrenja, kao i kod čili paprike (Pino et al., 2006) dok je u ljutoj paprici iz Italije ovo jedinjenje uočeno samo u neformiranim zelenim plodovima (Conforti et al., 2007). Tetradekanal u ljutoj paprici je identifikovan u zelenim neformiranim i zrelim plodovima (Conforti et al., 2007), u čili paprici samo u kasnijoj fazi zrelosti (Pino et al., 2006) dok je u dobijenim rezultatima (Tabela 13) tetradekanal bio u sastavu etarskog ulja u svim fazama zrelosti.

Undekanal je ulazio u sastav etarskog ulja crvene paprike (Tabela 13), neformiranih plodova ljute paprike (Conforti et al., 2007) a nije uočen u dve sorte babura (Luning et al., 1994) niti u čili paprici. Nasuprot undekanal, heksadekanal je uočen u obe ispitane faze zrelosti čili paprike (Pino et al., 2006).

Jedan od mogućih puteva biosinteze aldehida je aktivnost NADP/NAD-zavisnih oksidoreduktaza. Ovi enzimi imaju važnu ulogu u interkonverziji lako isparljivih alkohola u aldehide. Ovi enzimi nisu specifični pa se njima mogla objasniti konverzija terpenkih alkohola kao što je na primer geraniol u aldehide (Hallahan et al., 1995; Bouwmeester et al., 1998). Novonastali geranial i neral koji nastaju zajedno oksidacijom geraniola i nerola nađeni su u mnogim biljkama i imaju aromu limuna.

#### 4.1.1.3.3. Keton

Ketoni koji su ulazili u sastav etarskih ulja sveže paprike prikazani su u tabeli 14. Karakteristično za ketone je da u sastav etarskih ulja ispitane začinske paprike ulaze u kasnijim faza zrenja. Osim 2-tridekanona, ostali ketoni su detektovani u fazi crvene i tamno crvene boje perikarpa. Svi detektovani ketoni povećavali su relativni udeo tokom sazrevanja ploda paprike.

**Tabela 14. Relativni udeo ketona u etarskom ulju začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti,  $t_R$ -retenciono vreme.**

Keton	Zelena	Braon	Crvena	T. Crvena	$t_R$ (min)
3-hepten-2-on			0,69	0,86	<b>5,75</b>
2-tridekanon		0,47	0,65	1,09	<b>22,13</b>
2-dekanon			0,51	0,80	<b>27,87</b>

3-hepten-2-on, koji je prema dobijenim rezultatima bio prisutan u fazama odmakle zrelosti, u čili paprikama se nalazio u zelenoj fazi (Pino et al., 2006), dok u baburama (Luning et al., 1994, 1995a) i ljutim paprikama (Conforti et al., 2007) nije utvrđeno njegovo prisustvo. Prisustvo 2-dekanona je uočeno u suvoj mlevenoj paprici (Lee et al., 2004).

#### 4.1.1.3.4. Alkoholi

Alkoholi koji su ulazili u sastav etarskih ulja paprike prikazani su u tabeli 17. Od ukupno determinisana dva alkohola, 1-heksadekanol je prisutan u svim fazama zrelosti dok se jedinjenje 1-undekanol nalazio samo kod tamno crvene paprike (Tabela 17).

**Tabela 15. Relativni udeo alkohola u etarskom ulju začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti,  $t_R$ -retenciono vreme.**

Alkoholi	Zelena	Braon	Crvena	T. Crvena	$t_R$ (min)
1- undekanol				1,06	<b>21,70</b>
1- heksadekanol	0,62	0,50	0,92	1,00	<b>32,65</b>

Autori koji su ispitivali lakoisparljiva jedinjenja sveže paprike identifikovali su prisustvo alkohola. U svežoj paprici je determinisan širok spektar alkohola od 2-butanol, pentanol,

heksenol, do 3,3-dimetilcikoheksanol i oktedekanol (Luning et al., 1994, 1995a; Pino et al., 2006). Alkoholi iz tabele 15, 1-undekanol i 1-heksadekanol su identifikovani u etarskom ulju suve mlevene paprike dobijenom destilacijom vodenom parom (Kocsis et al., 2002, 2003). Na osnovu iznetih literaturnih podataka može se pretpostaviti da spektar alkohola koji će biti pronađeni zavisi od načina ekstrakcije, pa tako autori koji analizu vrše *headspace* tehnikom identifikuju lakše isparljive alkohole (Luning et al., 1994, 1995a), dok autori koji aromatske materije ekstrahuju destilacijom sa vodenom parom pronalaze teže isparljive alkohole (Kocsis et al., 2002, 2003).

Nastanak lako isparljivih alkohola je sličan kao kod aldehida. Nespecifične oksidoreduktaze mogu konvertovati aldehide sa kratkim lancima, naprimer heksanal i 3-*cis*-heksenol u heksanol i 3-*cis*-heksanol, alkohole koji se nalaze u biljnim tkivima nakon oštećenja (Bate et al., 1998).

#### 4.1.1.3.5. Kiseline

Kiseline koji su ulazile u sastav etarskih ulja paprike prikazane su u tabeli 16. Najdominantnije jedinjenje u svim hromatogramima, tetradekanska kiselina spada u ovu grupu jedinjenja. Njen relativni udeo bio je najveći kod braon paprike kada je iznosio čak 40,49%. Pored tetradekanske kiseline vrlo zastupljeno jedinjenje u svim hromatogramima bila je i heksadekanska kiselina. Pored pomenute dve i Z-9-tetradecenska kiselina je bila prisutna u svim fazama zrenja, dok se undekanska kiselina javila samo u kasnijim fazama zrelosti (Tabela 16).

**Tabela 16. Relativni udeo kiselina u etarskom ulju začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti,  $t_R$ -retenciono vreme.**

Kiselina	Zelena	Braon	Crvena	T. Crvena	$t_R$ (min)
propanska kiselina	0,15		0,22	0,17	<b>22,55</b>
undekanska kiselina			1,04	1,39	<b>24,50</b>
Heksadekanska (palmitinska) kiselina	2,24	4,09	5,80	7,20	<b>29,83</b>
Z-9-tetradecenska (miristoleinska) kiselina	0,52	0,85	0,78	0,58	<b>34,15</b>
tetradekanska (miristinska) kiselina	29,61	40,49	37,25	27,74	<b>35,12</b>
Z-9-oktadekanska (oleinska) kiselina	6,73				<b>38,61</b>

Heksadekanska kiselina je bila jedan od najdominantnijih jedinjenja etarskog ulja i kod sveže čili paprike (Pino et al., 2006), dok se kod ljute paprike nalazila samo u zelenim plodovima (Conforti et al., 2007). Kod čili paprike tetradekanska kiselina je uočena u svim fazama zrelosti, dok u ljutoj paprici (Conforti et al., 2007) i baburi (Luning et al., 1994, 1995a) nije bila prisutna. Oleinska kiselina je uočena samo u ljutoj paprici i to u potpuno formiranom zelenom plodu (Conforti et al., 2007). Propanska kiselina je identifikovana u mlevenoj paprici poreklom iz Španije (Mateo et al., 1997)

#### 4.1.1.3.6. Estri

Estri koji su ulazili u sastav etarskih ulja paprike prikazani su u tabeli 17. U sastav ove grupe jedinjenja ulazilo je dominantno jedinjenje metilestar-linoleinske kiseline, čija je koncentracija u ranim fazama razvića ploda paprike iznosila preko 13%. Dva estra, među kojima je pomenuti metil-estar linoleinske kiseline i izopropil-estar palmitinske kiseline, bila su prisutna u etarskom ulju tokom svih posmatranih faza zrenja. Ostala tri estra su bila prisutna u kasnijim fazama zrenja.

**Tabela 17. Relativni udeo estara u etarskom ulju začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti,  $t_R$ -retenciono vreme.**

Estar	Zelena	Braon	Crvena	T. Crvena	$t_R$ (min)
dodecil-etanoat etil-estar laurinske kiseline				0,55	<b>28,37</b>
heksadecil-2-metiletanoat izopropilestar palmitinske kiseline	0,48	0,96	0,33	0,81	<b>31,40</b>
metil-estar linoleinske (oktadekanske) kiseline	13,36	13,20	7,41	9,23	<b>38,49</b>
oktil-estar 10-undekanske kiseline			0,35		<b>43,88</b>
diizooktil-estar ftalne kiseline				0,64	<b>46,25</b>

U svežoj paprici utvrđeno je prisustvo estra oktanolske i benzoeve kiseline u čili (Pino et al., 2006), estara nonanonske, miristinske, oleinske, pentadekanske, palmitoleinske, palmitinske, margarinske, stearinske, nonadekanske, izokosanske, henikosanske, dokosanske i trikosanske kiseline u ljutoj paprici (Conforti et al., 2007), dok u paprici tipa babura nije uočeno prisustvo estara (Luning et al., 1994, 1995a). Destilacijom vodenom parom mlevene mađarske začinske paprike u etarskom ulju identifikovano je prisustvo metil- i etil-estara benzoeve, dodekanske, tetradekanske, pentadekanske, heksadekanske, heptadekanske, oktadekanske kiseline (Kocsis et al., 2002, 2003).

#### 4.1.1.3.7. Terpeni

Terpeni su najveća grupa sekundarnih metabolita biljaka koja ima veliki broj volatilnih predstavnika. Osnovni put biosinteze lako isparljivih terpena se odvija u tri faze: formiranje osnovnih gradivnih  $C_5$  jedinica, kondenzacija dve ili tri  $C_5$  jedinice pri čemu se formiraju  $C_{10}$ ,  $C_{15}$  ili  $C_{20}$  prenildifosfati, i zatim konverzija dobijenih prenildifosfata u krajnja jedinjenja.

Formiranje osnovnih gradivnih  $C_5$  jedinica, izopentenil-difosfata (IPP) i dimetilalil-difosfata (DMAPP) se odvija preko dva alternativna puta: odavno poznati mevalonatni put od acetilkoenzima A i preko metileritrol fosfatnog puta od piruvata i gliceraldehid-3-fosfata koji je otkriven u poslednjih 10 godina (Rodrigeuz-Concepcion i Boronat, 2002). Pretpostavlja se da metileritrol-fosfatni put, koji se odvija u plastidima obezbeđuje IPP i DMAPP za hemiterpene i diterpene dok mevalonatni put koji se odvija u citosolu obezbeđuje pomenuta jedinjenja za biosintezu mono i seskviterpena (Dudareva et al., 2004). Međutim vrlo je aktivna i

metabolička veza između ova dva puta (Schuhr et al., 2003), naročito u smeru od plastida prema citosolu (Laule et al., 2003).

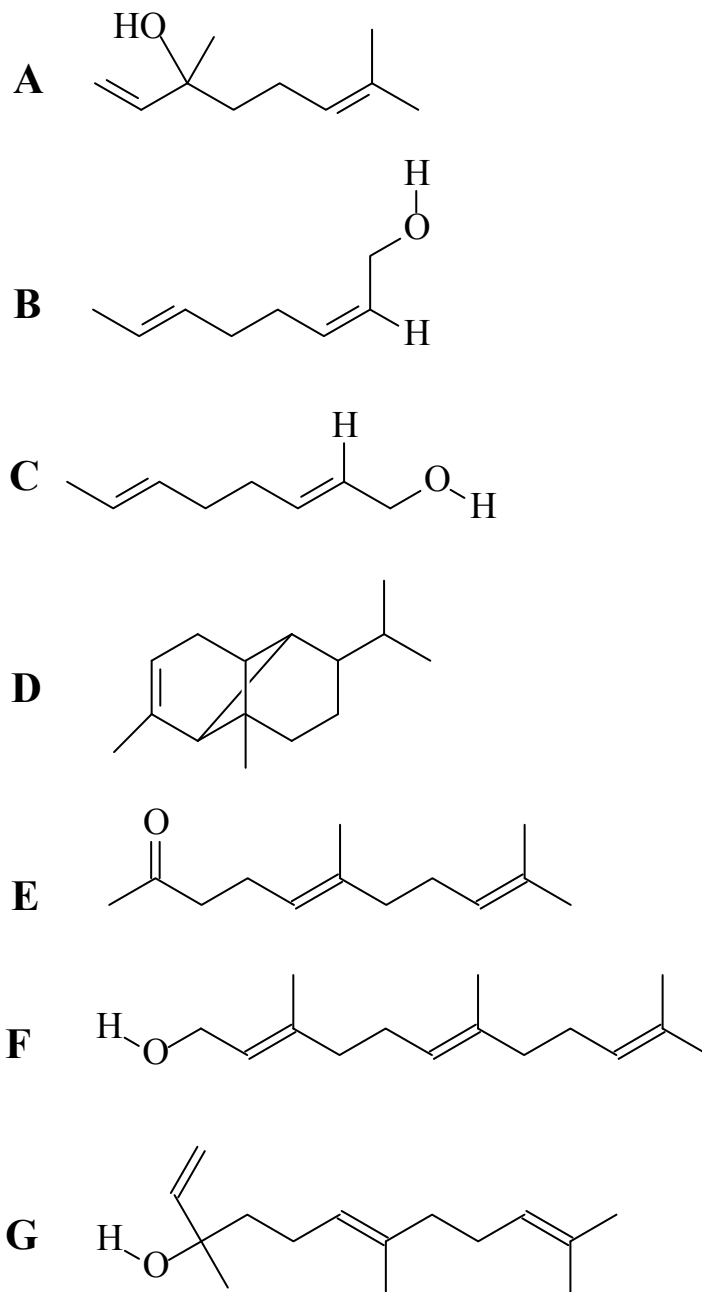
U drugoj fazi biosinteze terpena, IPP i DMAPP formiraju geranildifosfat (GPP), farnezil difosfat (FPP) i geranilgeranildifosfat (GGPP), prekursore monoterpena, seskviterpena i diterpena. Ove reakcije su katalizovane prenilttransferazama (Koyama i Ogura, 1999; Liang et al., 2002). Treća faza biosinteze lako isparljivih terpena podrazumeva konverziju različitih prenilt difosfata, DMAPP (C5), GPP (C10), FPP (C15) i GGPP (geranilgeranil-difosfata C20) u hemiterpene (izopren i 2-metil-3-buten-2-ol), monoterpene, seskviterpene i diterpene. Ove reakcije su katalizovane velikom grupom enzima poznatom kao terpen sintetaze (Cane, 1999; Wise i Croteau, 1999) i kao rezultat njihove aktivnosti dobijaju se primarni predstavnici svake od navedenih grupa. Vrlo interesantna osobina ovih enzima je sposobnost da od jednog supstrata mogu da naprave više produkata. Mnogi terpeni su direktni proizvodi terpen-sintetaza, dok se drugi formiraju transformacijama incijalne supstance. Ove transformacije mogu biti: ciklizacija, oksidacija, dehidrogenacija, acilacija, glikozilacija i dr.

**Tabela 18. Relativni udeo terpena u etarskom ulju začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti,  $t_R$ -retenciono vreme.**

Terpen	Zelena	Braon	Crvena	T. Crvena	$t_R$ (min)
$\alpha$ -pinen	2,90	1,57		0,32	<b>8,68</b>
linalol	2,09	2,09	1,12	1,20	<b>9,96</b>
$\alpha$ -terpineol			0,38		<b>12,45</b>
<i>cis</i> -geraniol	0,23	0,15	0,11	0,14	<b>13,85</b>
geraniol	0,27	0,24	0,14	0,22	<b>14,71</b>
borneol			0,10	0,22	<b>17,90</b>
<i>trans</i> - p-mentan-7-ol				0,24	<b>18,26</b>
damascenon	0,11	0,15	0,56	0,45	<b>18,41</b>
kopaen	0,27	0,36	0,56	0,45	<b>18,70</b>
$\beta$ -elemen				2,79	<b>19,17</b>
geranil-aceton	0,10	0,25	0,71	0,64	<b>20,65</b>
7,8-epoksi- $\alpha$ -jonon			0,66	3,26	<b>20,88</b>
<i>trans</i> -nerolidol	0,42	0,99	1,01	1,80	<b>24,11</b>
<i>trans</i> -Z- $\alpha$ -bisabolen epoksid				0,52	<b>26,16</b>
<i>cis</i> -lanceol				0,73	<b>27,66</b>
farnezil-aceton				0,44	<b>33,21</b>
citronelol	4,63	4,31			<b>38,09</b>
farnezol	0,57	0,38	0,57	0,67	<b>39,48</b>
farnezan			0,63		<b>42,46</b>

Terpeni koji su ulazili u sastav etarskih ulja paprike prikazani su u tabeli 18. Od ukupno determinisanih 19 terpena svega 4 nisu pronađena u etarskom ulju tamnocrvene paprike. Terpeni koji su bili prisutni u etarskom ulju paprika svih zrelosti su: linalol, *cis*-geraniol, geraniol, kopaen, geranil aceton, *trans*-nerolidol *trans*-farnezol (Slika 39). Za rane faze

zrelosti su karakteristični 1S- $\alpha$ -pinen i citronelol a kasnijim fazama se pojavljuju  $\alpha$ -terpineol, borneol, *trans*-p-mentan-7-ol,  $\beta$ -elemen, *trans*-Z- $\alpha$ -bisabolen epoksid, *cis*-lanceol, farnezil aceton i farnezan.



Slika 39. Strukture terpena koji su bili prisutni u plodovima paprika svih faza zrenja. A- linalol, B- cis-geraniol, C- geraniol, D- kopaen, E- geranil aceton, F- trans-nerolidol i G- trans-farnezol

I drugi autori su u svežim paprikama utvrdili prisustvo  $\alpha$ -pinena, linalola,  $\alpha$ -terpineola, i *trans*-farnezola (Luning et al., 1994; Pino et al., 2006; Conforti et al., 2007).  $\alpha$ -pinen, linalol i  $\alpha$ -terpineol su bili prisutni u svim fazama zrelosti, što je u skladu sa dobijenim rezultatima

(Tabela 18), dok se opažanja za *trans*-farnezol razlikuju. Naime u ljutoj paprici farnezol je bio prisutan samo u crvenoj fazi zrelosti (Conforti et al., 2007) dok je u dobijenim rezultatima farnezol pronađen u svim fazama zrelosti (Tabela 18).

Damascenon i  $\alpha$ -jonon su poznati produkti razgradnje karotenoida (Bonnie i Choo, 1999; Leffingwell, 2002).

Geraniol,  $\beta$ -elemen, nerolidol,  $\alpha$ -bisabolen i farnezil aceton su identifikovani u etarskom ulju suve mlevene paprike dobijenog destilacijom sa vodenom parom (Kocsis et al., 2002, 2003). Borneol, p-mentan-7-ol, kopaen, geranil aceton, *cis*-lanseol, citronelol i farnezan nisu do sada identifikovani kao lako isparljiva jedinjenja sušene mlevene paprike (Mateo et al., 1997; Kocsis et al., 2002, 2003, Lee et al., 2004;).

#### 4.1.1.3.8. Ostala jedinjenja

Ostala jedinjenja koja su ulazila u sastav etarskih ulja paprike prikazana su u tabeli 19. Od ostalih jedinjenja etarskih ulja utvrđeno je prisustvo heterocikličnog 2-pentilfurana, 2-motoksi-3-izobutilpirazina i amida oleinske kiseline.

**Tabela 19. Relativni udeo ostalih jedinjenja u etarskom ulju začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti,  $t_R$ -retenciono vreme.**

Grupa	Jedinjenje	Zelena	Braon	Crvena	T. Crvena	$t_R$ (min)
<b>heterociklična jedinjenja</b>	2-pentilfuran	2,12	1,18	0,45		<b>7,11</b>
<b>pirazin</b>	2-motoksi-3-izobutilpirazin	1,63	1,46			<b>12,29</b>
<b>amidi kiselina</b>	amid oleinske kiseline	2,44	2,06	1,89	2,19	<b>50,44</b>

Heterociklično jedinjenje, 2-pentil furan i 2-metoksi-3-izobutilpirazin su identifikovani u baburi (Luning et al., 1994, 1995a) i mlevenoj začinskoj paprici (Kocsis et al., 2002, 2003). Pirazini (1,4 diazini) su heterociklična grupa jedinjenja koja sadrže azot i zastupljena su kako u biljnom tako i u životinjskom svetu. Pirazini se mogu klasifikovati prema poreklu, pa ih delimo na one koji su nastali kao posledica toplotnog tretmana, zatim one koji su nastali kao posledica aktivnosti mikroorganizama i one koji se prirodno nalaze u biljkama. Među pirazinima koji se prirodno nalaze u biljnim tkivima najznačajniji su 2-metoksi-3-izopropilpirazin, 2-metoksi-3-sec-izopropilpirazin i 2-metoksi-3-izobutilpirazin. 2-metoksi-3-izobutilpirazin pri vrlo niskim koncentracijama od svega 2 ng/L ima aromu karakterističnu za svežu zelenu papriku (Buttery et al., 1969). Nešto kasnije, 1975 Murray i Whitfield pronalaze pomenut pirazin i u čili paprikama, pasulju, salati, spanaću.

\* \* \*

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da tokom zrenja začinske paprike dolazi do intenzivnih promena u sastavu etarskih ulja. Promene u sastavu lako isparljivih jedinjenja paprike uočili su i drugi autori i to kod babure (Luning et al., 1994), čili paprike (Pino et al.,

2006) i ljute paprike (Conforti et al., 2007). U dobijenim rezultatima i kod navedenih autora najveći udeo u lako isparljivim jedinjenjima imaju terpeni. Bitno je napomenuti da neka identifikovana jedinjenja u svežoj paprici nisu pronađena u literaturi ali je takođe i malo poklapanje između jedinjenja koja su identifikovali drugi autori (Luning et al., 1994; Pino et al., 2006; Conforti et al., 2007). Ovakva razlika u sastavu volatilnih jedinjenja može se objasniti različitim sortama paprike (babure, čili, ljute) ali i različitim metodama ekstrakcije. Naime, dobijeni rezultati u ovom radu su dobijeni analizom isparljivih supstanci koje su dobijene destilacijom sa vodenom parom kao i kod čili paprike (Pino et al., 2006), dok su volatilne komponente ljute paprike izolovane ekstrakcijom sa metanolom (Conforti et al., 2007) a lako isparljive komponente babure su analizirane *head space* tehnikom (Luning et al., 1994).

#### **4.1.1.4. Promene aktivnosti enzima $\beta$ -glukozidaze i peroksidaze tokom zrenja začinske paprike**

$\beta$ -Glukozidaza je enzim koji se može naći u plodovima paradajza (Pharr et al., 1976), jabuke (Dick et al., 1990), soku pomorandže (Burns, 1990; Cameron et al., 2001), dinji (Filis-Lycaon i Buret, 1991; Ranwala et al., 1992), šljivi, kajsiji i breskvi (Bouranis i Niavis, 1992), maslini (Fernández-Bolaños et al., 1995), krušci (Tateishi et al., 1996) i trešnji (Gerrardi et al., 2001). Ovaj enzim ispoljava visoku aktivnost prema pojedinim disaharidima (celobiozi, laminaribiozi, gentiobiozi, soforozi – šećerima koji imaju glikozidne veze sa 4, 3, 6, i 2 ugljenikovim atomom susednog ostatka glukoze). Kako su neke od ovih glukozidnih veza prisutne u ćelijskom zidu a neke ne, nije potpuno jasno da li enzim kao supstrat koristi ćelijski zid ili se nalazi u ćelijskim kompartmentima gde aktivno učestvuje u metabolizmu biljke, naprimer u hidrolizi nekih fenolnih i flavonoidnih glukozidaza (Sozzi, 2004).

Peroksidaze su druga grupa enzima koja se često povezuje sa procesima sazrevanja plodova. U toku sazrevanja plodova ovi enzimi imaju ulogu u procesima vezanim za rast i diferencijaciju ćelija preko učešća u metabolizmu auksina, zatim u lignifikaciji ćeliskog zida, razgradnje suvišnog  $H_2O_2$  i drugih oksidanasa (Abeles et al., 1992; Estrada et al., 2000) a pretpostavlja se da imaju ulogu u oksidaciji kapsaicina, grupe jedinjenja koja daje ljutinu paprici (Contreras-Padilla i Yahia, 1998).

Promena aktivnosti ispitivanih enzima tokom zrenja začinske paprike prikazana je u tabeli 20. Oba posmatrana enzima su pokazala istu tendenciju koja je podrazumevala porast aktivnosti između zelene i crvene paprike, gde je i bio maksimum aktivnosti i zatim pad aktivnosti kod tamno crvene paprike. Porast aktivnosti  $\beta$ -glukozidaze bila je najuočljivija između braon i crvene paprike, dok je najveći porast aktivnosti peroksidaze između zelene i braon paprike. Pad aktivnosti je mnogo uočljiviji kod  $\beta$ -glukozidaze čija je aktivnost kod tamno crvene paprike bila na nivou zelene paprike, dok se aktivnost peroksidaze vratila na nivo braon paprike (Tabela 20).

**Tabela 20. Promene aktivnosti  $\beta$ -glukozidaze i peroksidaze tokom zrenja začinske paprike.**



Faza zrenja	$\beta$ -glukozidaza ( $\mu$ M)	Peroksidaza (U)
<b>Zelena</b>	15,1 <sup>a</sup>	0,0154 <sup>a</sup>
<b>Braon</b>	27,1 <sup>b</sup>	0,0229 <sup>c</sup>
<b>Crvena</b>	59,7 <sup>c</sup>	0,0282 <sup>d</sup>
<b>T. Crvena</b>	18,9 <sup>a</sup>	0,0221 <sup>b</sup>

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju (Duncan-ov test,  $p < 0,05$ )

Tokom zrenja ploda dolazi do značajnih biohemijskih promena ploda a mnoge promene su regulisane aktivnošću enzima. Na osnovu rezultata Russo i Biles (2004) uočava se da plod paprike tokom sazrevanja može da poveća, smanji ili ne promeni aktivnost peroksidaze, što predstavlja sortnu karakteristiku. Plodovi paprike poseduju izoenzim peroksidaze B<sub>6</sub> (Bernal et al., 1993) koji je lociran u vakuoli ćelije (Pedreño et al., 1992). U vakuoli ćelija ploda paprike se pored peroksidaze nalazi i kapsaicin (Fujiwake et al., 1980; Suzuki et al., 1980) koji ima značajnu ulogu u zaštiti mladog ploda paprike. Pretpostavlja se da je lokalizacija peroksidaze i kapsaicina u vakuoli i povećanje aktivnosti peroksidaze tokom sazrevanja u vezi sa degradacijom kapsaicina tokom sazrevanja ploda paprike (Bernal et al., 1994). Povećanje aktivnosti peroksidaze tokom zrenja ploda uočeno je i kod drugih sočnih plodova, naprimer kod borovnice (Feankel, 1972; Miesle et al., 1991), grožđa (Calderon et al., 1993), papaje (Silva et al., 1990), kruške i paradajza (Frankel, 1972).

#### 4.1.2. Promene sastava semena sveže paprike tokom zrenja

Promene sadržaja suve materije, ukupnih mineralnih materija i lipida kod semena prikazana je u tabeli 21. Kako je i očekivano tokom zrenja ploda paprike udeo suve materije i lipida se značajno povećava tokom prolaska perikarpa kroz faze zelene, braon i crvene boje. Razlika u sadržaju vlage između crvene i tamno crvene paprike se ne uočava a sadržaj lipida se blago, ali signifikantno smanjuje. Kao i sadržaj lipida, sadržaj mineralnih materija se povećava sa zrenjem, postiže maksimum kod crvene paprike a zatim se udeo mineralnih materija smanjuje.

**Tabela 21. Promene suve materije, mineralnih materija i lipida u semenu tokom zrenja začinske paprike (%).**

Faza zrenja	Suva materija (%)	Mineralne materije (%)	Lipidi (%)
<b>Zelena</b>	33,11 <sup>a</sup>	1,46 <sup>a</sup>	5,71 <sup>a</sup>
<b>Braon</b>	44,20 <sup>b</sup>	1,75 <sup>b</sup>	11,72 <sup>b</sup>
<b>Crvena</b>	52,19 <sup>c</sup>	1,92 <sup>c</sup>	14,47 <sup>d</sup>
<b>T. Crvena</b>	54,83 <sup>c</sup>	1,79 <sup>b</sup>	13,17 <sup>c</sup>

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju (Duncan-ov test,  $p < 0,05$ )

Promena sadržaja pojedinih neophodnih elemenata u semenu tokom zrenja plodova prikazana je u tabeli 22. Tokom zrenja nakupljanje Na u svežim semenkama nije uočeno, sem kod paprike u braon fazi, dok su ostali ispitivani elementi povećavali svoj sadržaj u semenkama kako je odmicalo zrenje (Tabela 22). Sličan sadržaj neophodnih makro (Ca, Mg i K) i mikro (Fe i Zn) elemenata utvrđen je kod dve sorte zelene paprike (Park et al., 2006).

**Tabela 22. Promene sadržaja ispitanih makro i mikro elemenata u svežim semenima tokom zrenja začinske paprike**

Faza zrenja	mg/kg							
	Na	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu
<b>Zelena</b>	281,8 <sup>a</sup>	3988 <sup>a</sup>	123,4 <sup>a</sup>	1109 <sup>a</sup>	17,9 <sup>a</sup>	8,53 <sup>a</sup>	5,47 <sup>a</sup>	4,48 <sup>a</sup>
<b>Braon</b>	414,2 <sup>b</sup>	7557 <sup>d</sup>	269,4 <sup>c</sup>	1230 <sup>b</sup>	23,6 <sup>b</sup>	11,94 <sup>b</sup>	7,74 <sup>b</sup>	5,25 <sup>b</sup>
<b>Crvena</b>	302,8 <sup>a</sup>	6010 <sup>b</sup>	149,2 <sup>b</sup>	1610 <sup>c</sup>	24,2 <sup>bc</sup>	12,39 <sup>c</sup>	8,64 <sup>c</sup>	7,49 <sup>c</sup>
<b>T. Crvena</b>	263,1 <sup>a</sup>	6331 <sup>c</sup>	143,9 <sup>b</sup>	1633 <sup>d</sup>	25,5 <sup>c</sup>	12,48 <sup>c</sup>	9,38 <sup>d</sup>	7,61 <sup>c</sup>

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju (Duncan-ov test,  $p < 0,05$ )

Nakupljanje organske materije u semenu, tipično za papriku u obliku lipida, je poznata pojava kojom biljka obezbeđuje klici neophodnu energiju za početak razvoja nove biljke. I drugi autori su u semenima paprike pronašli visok sadržaj ulja (Bekker et al., 2001; Park et al., 2006). Detaljnijom analizom ulja semena paprike utvrđeno je da su glavni konstituenti triacilgliceroli koji su činili 87,5% a da su pored njih prisutne i slobodne masne kiseline i tokoferoli (4,5 %), steroli i diacilgliceroli (3,2 %), estri cikličnih i viših alkohola sa masnim kiselinama (1,5 %) a ugljovodonici sa karotenoidima, triterpeni i monoacilgliceroli zajedno čine preostalih 3,3 % (Bekker et al, 2001). U svojim istraživanjima Asilbekova (2003) je različitim ekstrakcijama razdvojila slobodne od vezanih ulja, pri čemu je slobodnih bilo 3,8 puta više od vezanih.

## 4.2. PROMENE NA PERIKARPU SUŠENE PAPRIKE NASTALE TRETMANOM I/ILI SUŠENJEM NAKON UBIRANJA PLODOVA

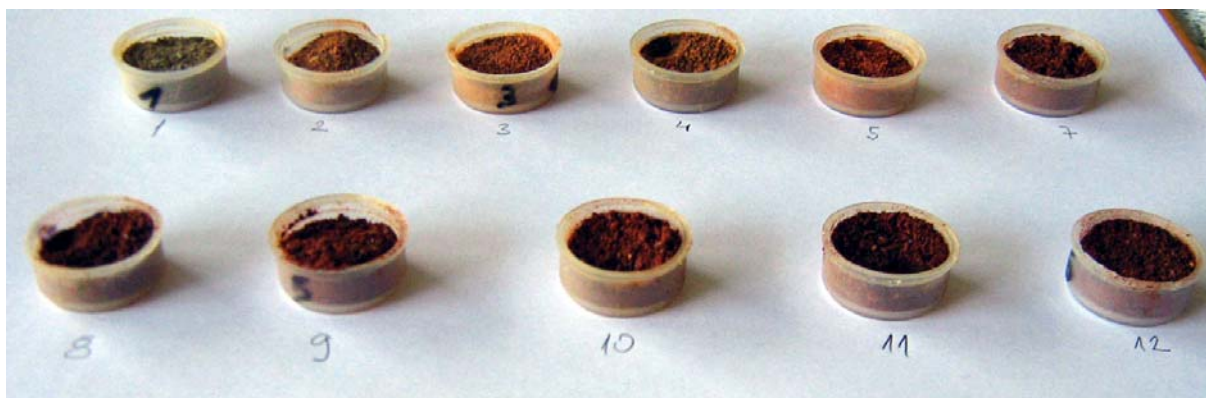
Posle branja jedan deo plodova začinske paprike je odmah osušen a preostali deo je ostavljen da dozri. Dozrevanje je vršeno u trajanju od 15 dana a plodovi su podeljeni u dve grupe: jedna grupa je dozrevana u mraku a druga na svetlu. Kada su skupljeni plodovi svih grupa zrelosti pristupilo se njihovom mlevenju. Ovakav tretman paprike nakon zrenja treba da pokaže da li i kojoj meri dolazi do nastavka biohemijskih procesa kao i uticaj ovih procesa na osobine mlevene paprike. Nažalost, tokom čuvanja uzorka braon paprika dozrevalih u mraku došlo je do kvara, te stoga rezultati za ovaj tretman nisu prikazani. Nakon mlevenja perikarpa plodova izvršena je ocena boje i mirisa mlevene paprike a rezultati su prikazani u tabeli 23.

**Tabela 23. Ocena boje i mirisa mlevenog perikarpa začinske paprike.**

Faze zrenja	Tretman nakon branja plodova	Dominantan ton	Prateći ton	Miris
<b>Zelena</b>	Sušenje	Zeleni	drap-žuti	nema karakterističan miris paprike
	Dozrevanje u mraku + sušenje	Narandžast	Smeđ	blag miris paprike
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	Crveno-narandžast	Smeđ	blag miris paprike
<b>Braon</b>	Sušenje	Smeđe-narandžast	Smeđ	blag miris paprike
	Dozrevanje u mraku + sušenje			
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	Crven	Smeđ	nešto intenzivniji miris paprike
<b>Crvena</b>	Sušenje	Grimizno-smeđ	Smeđ	intenzivan miris začinske paprike
	Dozrevanje u mraku + sušenje	Grimizno-smeđ	Smeđ	intenzivan miris začinske paprike
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	Grimizno-smeđ	Smeđ	intenzivan miris začinske paprike
<b>T. Crvena</b>	Sušenje	Grimizno-smeđ	Smeđ	intenzivan miris začinske paprike
	Dozrevanje u mraku + sušenje	Grimizno-smeđ	Smeđ	intenzivan miris začinske paprike
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	Grimizno-smeđ	Smeđ	intenzivan miris začinske paprike

Vizuelnom ocenom mlevene zelene paprike utvrđeno je da ima zeleni dominantni ton dok je prateći ton drap-žit (Tabela 23). Prah mlevene zelene paprike nije imao miris karakterističan za začinsku papriku. Zelena paprika koja je ostavljena da dozri 15 dana značajno je promenila

vizuelne osobine u odnosu na početnu, zelenu papriku. Dominantan ton paprike koja je nakon branja dozrevala u mraku bio je narandžast a paprike koja je dozrevala na svetlu crveno-narandžasta, dok je prateći ton ove dve grupe paprika bio smeđ. Oba pomenuta uzorka paprike imala su blag miris začinske paprike. Braon paprika koja je ubrana 8 dana kasnije od zelene imala je boju koja je bila slična zelenoj paprici dozrevanoj u mraku a vizuelno je dominantan ton ocenjen kao smeđe-narandžast a prateći kao smeđ i imala je blag miris začinske paprike. Braon paprika dozrevana na svetlu je prvi uzorak koji je mlevenjem dao prah koji je imao crveni dominantan ton dok je prateći ton ostao smeđ a pored boje za ovu papriku karakterističan je i nešto intenzivniji miris začinske paprike. Razlika između crvenih i tamno crvenih paprika bez obzira na tretman nije uočena, te je za sve ove paprike karakterističan grimizno-smeđ dominantan ton sa pratećim smeđim tonom i intenzivnim mirisom začinske paprike (Tabela 23).



**Slika 40. Osušeni mleveni uzorci paprike u posudama za instrumentalno određivanje boje.**

Nakon ocene boja mlevenih suvih paprika određena je i instrumentalno a uzorci u posudama za očitavanje prikazani su na slici 40. Rezultati instrumentalnog merenja površinske boje začinske boje prikazani su u tabeli 24 i 25. Rezultati iz tabele 24 pokazuju da se sa zrenjem smanjuje svetloća dok se talasna dužina povećava sa 579 nm na 595 nm koliko je izmereno kod crvene paprike dozrevane u mraku. Čistoća boje je varirala u opsegu od 0,4066 do 0,6154. Kao grupa, najmanju čistoću imala je zelena paprika dok je najveću čistoću imala grupa paprika nastala od tamno crvene paprike.

Pokazatelji hromatičnosti CIELAB sistema prikazani u tabeli 25 pokazuju da se sa zrenjem smanjuje svetloća ( $L^*$ ) dobijene mlevene začinske paprike. Rezultat za svetloću perikarpa dobijen merenjem u saglasnosti je sa vizuelnom ocenom (Tabela 23). Udeo crvene boje u odnosu na zelenu ( $a^*$ ) bio je pozitivan kod svih ispitanih uzoraka, čak i kod praha dobijenog od sušene zelene paprike. Odsustvo zelene boje kod praha dobijenog od suvih plodova zelene paprike može se objasniti raspadanjem hlorofila tokom sušenja usled delovanja relativno visokih temperatura i kao posledica mlevenja i izlaganja velike površine suve paprike kiseoniku iz vazduha. Pored pomenutog, uočava se da kod plodova koji su za vreme branja bili zelene odnosno braon boje, dozrevanjem značajno povećava udeo crvene boje, dok se kod plodova koji su tokom branja bili crvene boje dozrevanjem u mraku smanjuje, a

dozrevanjem uz prisustvo svetla povećava udeo crvene boje. Kod plodova koji su prilikom branja imali tamno crvenu boju dozrevanje smanjuje udeo crvene boje. U svim uzorcima paprike udeo žute boje je bio veći u odnosu na plavu boju ( $b^*$ ). Iz dobijenih rezultata može se uočiti da je kod zelene, braon i crvene paprike dozrevanje na svetlu povećalo udeo žute boje u odnosu na uzorak koji nije dozrevao, dok je kod tamno crvene paprike pomenuti tretman smanjio udeo žute boje. Dozrevanje u mraku smanjilo je udeo žute boje kod zelene, crvene i tamno crvene paprike.

**Tabela 24. Promene pokazatelja hromatičnosti prema CIE xy sistemu (Sveloga (Y), dominantna talasna dužina ( $\lambda$ ) i čistoća) mlevenog perikarpa začinske paprike.**

Faze zrenja	Tretman nakon branja plodova	Svetloća (Y)	$\lambda$ (nm)	Čistoća
<b>Zelena</b>	Sušenje	12,13	579,0	0,4066
	Dozrevanje u mraku + sušenje	10,78	584,0	0,4255
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	10,47	588,5	0,4792
<b>Braon</b>	Sušenje	8,88	588,5	0,4694
	Dozrevanje u mraku + sušenje			
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	8,20	589,0	0,5600
<b>Crvena</b>	Sušenje	6,63	590,0	0,4800
	Dozrevanje u mraku + sušenje	5,79	595,0	0,4000
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	5,09	594,0	0,5961
<b>T. Crvena</b>	Sušenje	5,21	594,0	0,6154
	Dozrevanje u mraku + sušenje	5,09	592,0	0,4902
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	4,66	593,0	0,5769

Ukupna razlika boje u odnosu na kalibracioni standard ( $\Delta E_{ab}$ ) povećavala se kako je plod paprike sazrevao, pa je tako najmanja razlika boje uočena kod zelene paprike (55,36) a najveća kod tamno crvene paprike (72,21). Kod zelene, braon i crvene paprike dozrevanje je povećalo ukupnu razliku boje u odnosu na uzorak koje je osušen bez dozrevanja. Kod zelene, braon i crvene boje dozrevanje na svetlu povećalo je punoću boje ( $\Delta C_{ab}$ ), dok je dozrevanje u mraku povećalo punoću boje kod zelene paprike. Oba tretmana smanjila su punoću boje tamno crvene paprike (Tabela 25).

Još jedan način da se opiše boja mlevene začinske paprike je ASTA 20 metod. ASTA vrednosti dobijene analizom uzoraka mlevene paprike prikazane su u tabeli 26. Najmanju ASTA vrednost ima prah dobijen mlevenjem zelene paprike (3,97). Braon paprika imala je 19,37 ASTA jedinica, crvena 49,12 a tamno crvena 89,97. Posmatrajući vreme branja, najveći porast ASTA jedinica bio je između zelene i braon paprike pri čemu se ASTA vrednost povećala za 4,88 puta. Dozrevanjem paprike dolazi do povećanja ASTA vrednosti. Kod zelene i crvene paprike uočava se da je povoljniji efekat na ASTA vrednosti imalo dozrevanje na svetlosti, dok nasuprot ovom, kod tamnocrvene paprike povoljniji efekat na ASTA vrednosti ima dozrevanje u mraku.

**Tabela 25. Promene pokazatelja hromatičnosti CIELAB sistemu ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $\Delta E_{ab}$  i  $\Delta C_{ab}$ ) mlevenog perikarpa začinske paprike.**

Faze zrenja	Tretman nakon branja plodova	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E_{ab}$	$\Delta C_{ab}$
<b>Zelena</b>	Sušenje	41,42	2,22	22,33	55,36	20,92
	Dozrevanje u mraku + sušenje	39,20	7,97	21,88	57,87	21,76
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	38,67	11,94	25,23	60,41	26,40
<b>Braon</b>	Sušenje	35,27	8,56	23,27	61,64	23,27
	Dozrevanje u mraku + sušenje					
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	34,39	15,43	25,31	65,07	28,12
<b>Crvena</b>	Sušenje	30,94	12,38	20,15	65,76	22,13
	Dozrevanje u mraku + sušenje	28,87	10,96	15,56	66,25	17,51
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	26,98	17,46	23,03	71,50	27,38
<b>T. Crvena</b>	Sušenje	27,32	19,47	24,49	72,21	29,76
	Dozrevanje u mraku + sušenje	26,98	14,41	18,59	69,48	22,00
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	25,74	16,98	21,41	72,03	25,80

**Tabela 26. Promene ASTA vrednosti mlevenog perikarpa začinske paprike.**

Faze zrenja	Tretman nakon branja plodova	ASTA
<b>Zelena</b>	Sušenje	3,97 <sup>a</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	23,10 <sup>c</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	42,75 <sup>d</sup>
<b>Braon</b>	Sušenje	19,37 <sup>b</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	78,64 <sup>g</sup>
<b>Crvena</b>	Sušenje	49,12 <sup>e</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	70,78 <sup>f</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	113,15 <sup>k</sup>
<b>T. Crvena</b>	Sušenje	89,97 <sup>h</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	100,14 <sup>j</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	93,34 <sup>i</sup>

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju (Duncan-ov test,  $p < 0,05$ )

Prema važećem pravilniku začinska paprika se prema ASTA vrednostima deli na „ekstra delikates začinsku papriku“ ukoliko ima više od 118 ASTA, „delikates mlevena začinska paprika“ ukoliko ima više od 102 ASTA i „crvena slatka mlevena začinska paprika“ ukoliko ima više od 80 ASTA (Sl. List SFRJ 1/79).

Na sadržaj vlage u mlevenom perikarpu ispitivanih paprika značajno je uticao i tretman nakon branja ploda i stepen zrelosti. Smanjenje sadržaja vlage izazvano je odmicanjem zrenja i tretmanima. Izuzetak od ovog pravila je dozrevanje tamno crvene paprike u mraku koje povećalo sadržaj vlage u odnosu na sadržaj vlage tamno crvene paprike (Tabela 27).

Kao i kod sadržaja vlage i na sadržaj mineralnih materija u suvom perikarpu paprike signifikantan uticaj imali su i stepen zrelosti i tretmani nakon branja. Sadržaj mineralnih materija u perikarpu zelene paprike bio je 5,88% da bi se popeo na 6,10% kod braon paprike odnosno na 6,09% kod crvene a da bi se na kraju spustio na 5,54% koliko je bio kod tamno crvene paprike. Tretmani nakon branja su povećali sadržaj mineralnih materija, a veći uticaj imalo je dozrevanje na suncu. Izuzetak od ovog pravila je crvena paprika kod koje je dozrevanje smanjilo procenat ukupnih mineralnih materija (Tabela 27).

**Tabela 27. Promene sadržaja suve materije, mineralnih materija i ukupnih šećera tokom zrenja začinske paprike.**

Faze zrenja	Tretman nakon branja plodova	Vlaga (%)	Mineralne materije (%)	Ukupni šećeri (%)
<b>Zelena</b>	Sušenje	7,65 <sup>h</sup>	5,88 <sup>d</sup>	18,43 <sup>a</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	6,56 <sup>g</sup>	6,77 <sup>e</sup>	18,17 <sup>a</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	6,21 <sup>f</sup>	6,85 <sup>g</sup>	18,96 <sup>a</sup>
<b>Braon</b>	Sušenje	6,08 <sup>f</sup>	6,10 <sup>e</sup>	19,90 <sup>ba</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje			
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	5,38 <sup>e</sup>	6,27 <sup>f</sup>	19,09 <sup>a</sup>
<b>Crvena</b>	Sušenje	4,71 <sup>d</sup>	6,09 <sup>e</sup>	19,61 <sup>ba</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	3,35 <sup>a</sup>	5,86 <sup>cd</sup>	19,14 <sup>ba</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	3,62 <sup>b</sup>	5,61 <sup>ab</sup>	18,88 <sup>a</sup>
<b>T. Crvena</b>	Sušenje	4,12 <sup>c</sup>	5,54 <sup>a</sup>	23,49 <sup>c</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	4,60 <sup>d</sup>	5,73 <sup>bc</sup>	23,71 <sup>c</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	3,27 <sup>a</sup>	5,94 <sup>d</sup>	20,09 <sup>ba</sup>

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju (Duncan-ov test,  $p < 0,05$ )

Posmatranjem sadržaja ukupnih šećera uočava se njegovo povećanje tokom zrenja, što je u saglasnosti sa rezultatima dobijenim kod sveže paprike (Tabela 3). Tretmani nakon branja plodova u trajanju od dve nedelje kod zelene i braon paprike nisu uticali na ukupni sadržaj šećera dok kod crvene i tamno crvene signifikantan uticaj na sadržaj ukupnih šećera ima izlaganje paprike svetlu nakon branja plodova. Na sadržaj ukupnih šećera značajniji je uticaj zrelosti ploda od tretmana nakon branja ploda (Tabela 27).

Promene sadržaja natrijuma, kalijuma, kalcijuma i magnezijuma kod plodova paprike različito tretiranih posle branja prikazane su u tabeli 28.

Iz tabele 28 može se uočiti da između perikarpa sušene netretirane zelene i braon paprike s jedne strane i crvene i tamno crvene paprike s druge strane nema signifikantne razlike u sadržaju Na. U odnosu na sušeni netretirani perikarp tretmani dozrevanja nakon ubiranja plodova povećavaju sadržaj Na u perikarpu paprike kod zelene, braon i crvene paprike. Povećanje sadržaja Na bilo je najizraženije kod crvene paprike. Za razliku od ostale tri grupe zrenja, dozrevanje kod tamno crvene paprike smanjilo je sadržaj Na u perikarpu. Nasuprot Na, sadržaj K u perikarpu se povećavao kako sa odmicanjem zrenja tako i kao posledica tretmana nakon branja plodova.



**Tabela 28. Promene sadržaja Na, K, Ca i Mg u perikarpu tokom dozrevanja začinske paprike.**

Faze zrenja	Tretman nakon branja plodova	Na(%)	K(%)	Ca(mg/kg)	Mg(%)
<b>Zelena</b>	Sušenje	0,123 <sup>a</sup>	2,26 <sup>a</sup>	670,9 <sup>c</sup>	0,144 <sup>g</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	0,167 <sup>bcd</sup>	2,64 <sup>c</sup>	687,4 <sup>c</sup>	0,159 <sup>h</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	0,150 <sup>ab</sup>	2,68 <sup>c</sup>	817,3 <sup>d</sup>	0,160 <sup>h</sup>
<b>Braon</b>	Sušenje	0,124 <sup>a</sup>	2,39 <sup>b</sup>	539,4 <sup>b</sup>	0,129 <sup>f</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje				
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	0,159 <sup>bc</sup>	2,40 <sup>b</sup>	477,2 <sup>ab</sup>	0,126 <sup>e</sup>
<b>Crvena</b>	Sušenje	0,184 <sup>cd</sup>	2,46 <sup>b</sup>	382,6 <sup>a</sup>	0,107 <sup>a</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	0,245 <sup>e</sup>	2,93 <sup>d</sup>	390,0 <sup>a</sup>	0,118 <sup>d</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	0,285 <sup>f</sup>	2,87 <sup>d</sup>	438,7 <sup>a</sup>	0,124 <sup>e</sup>
<b>T. Crvena</b>	Sušenje	0,193 <sup>d</sup>	2,75 <sup>c</sup>	392,6 <sup>a</sup>	0,110 <sup>b</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	0,188 <sup>d</sup>	2,67 <sup>c</sup>	450,6 <sup>ab</sup>	0,112 <sup>b</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	0,143 <sup>ab</sup>	2,92 <sup>d</sup>	431,7 <sup>a</sup>	0,115 <sup>c</sup>

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju (Duncan-ov test,  $p < 0,05$ )

Tokom zrenja, sadržaj Ca i Mg u perikarpu se smanjuje a tretmani nakon ubiranja plodova povećavaju sadržaj Ca i Mg u perikarpu. Kod oba pomenuta elementa izuzetak je braon paprika kod koje kao posledica tretmana dozrevanja plodova nakon ubiranja dolazi do smanjenja sadržaja Ca i Mg u perikarpu (Tabela 28). Promena sadržaja ispitanih mikroelemenata nakon tretmana dozrevanja prikazana je tabeli 29.

**Tabela 29. Promene sadržaja Fe, Mn, Zn i Cu u perikarpu tokom zrenja začinske paprike (mg/kg).**

Faze zrenja	Tretman nakon ubiranja plodova	Fe	Mn	Zn	Cu
<b>Zelena</b>	Sušenje	40,58 <sup>cd</sup>	10,08 <sup>e</sup>	13,62 <sup>e</sup>	7,75 <sup>bc</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	44,65 <sup>d</sup>	10,87 <sup>f</sup>	15,24 <sup>g</sup>	9,14 <sup>f</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	42,91 <sup>d</sup>	11,00 <sup>f</sup>	15,56 <sup>h</sup>	9,22 <sup>f</sup>
<b>Braon</b>	Sušenje	42,07 <sup>d</sup>	8,96 <sup>d</sup>	13,25 <sup>d</sup>	7,60 <sup>b</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje				
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	41,04 <sup>d</sup>	8,94 <sup>d</sup>	14,50 <sup>f</sup>	8,38 <sup>e</sup>
<b>Crvena</b>	Sušenje	35,49 <sup>bc</sup>	7,24 <sup>b</sup>	11,55 <sup>a</sup>	7,01 <sup>a</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	26,95 <sup>a</sup>	6,59 <sup>a</sup>	12,68 <sup>c</sup>	8,10 <sup>de</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	31,47 <sup>ab</sup>	7,19 <sup>b</sup>	13,67 <sup>e</sup>	8,02 <sup>cd</sup>
<b>T. Crvena</b>	Sušenje	27,70 <sup>a</sup>	7,22 <sup>b</sup>	12,21 <sup>b</sup>	7,03 <sup>a</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	29,29 <sup>a</sup>	7,56 <sup>bc</sup>	13,23 <sup>d</sup>	7,65 <sup>b</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	28,80 <sup>a</sup>	7,70 <sup>c</sup>	12,83 <sup>c</sup>	8,00 <sup>cd</sup>

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju (Duncan-ov test,  $p < 0,05$ )

Može se uočiti da sadržaj ispitanih mikroelemenata opada sa porastom stepena zrelosti, dok tretmani nakon ubiranja plodova nisu uticali na sadržaj gvožđa u perikarpu dok su ostali mikroelementi povećali sadržaj tokom dozrevanja (Tabela 29).

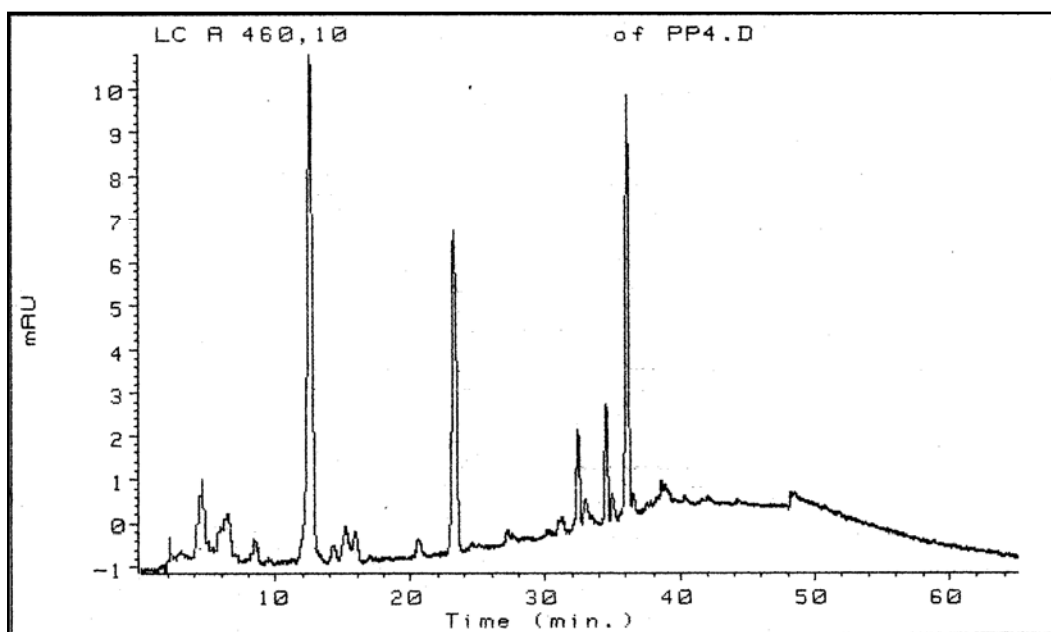


### 4.2.1. Promene na pigmentima perikarpa sušene paprike nastale tretmanom i/ili sušenjem nakon ubiranja plodova

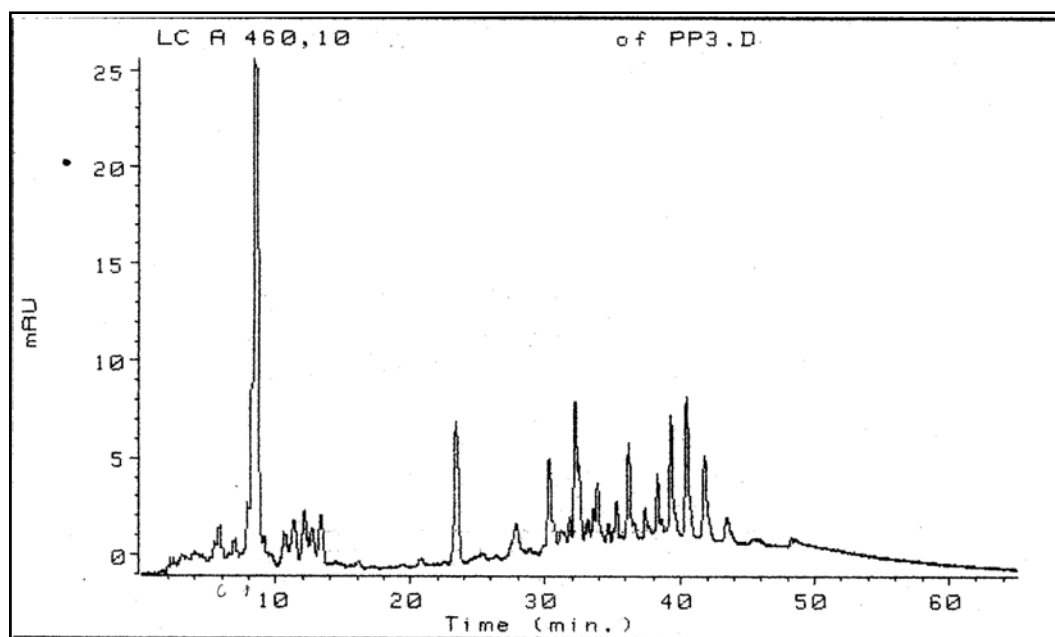
Biosinteza karotenoida za vreme sazrevanja začinske paprike uslovlila je kvalitativne i kvantitativne promene u sastavu karotenoida u perikarpu paprike različite zrelosti (Slike 26, 27, 28 i 29; Tabele 7 i 8). Tretmani nakon berbe plodova treba da pokažu da li i u kojoj meri dolazi do biosinteze karotenoida posle ubiranja plodova.

#### 4.2.1.1. Zelena paprika

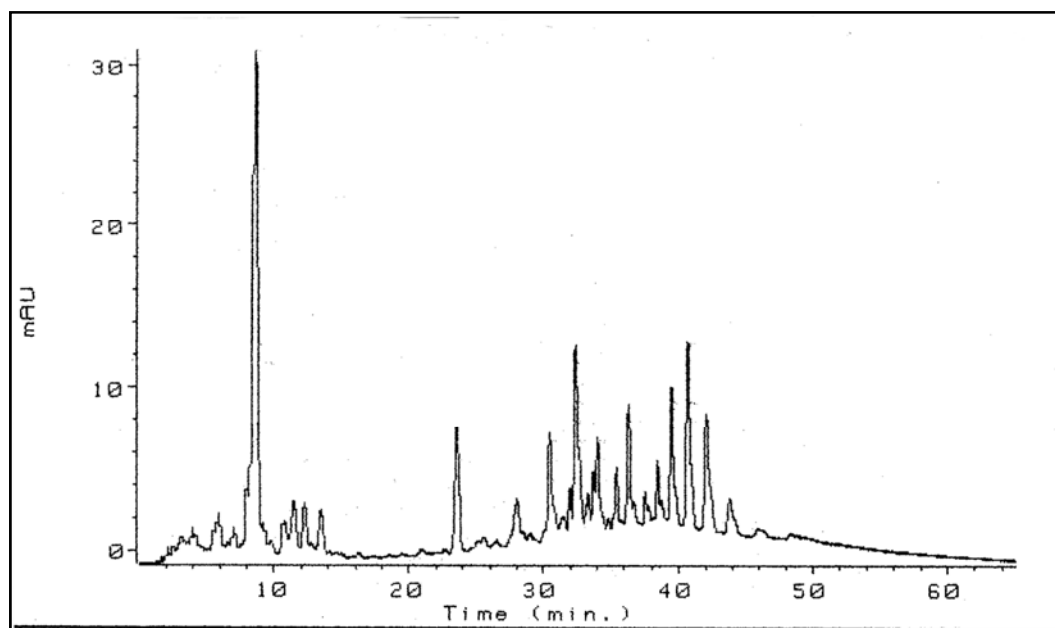
Dozrevanje zelene paprike imalo je uticaja na vizuelno ocenjenu boju (Tabela 23), dominantnu talasnu dužinu (Tabela 24), udeo crvene boje ( $a^*$ , Tabela 28) i ASTA pokazatelj (Tabela 26). Svi ispitani pokazatelji ukazuju da se tokom dozrevanja zelene paprike nastavlja proces biosinteze karotenoida. Kao i kod sveže paprike sadržaj karotenoida u perikarpu ispitan je metodom HPLC. Hromatogrami karotenoida osušene zelene paprike i zelene paprike dozrevane u mraku i na svetlu prikazani su na slikama 41, 42 i 43.



Slika 41. Hromatogram karotenoida iz perikarpa osušene zelene paprike.



Slika 42. Hromatogram karotenoida iz perikarpa zelene paprike dozrevane u mraku.



Slika 43. Hromatogram karotenoida iz perikarpa zelene paprike dozrevane na svetlu.

Dobijeni hromatogrami pokazuju da dozrevanje zelene paprike ima za posledicu biosintezu karotenoida. Novi pikovi se uočavaju posle tridesete minute od iniciranja analize, na hromatogramima karotenoida plodova paprike podvrgnute dozrevanju kako u mraku tako i na svetlu, gde se nalaze esterifikovani karotenoidi, iz čega se može zaključiti da se uporedo sa biosintezom odvija i proces esterifikacije karotenoida. Rezultati sadržaja karotenoida u perikarpu zelene paprike dobijenih na osnovu hromatograma nakon dve nedelje dozrevanja prikazani su u tabelama 30 i 31.

**Tabela 30. Promena sadržaja žutih i crvenih ukupnih karotenoida u perikarpu nakon tretmana i/ili sušenja zelene začinske paprike (mg/kg)**

Tretman nakon branja plodova	Žuti	Crveni	Ukupno
<b>Sušenje</b>	51,28 <sup>ab</sup>	7,27 <sup>a</sup>	58,55 <sup>a</sup>
<b>Dozrevanje u mraku + sušenje</b>	44,13 <sup>a</sup>	156,88 <sup>b</sup>	201,01 <sup>b</sup>
<b>Dozrevanje na svetlu + sušenje</b>	65,94 <sup>b</sup>	218,19 <sup>c</sup>	284,14 <sup>c</sup>

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju ( $\chi^2$  test,  $p < 0,05$ )

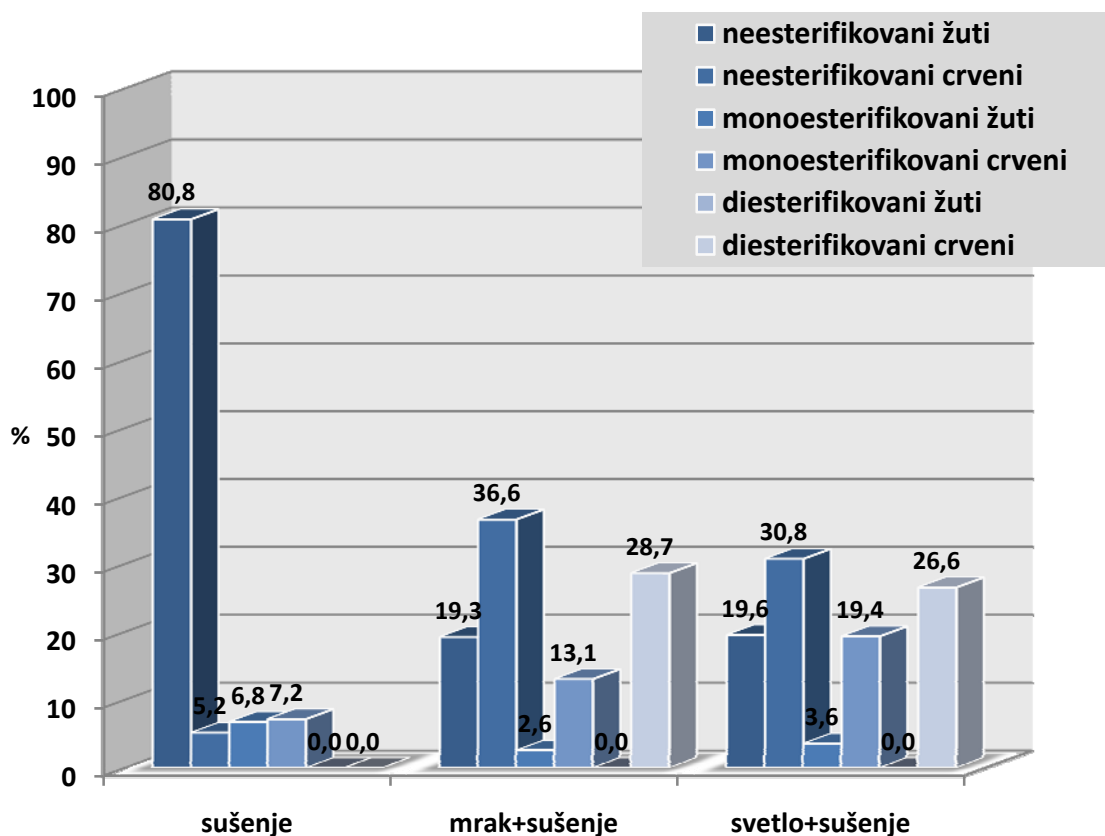
Dozrevanje zelene paprike u trajanju od 15 dana imalo je za posledicu značajno povećanje ukupnog sadržaja karotenoida u perikarpu paprike (Tabela 30). Dozrevanje na svetlu povećalo je ukupan sadržaj karotenoida za 4,85 puta dok je dozrevanje u mraku povećalo sadržaj karotenoida za 3,43 puta. Ukoliko se posmatra sadržaj žutih odnosno crvenih karotenoida bitno je napomenuti da se sadržaj žutih karotenoida nije značajno menjao dok se sadržaj crvenih karotenoida intenzivno menjao. Sadržaj žutih karotenoida je bio najmanji kod paprike koja je dozrevala u mraku (44,13 mg/kg), nešto veći je bio kod paprike koja nije dozrevala (51,28 mg/kg), a najveći je bio kod paprike koja je dozrevala na svetlu (65,94 mg/kg). Na biosintezu crvenih karotenoida najveći uticaj je imao tretman dozrevanja na svetlu koji je povećao sadržaj karotenoida, u odnosu na zelenu nedozrevenu papriku, čak za 30,0 puta dok je tretman dozrevanja u mraku povećao sadržaj karotenoida za 21,6 puta. Iz tabele 30 se može zaključiti da je za povećanje sadržaja ukupnih karotenoida u najvećoj meri zaslužni crveni karotenoidi.

Postoji značajna razlika u sastavu karotenoida između sušenih zelenih paprika (Tabela 31). Razlika je najuočljivija između perikarpa zelene paprike koji je samo osušen i perikarpa zelene paprike koji je dozrevao 15 dana bez obzira na tretman. Tokom 15 dana uočava se nagla biosinteza crvenih karotenoida (redni broj 3, 15, 16, 17, 18, 20, 21 i 29, Tabela 31). Učešće žutih i crvenih karotenoida u ukupnom sastavu karotenoida prikazano je u tabeli 32.

**Tabela 31. Promena učešća žutih i crvenih karotenoida u perikarpu nakon tretmana i/ili sušenja zelene začinske paprike (%).**

Tretman nakon branja plodova	Žuti	Crveni	Crveni/Žuti
<b>Sušenje</b>	87,6	12,4	0,14
<b>Dozrevanje u mraku + sušenje</b>	22,0	78,0	3,54
<b>Dozrevanje na svetlu + sušenje</b>	23,2	76,8	3,31

Iz tabele 32 se uočava da samo kod zelene sušene paprike dominiraju žuti karotenoidi, dok kod dozrevanih zelenih paprika dominiraju crveni karotenoidi. Ovo potvrđuje i odnos crvenih i žutih karotenoida u perikarpu koji je kod zelene netretirane paprike bio 0,14 dok je kod paprike koja je dozrevala u mraku bio 3,54, odnosno kod paprike koje je dozrevala na svetlu 3,31. Promene stepena esterifikacije žutih i crvenih karotenoida kao posledica tretmana nakon berbe paprike prikazani su na slici 44.



**Slika 44.** Promena učešća crvenih i žutih karotenoida u perikarpu nakon tretmana i/ili sušenja zelene začinske paprike u zavisnosti od stepena esterifikacije karotenoida (%). Mrak+sušenje – tretman dozrevanja u mraku i sušenja, svetlo+sušenje - tretman dozrevanja u svetlu i sušenja.

Posmatrajući esterifikaciju karotenoida tokom dozrevanja začinske paprike uočava se da tretmani nakon ubiranja plodova začinske paprike povećavaju stepen esterifikacije karotenoida (Slika 44). Perikarp zelene paprike nakon sušenja imao je 86,0% neesterifikovanih karotenoida, a tretmani dozrevanja su smanjili učešće pomenute grupe karotenoida na 55,9% tretmanom bez svetla, odnosno na 50,4% dozrevanjem na svetlu. Posmatrajući neesterifikovane karotenoide uočava se da kod zelene sušene paprike 80,8% čine žuti karotenoidi, a da se kod paprika koje su dozrevale procentualni udeo pomenute grupe karotenoida smanjio na 19,3 odnosno na 19,6%. Udeo monoesterifikovanih karotenoida se nije bitnije razlikovao između sušene zelene i zelene paprike dozrevane u mraku (14,0 i 15,7%) dok je kod paprike dozrevane na svetlu bio nešto veći (23%). Najveća razlika uočava se kod potpuno esterifikovanih karotenoida, gde je udeo kod dozrevanih paprika bio oko 27% dok zelena sušena paprika nije imala potpuno esterifikovane karotenoide. Interesantno je napomenuti da je statistička analiza pokazala da se ne razlikuje izgled dela hromatograma (frekvencija pojavljivanja pikova) sa neesterifikovanim karotenoidima kod dozrevanih paprika, dok između drugih delova hromatograma nije uočena razlika.

Tabela 32. Promena sadržaja pojedinih karotenoida u perikarpu (mg/kg) nakon tretmana i/ili sušenja zelene začinske paprike.

RB	karotenoid	Zelena <sup>a</sup>	Zelena mrak <sup>b</sup>	Zelena svetlo <sup>c</sup>	boja	max. aps. (nm)	t <sub>R</sub> (min)
1	kapsorubin <sup>1</sup>	3,03	2,89	4,20	crven	446,470,480	<b>4,883</b>
2	violaksantin <sup>1</sup>		4,76	4,79	žut	421,442,473	<b>5,788</b>
3	kapsantin <sup>1</sup>		70,03	83,32	crven	(446),470,486	<b>6,928</b>
4	anteraksantin <sup>1</sup>		3,32	4,41	žut	422,445,472	<b>7,501</b>
5	?				žut		<b>8,128</b>
6	?		5,13	4,75	žut	(402),432,454,488	<b>8,678</b>
7	?		6,00	8,18	žut	<sup>(UV)</sup> , __,464-2,486	<b>9,246</b>
8	zeaksantin <sup>1</sup>	32,94	4,56	8,45	žut	430,452,479	<b>9,895</b>
9	?		5,83	7,00	žut	(430),448,475	<b>10,665</b>
10	?				žut	(430),448,475	<b>11,740</b>
11	?				žut		<b>21,550</b>
11a	?				žut		<b>22,508</b>
12	?				žut		
13	?				žut	(434),452,476	<b>24,633</b>
14	?		1,74	3,49	žut	(434),452,476	<b>26,177</b>
15	Kapsorubin <sup>2</sup>	4,24	7,59	13,34	crven	(446),470,480	<b>27,802</b>
16	Kapsantin <sup>2</sup>				crven	(446),470,486	<b>29,450</b>
17	Kapsantin <sup>2</sup>		12,64	29,74	crven	__,474,(502)	<b>29,915</b>
18	Kapsantin <sup>2</sup>				crven	__,474,(502)	<b>30,244</b>
19	?	4,00	2,01	4,67	žut	<sup>(374)</sup> , (434),456,486	<b>31,145</b>
20	Kapsantin <sup>2</sup>		6,09	11,92	crven	(446),470,502	<b>31,514</b>
21	Kapsantin <sup>2</sup>				crven	__,468,__	<b>31,850</b>
22	?				žut		<b>32,258</b>
23	?				žut	<sup>(UV)</sup> , (408),430,454	<b>32,768</b>
24	?				žut	(430),456,__	<b>33,041</b>
25	?		3,28	5,70	žut	(428),450,475	<b>33,384</b>
26	β-karoten <sup>1</sup>	14,34	7,48	11,40	žut	(428),450,484	<b>34,442</b>
27	cis-β-karoten <sup>3</sup>			3,10	žut	<sup>(352,366)</sup> , (422),450,484	<b>34,794</b>
28	Kapsorubin <sup>2</sup>				crven	<sup>UV</sup> , __,460,480	<b>35,832</b>
29	Kapsantin <sup>2</sup>		5,45	6,43	crven	(444),474,502	<b>36,760</b>
30	Kapsorubin <sup>2</sup>				crven	<sup>UV</sup> , 434,454,484	<b>37,140</b>
31	Kapsantin <sup>2</sup>		14,69	3,49	crven	__,472,(500)	<b>37,677</b>
32	Kapsantin <sup>2</sup>		18,35	18,90	crven	__,472,(500)	<b>38,551</b>
32a	Zeaksantin <sup>2</sup>				žut	<sup>(358)</sup> , __,460,480	<b>38,762</b>
33	Kapsantin <sup>2</sup>		13,47	25,43	crven	__,472,(500)	<b>39,536</b>
33a	Zeaksantin <sup>2</sup>				žut	<sup>(358)</sup> , __,460,480	<b>39,792</b>
34	Kapsantin <sup>2</sup>		5,67	21,43	crven	__,472,(500)	<b>40,664</b>

Identifikacija karotenoida: 1-na osnovu retencionog vremena i apsorpcionog spektra; 2-na osnovu apsorpcionog spektra;

3-na osnovu apsorpcionog spektra i literaturnih podataka

RB – redni broj jedinjenja

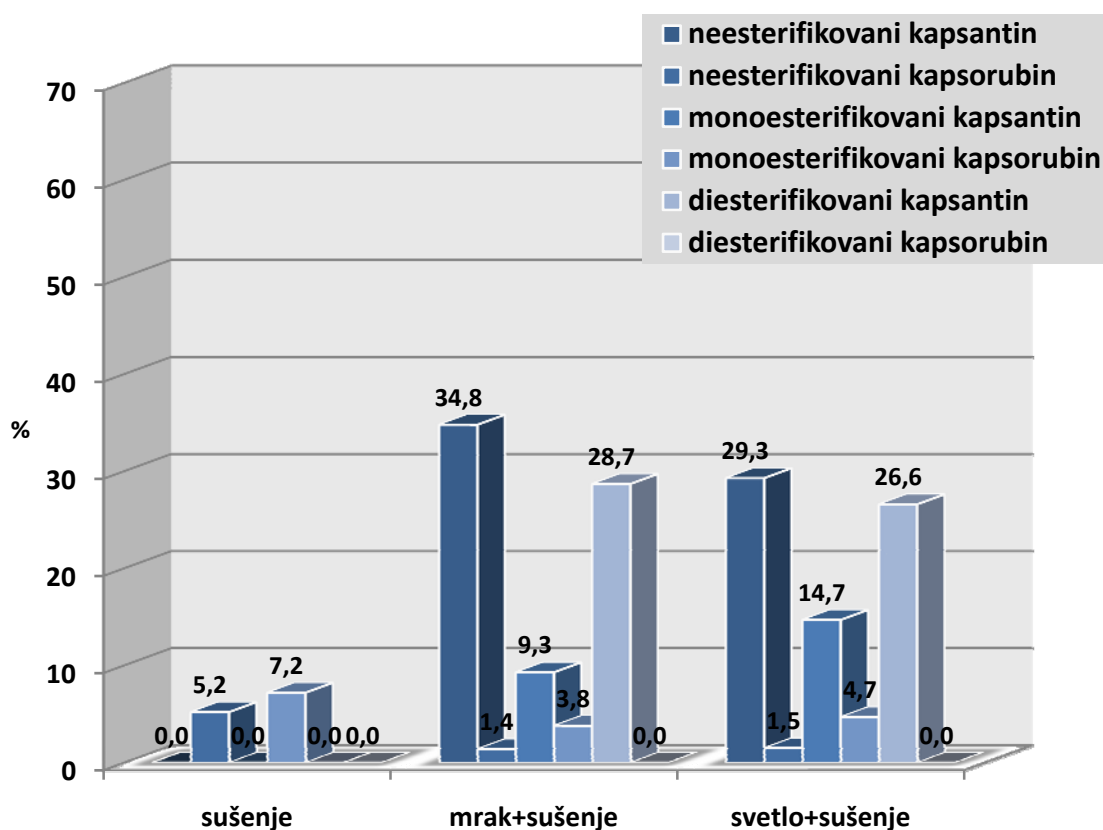
t<sub>R</sub> – retenciono vreme jedinjenja

Pojedine grupe zrenja koje su označene različitim slovima se signifikantno razlikuju ( $\chi^2$  test,  $p < 0,05$ )

**Tabela 33. Promena učešća kapsantina i kapsorubina u perikarpu nakon tretmana i/ili sušenja zelene začinske paprike (%).**

Tretman nakon branja plodova	Kapsantin	Kapsorubin	Kapsantin/kapsorubin
<b>Sušenje</b>	0,0	12,4	0,0
<b>Dozrevanje u mraku + sušenje</b>	72,8	5,2	14,0
<b>Dozrevanje na svetlu + sušenje</b>	70,6	6,2	11,4

Oba tretmana dozrevanja paprike značajno su povećala učešće kapsantina (red 3, tabela 33). Sadržaj kapsorubina u perikarpu zelenih suvih paprika se nije značajnije menjao (red 1, tabela 33), ali kako se ukupan sadržaj karotenoida povećao tako se smanjilo i učešće i kapsorubina. Način dozrevanja nije bitnije uticao na odnos kapsantina i kapsorubina.



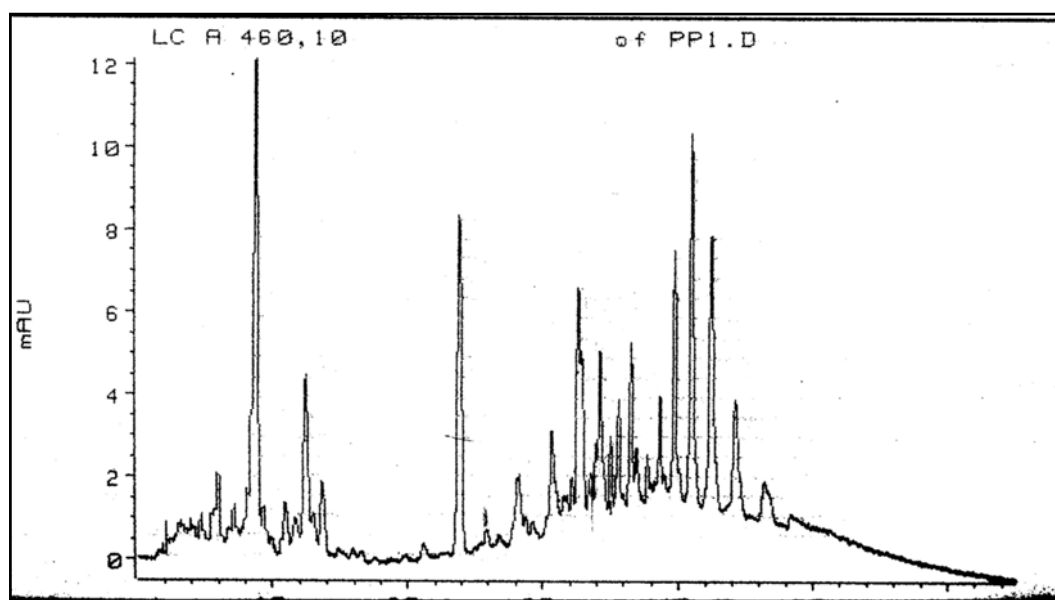
**Slika 45. Promena učešća kapsantina i kapsorubina u perikarpu nakon tretmana i/ili sušenja zelene začinske paprike u zavisnosti od stepena esterifikacije karotenoida (%). Mrak+sušenje – tretman dozrevanja u mraku i sušenja, svetlo+sušenje - tretman dozrevanja u svetlu i sušenja.**

Na osnovu tabela 30, 31, 32 i 33 uočava se da tretmani dozrevanja signifikantno povećavaju sadržaj crvenih karotenoida kapsantina i kapsorubina. Međutim, tek slika 45 bliže opisuje stepen esterifikacije pomenutih pigmentata. Izuzimajući zelenu suhu papriku, kod paprika koje su dozrevale najveći deo crvenih pigmenta je neesterifikovan, zatim potpuno

esterifikovan dok najmanje ima monoesterifikovanih crvenih pigmenata (Slika 45). Bez obzira na stepen esterifikacije, kod sušene zelene paprike udeo kapsantina je veći od udela kapsorubina.

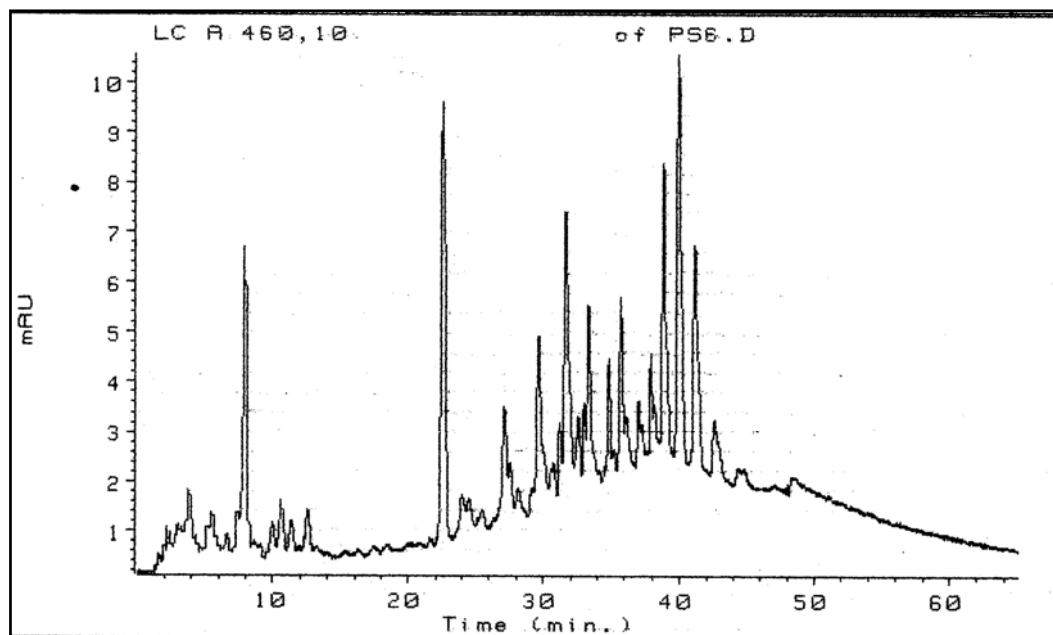
#### 4.2.1.2. Braon paprika

Tokom dozrevanja braon paprike, na plodovima crvena preovladava zelenu boju pa plodovi dobijaju karakterističnu crvenu boju što je i opisano vizuelnom ocenom boje (Tabela 23) i rezultatima koji pokazuju i odnos instrumentalno ocenjene crvene i zelene boje ( $a^*$ , Tabela 25). Hromatogrami dobijeni analizom perikarpa paprika ove faze prikazani su na slikama 46 i 47.



Slika 46. Hromatogram karotenoida iz perikarpa osušene braon paprike.

Na hromatogramu karotenoida iz perikarpa braon sušene paprike (Slika 46) dominantniji su pikovi koji se odnose na neesterifikovane karotenoide dok se kod braon paprike koja je dozrevala na svetlu (Slika 47) intenzivniji pikovi nalaze na mestu esterifikovanih karotenoida.



Slika 47. Hromatogram karotenoida iz perikarpa braon paprike dozrevane na svetlu.

Bez obzira na vizuelnu promenu boje (Tabela 23), ukupan sadržaj karotenoida se nije menjao za vreme dozrevanja braon paprika (Tabela 34).

**Tabela 34. Promena sadržaja karotenoida u perikarpu nakon tretmana i/ili sušenja braon začinske paprike (mg/kg)**

Tretman nakon branja plodova	Žuti	Crveni	Ukupno
<b>Sušenje</b>	33,6 <sup>a</sup>	122,7 <sup>a</sup>	156,3 <sup>a</sup>
<b>Dozrevanje u mraku + sušenje</b>	-	-	-
<b>Dozrevanje na svetlu + sušenje</b>	16,0 <sup>a</sup>	145,5 <sup>b</sup>	161,5 <sup>a</sup>

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju ( $\chi^2$  test,  $p < 0,05$ )

Rezultati hromatografske analize karotenoida braon paprike prikazani su u tabeli 35. Hromatogrami na slikama 46 i 47 pokazuju, a i iz tabele 35 se može jasno uočiti da se broj pigmenata (pikova) u odnosu na osušene zelene paprike značajno smanjio. Kod braon paprika, bez obzira na tretman u odnosu na sušene zelene paprike nedostaju neesterifikovani karotenoidi pod rednim brojem 2, 4, 6, 7, 9 (Tabele 31 i 35). Razlika između braon sušene i tretirane paprike se uočava i u frekvenciji pikova. Kod obe braon paprike najdominantniji karotenoid bio je kapsantin i to kod braon sušene paprike neesterifikovani (redni broj 3, Tabela 35) a kod dozrevane potpuno esterifikovani (redni broj 34, Tabela 35).



Tabela 35. Promena sadržaja pojedinih karotenoida (mg/kg) nakon tretmana i/ili sušenja braon začinske paprike.

RB	karotenoid	Braon <sup>a</sup>	braon svetlo <sup>b</sup>	boja	max. aps. (nm)	t <sub>R</sub> (min)
1	kapsorubin <sup>1</sup>	3,42		crven	446,470,480	4,883
2	violaksantin <sup>1</sup>			žut	421,442,473	5,788
3	kapsantin <sup>1</sup>	30,23	16,12	crven	(446),470,486	6,928
4	anteraksantin <sup>1</sup>			žut	422,445,472	7,501
5	?			žut		8,128
6	?			žut	(402),432,454,488	8,678
7	?			žut	<sup>(UV)</sup> ,____,464-2,486	9,246
8	zeaksantin <sup>1</sup>	11,99	2,41	žut	430,452,479	9,895
9	?			žut	(430),448,475	10,665
10	?			žut	(430),448,475	11,740
11	?			žut		21,550
11a	?			žut		22,508
12	?			žut		
13	?			žut	(434),452,476	24,633
14	?	2,44	2,54	žut	(434),452,476	26,177
15	Kapsorubin <sup>2</sup>	4,78	9,03	crven	(446),470,480	27,802
16	Kapsantin <sup>2</sup>			crven	(446),470,486	29,450
17	Kapsantin <sup>2</sup>	16,87	12,99	crven	____,474,(502)	29,915
18	Kapsantin <sup>2</sup>			crven	____,474,(502)	30,244
19	?	6,88		žut	<sup>(374)</sup> , (434),456,486	31,145
20	Kapsantin <sup>2</sup>	2,76		crven	(446),470,502	31,514
21	Kapsantin <sup>2</sup>		7,95	crven	____,468,____	31,850
22	?			žut		32,258
23	?			žut	<sup>(UV)</sup> , (408),430,454	32,768
24	?			žut	(430),456,____	33,041
25	?	4,05	3,38	žut	(428),450,475	33,384
26	β-karoten <sup>1</sup>	5,83	5,43	žut	(428),450,484	34,442
27	cis-β-karoten <sup>3</sup>	2,42	2,20	žut	<sup>(352,366)</sup> , (422),450,484	34,794
28	Kapsorubin <sup>2</sup>			crven	<sup>UV</sup> , ____ ,460,480	35,832
29	Kapsantin <sup>2</sup>	4,37	2,74	crven	(444),474,502	36,760
30	Kapsorubin <sup>2</sup>			crven	<sup>UV</sup> , 434,454,484	37,140
31	Kapsantin <sup>2</sup>	11,06	13,78	crven	____,472,(500)	37,677
32	Kapsantin <sup>2</sup>	20,33	20,99	crven	____,472,(500)	38,551
32a	Zeaksantin <sup>2</sup>			žut	<sup>(358)</sup> , ____ ,460,480	38,762
33	Kapsantin <sup>2</sup>	18,73	14,13	crven	____,472,(500)	39,536
33a	Zeaksantin <sup>2</sup>			žut	<sup>(358)</sup> , ____ ,460,480	39,792
34	Kapsantin <sup>2</sup>	10,15	47,80	crven	____,472,(500)	40,664

Identifikacija karotenoida: 1-na osnovu retencionog vremena i apsorpcionog spektra; 2-na osnovu apsorpcionog spektra; 3-na osnovu apsorpcionog spektra i literaturnih podataka

RB – redni broj jedinjenja

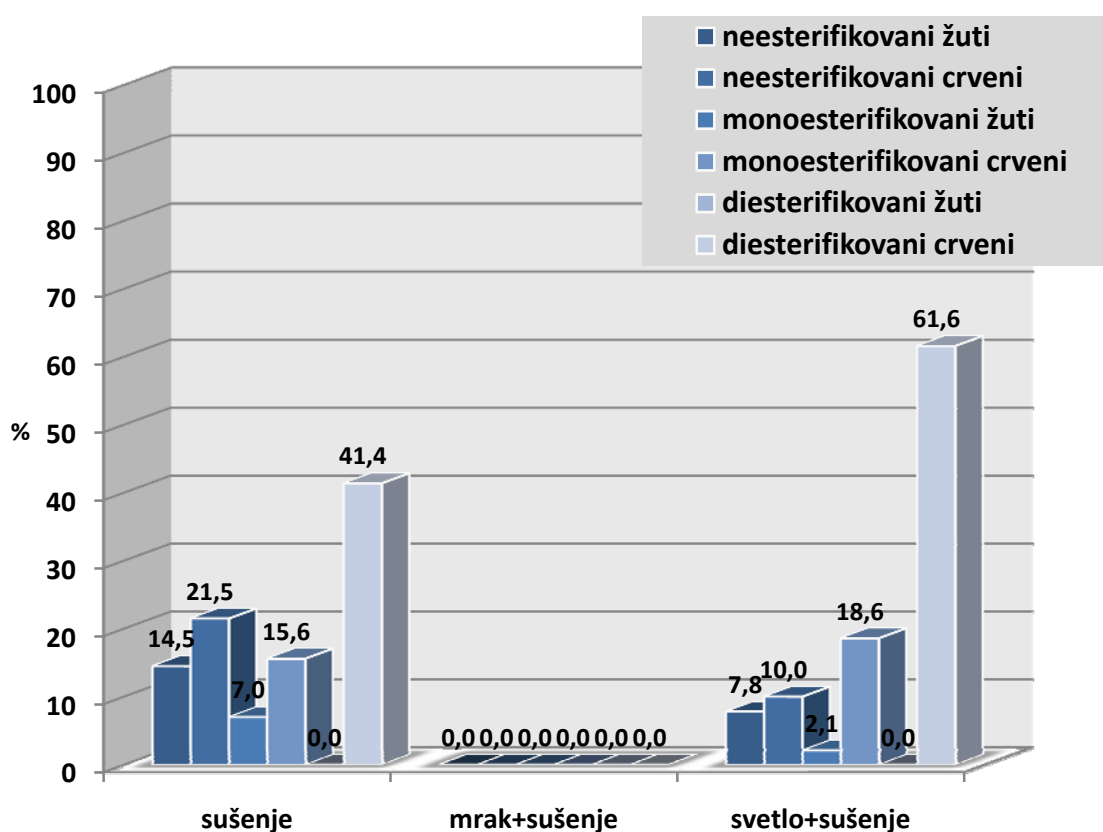
t<sub>R</sub> – retenciono vreme jedinjenja

Pojedine grupe zrenja koje su označene različitim slovima se signifikantno razlikuju ( $\chi^2$  test,  $p < 0,05$ )

**Tabela 36. Promena učešća žutih i crvenih karotenoida u perikarpu nakon tretmana i/ili sušenja braon začinske paprike (%).**

Tretman nakon branja plodova	Žuti	Crveni	Crveni/Žuti
<b>Sušenje</b>	21,5	78,5	3,65
<b>Dozrevanje u mraku + sušenje</b>	-	-	-
<b>Dozrevanje na svetlu + sušenje</b>	9,9	90,1	9,10

Kako se tokom dozrevanja promenila boja perikarpa paprike (Tabele 23 i 25) a ukupan sadržaj karotenoida u perikarpu braon paprike nije signifikantno promenio (Tabela 34) tek iz tabele 36 se uočava da se odnos crvenih i žutih karotenoida značajno promenio. Kod sušene paprike odnos crvenih i žutih karotenoida bio je 3,65 dok je kod braon dozrevane paprike taj odnos iznosio čak 9,10 u korist crvenih karotenoida.



**Slika 48. Promena učešća crvenih i žutih karotenoida u perikarpu nakon tretmana i/ili sušenja braon začinske paprike u zavisnosti od stepena esterifikacije karotenoida (%). Mrak+sušenje – tretman dozrevanja u mraku i sušenja, svetlo+sušenje - tretman dozrevanja u svetlu i sušenja.**

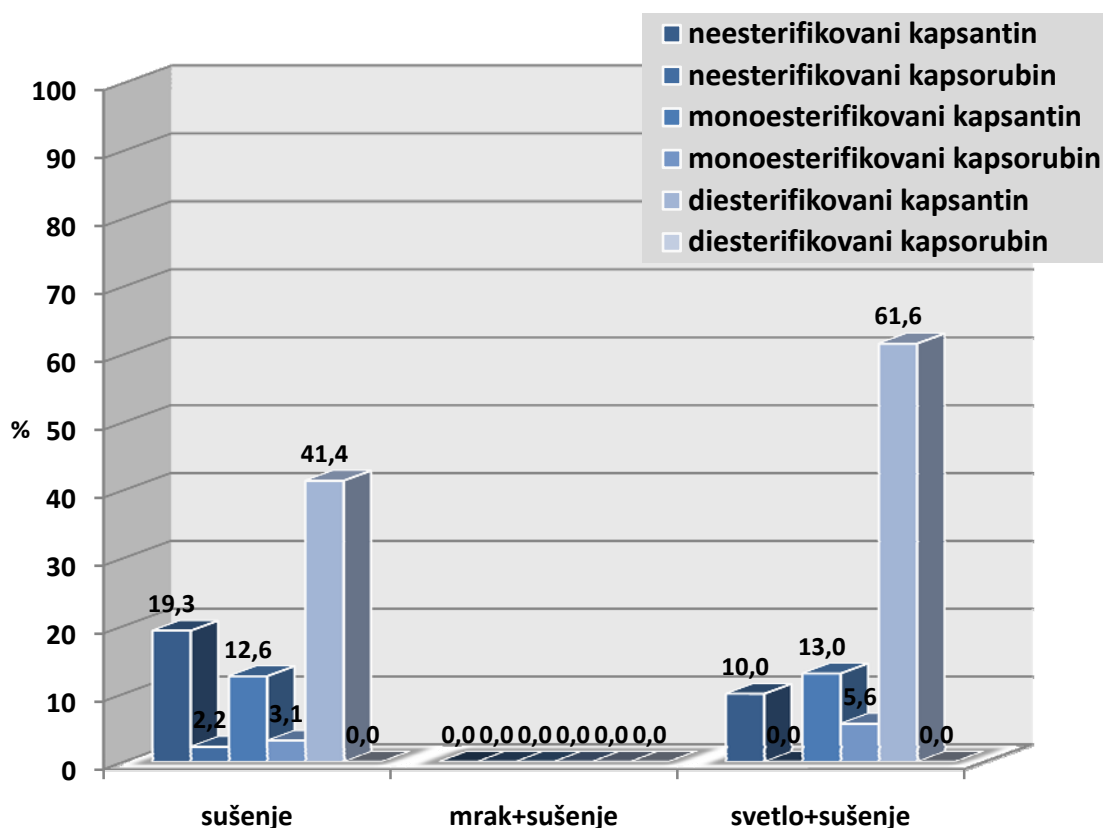
Rezultati promene stepena esterifikacije karotenoida prikazani su na slici 48. Dozrevanje braon paprike uticalo je na esterifikaciju povećavajući udeo potpuno esterifikovanih

karotenoida nauštrb neesterifikovanih pri čemu se udeo monoesterifikovanih karotenoida nije značajnije menjao. U odnosu na zelenu papriku (Slika 44) uočava se manji udeo neesterifikovanih karotenoida, nešto veći udeo monoesterifikovanih a znatno veći udeo potpuno esterifikovanih karotenoida.

**Tabela 37. Promena učešća kapsantina i kapsorubina u perikarpu nakon tretmana i/ili sušenja braon začinske paprike (%).**

Tretman nakon branja plodova	Kapsantin	Kapsorubin	Kapsantin/kapsorubin
<b>Sušenje</b>	73,3	5,2	14,10
<b>Dozrevanje u mraku + sušenje</b>	-	-	-
<b>Dozrevanje na svetlu + sušenje</b>	84,5	5,6	15,10

Promene u sadržaju kapsantina i kapsorubina kao posledica tretmana nakon ubiranja plodova prikazane su u tabeli 37. Odnos kapsantina i kapsorubina kod sušene braon paprike bio je 14,1 dok je tretman dozrevanja uslovio blago povećanje ovog odnosa na 15,1 (Tabela 37). Ovakav odnos kapsantina prema kapsorubinu je sličan odnosu kod dozrevane zelene paprike, naročito one koja je dozrevala u mraku (Tabela 33).

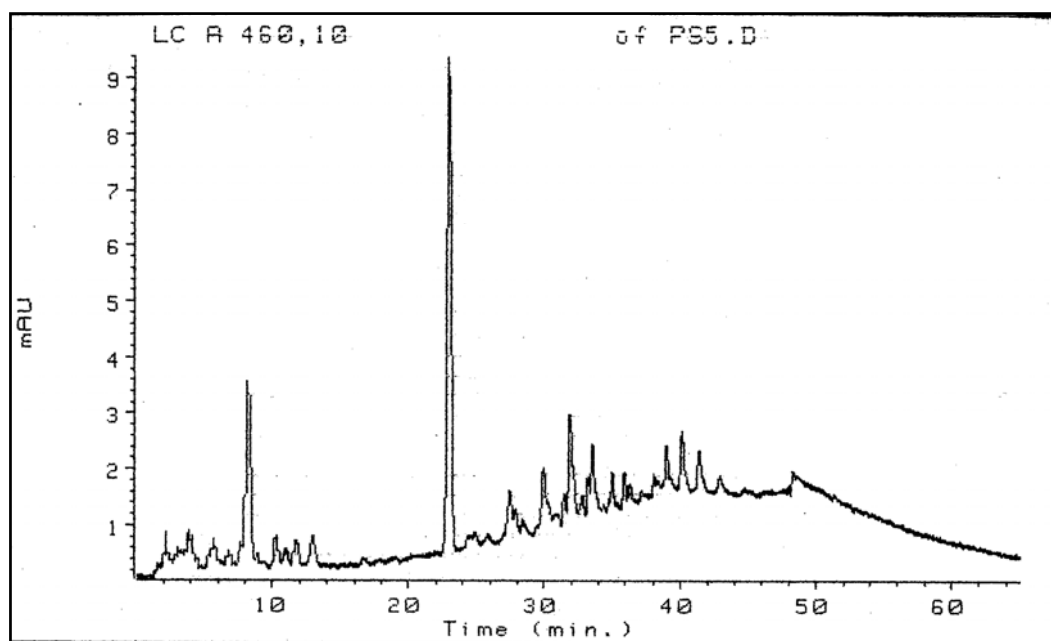


**Slika 49. Promena učešća kapsantina i kapsorubina u perikarpu nakon tretmana i/ili sušenja braon začinske paprike u zavisnosti od stepena esterifikacije karotenoida (%). Mrak+sušenje – tretman dozrevanja u mraku i sušenja, svetlo+sušenje - tretman dozrevanja u svetlu i sušenja.**

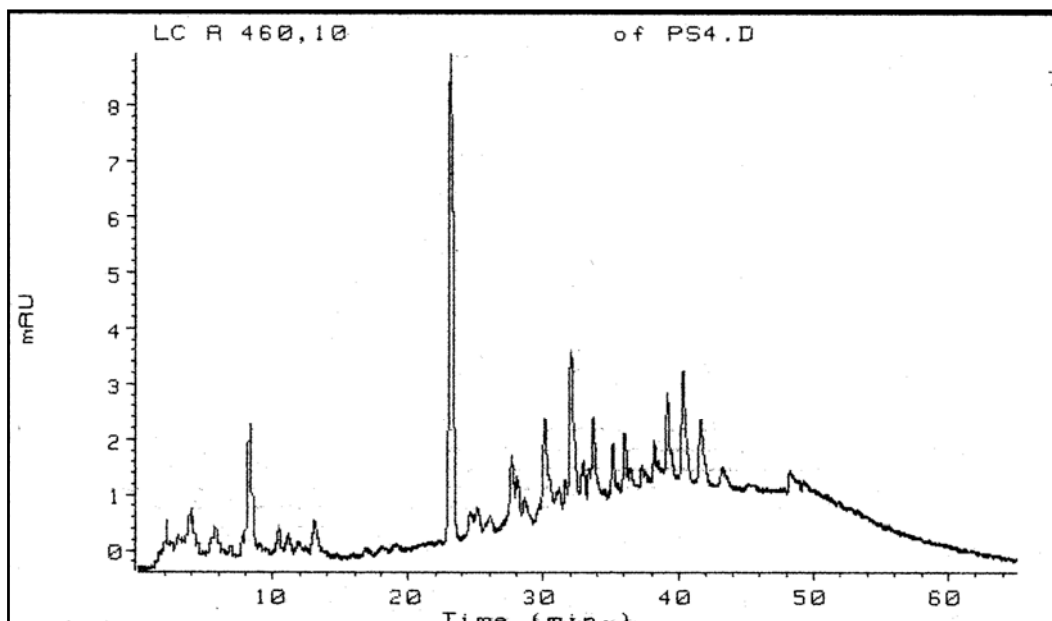
Promena stepena esterifikacije kapsantina i kapsorubina prikazana je na slici 49. U odnosu na sušenu papriku tretman dozrevanja plodova je smanjio sadržaj neesterifikovanih crvenih karotenoida, blago povećao učešće monoesterifikovanih karotenoida a značajno povećao sadržaj potpuno esterifikovanog kapsantina.

#### 4.2.1.3. Crvena paprika

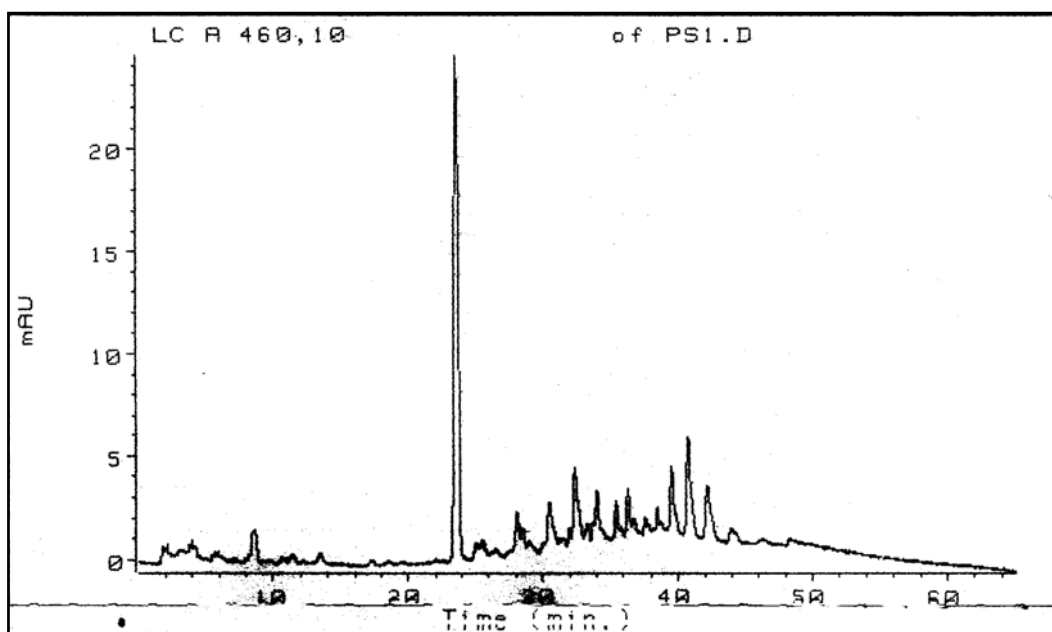
Dozrevanje crvene paprike nije menjalo vizuelnu ocenu boje (Tabela 23) niti instrumentalno određenu boju (Tabela 24 i 25) a imalo je signifikantan uticaj na ASTA vrednosti (Tabela 26) mlevene paprike, što pokazuje da dolazi do promena u sastavu karotenoida. Dobijeni hromatogrami karotenoida iz perikarpa ploda crvene paprike prikazani su na slikama 50, 51 i 52. Kao i kod zelene i braon paprike, dobijeni hromatogrami pokazuju da dozrevanje crvene paprike smanjuje sadržaj neesterifikovanih karotenoida, naročito slobodnog kapsantina (Slike 50, 51 i 52). Dozrevanje crvene paprike je povećalo sadržaj esterifikovanih karotenoida.



Slika 50. Hromatogram karotenoida iz perikarpa osušene crvene paprike.



Slika 51. Hromatogram karotenoida iz perikarpa crvene paprike dozrevane u mraku.



Slika 52. Hromatogram karotenoida iz perikarpa crvene paprike dozrevane na svetlu.

Tretmani dozrevanja crvene paprike su povećali ukupan sadržaj karotenoida u perikarpu paprike (Tabela 38). Kao i kod zelene paprike ukupan sadržaj karotenoida tretiranih paprika bio je veći od sušene, netretirane paprike. Takođe postoji i značajna razlika između tretmana pri čemu je tretman na svetlu, kao i kod zelene paprike (Tabela 30) imao za posledicu veći sadržaj karotenoida od paprika koje su dozrevale u mraku (Tabela 38). Pored povećanja

ukupnog sadržaja karotenoida, dozrevanje crvene paprike povećalo je sadržaj i žutih i crvenih karotenoida.

**Tabela 38. Promena sadržaja karotenoida u perikarpu nakon tretmana i/ili sušenja crvene začinske paprike (mg/kg)**

Tretman nakon ubiranja	Žuti	Crveni	Ukupno
<b>Sušenje</b>	0,96 <sup>a</sup>	23,37 <sup>a</sup>	24,34 <sup>a</sup>
<b>Dozrevanje u mraku + sušenje</b>	1,32 <sup>b</sup>	33,98 <sup>b</sup>	35,31 <sup>b</sup>
<b>Dozrevanje na svetlu + sušenje</b>	9,74 <sup>c</sup>	55,03 <sup>c</sup>	64,77 <sup>c</sup>

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju ( $\chi^2$  test,  $p < 0,05$ )

Promena sadržaja pojedinih karotenoida prikazana je u tabeli 39. U tabeli 39 uočava se manji broj karotenoida nego kod zelene i braon paprike (Tabele 31 i 35). Razlika u frekvenciji pojavljivanja karotenoida između sušene i tretmana u mraku nije uočena, dok se kod perikarpa paprike tretirane na svetlu značajno razlikuje.

Promena odnosa crvenih i žutih karotenoida tokom dozrevanja crvene paprike prikazani su u tabeli 40. Udeli pokazuju da između sušene i paprike dozrevane u mraku nema značajne razlike u odnosu crvenih i žutih karotenoida. Dozrevanje crvenih paprika na svetlu smanjilo je odnos crvenih i žutih karotenoida. Na smanjenje odnosa crvenih i žutih karotenoida najviše je uticala pojava  $\beta$ -karotena, i žutih karotenoida pod brojem 14 i 19 (Tabela 39).

Tabela 39. Promena sadržaja pojedinih karotenoida (mg/kg) nakon tretmana i/ili sušenja crvene začinske paprike.

RB	karotenoid	Crvena <sup>a</sup>	Crvena mrak <sup>a</sup>	Crvena svetlo <sup>b</sup>	boja	max. aps. (nm)	t <sub>R</sub> (min)
1	kapsorubin <sup>1</sup>				crven	446,470,480	<b>4,883</b>
2	violaksantin <sup>1</sup>				žut	421,442,473	<b>5,788</b>
3	kapsantin <sup>1</sup>	8,67	6,63	4,35	crven	(446),470,486	<b>6,928</b>
4	anteraksantin <sup>1</sup>				žut	422,445,472	<b>7,501</b>
5	?				žut		<b>8,128</b>
6	?				žut	(402),432,454,488	<b>8,678</b>
7	?				žut	<sup>(UV)</sup> ,___,464-2,486	<b>9,246</b>
8	zeaksantin <sup>1</sup>				žut	430,452,479	<b>9,895</b>
9	?				žut	(430),448,475	<b>10,665</b>
10	?				žut	(430),448,475	<b>11,740</b>
11	?				žut		<b>21,550</b>
11a	?				žut		<b>22,508</b>
12	?				žut		
13	?				žut	(434),452,476	<b>24,633</b>
14	?	0,96	1,32	1,78	žut	(434),452,476	<b>26,177</b>
15	Kapsorubin <sup>2</sup>	3,01	4,22	5,56	crven	(446),470,480	<b>27,802</b>
16	Kapsantin <sup>2</sup>				crven	(446),470,486	<b>29,450</b>
17	Kapsantin <sup>2</sup>	3,66	7,67	11,20	crven	___,474,(502)	<b>29,915</b>
18	Kapsantin <sup>2</sup>				crven	___,474,(502)	<b>30,244</b>
19	?			1,92	žut	<sup>(374)</sup> , (434),456,486	<b>31,145</b>
20	Kapsantin <sup>2</sup>	2,98	3,66	5,19	crven	(446),470,502	<b>31,514</b>
21	Kapsantin <sup>2</sup>				crven	___,468,___	<b>31,850</b>
22	?				žut		<b>32,258</b>
23	?				žut	<sup>(UV)</sup> , (408),430,454	<b>32,768</b>
24	?				žut	(430),456,___	<b>33,041</b>
25	?			2,58	žut	(428),450,475	<b>33,384</b>
26	β-karoten <sup>1</sup>			3,46	žut	(428),450,484	<b>34,442</b>
27	cis-β-karoten <sup>3</sup>				žut	<sup>(352,366)</sup> , (422),450,484	<b>34,794</b>
28	Kapsorubin <sup>2</sup>				crven	<sup>uv</sup> , ___ ,460,480	<b>35,832</b>
29	Kapsantin <sup>2</sup>				crven	(444),474,502	<b>36,760</b>
30	Kapsorubin <sup>2</sup>				crven	<sup>uv</sup> , 434,454,484	<b>37,140</b>
31	Kapsantin <sup>2</sup>		3,10	7,40	crven	___,472,(500)	<b>37,677</b>
32	Kapsantin <sup>2</sup>	2,58	5,04	12,81	crven	___,472,(500)	<b>38,551</b>
32a	Zeaksantin <sup>2</sup>				žut	<sup>(358)</sup> , ___ ,460,480	<b>38,762</b>
33	Kapsantin <sup>2</sup>	2,47	3,66	8,53	crven	___,472,(500)	<b>39,536</b>
33a	Zeaksantin <sup>2</sup>				žut	<sup>(358)</sup> , ___ ,460,480	<b>39,792</b>
34	Kapsantin <sup>2</sup>				crven	___,472,(500)	<b>40,664</b>

Identifikacija karotenoida: 1-na osnovu retencionog vremena i apsorpcionog spektra; 2-na osnovu apsorpcionog spektra;

3-na osnovu apsorpcionog spektra i literaturnih podataka

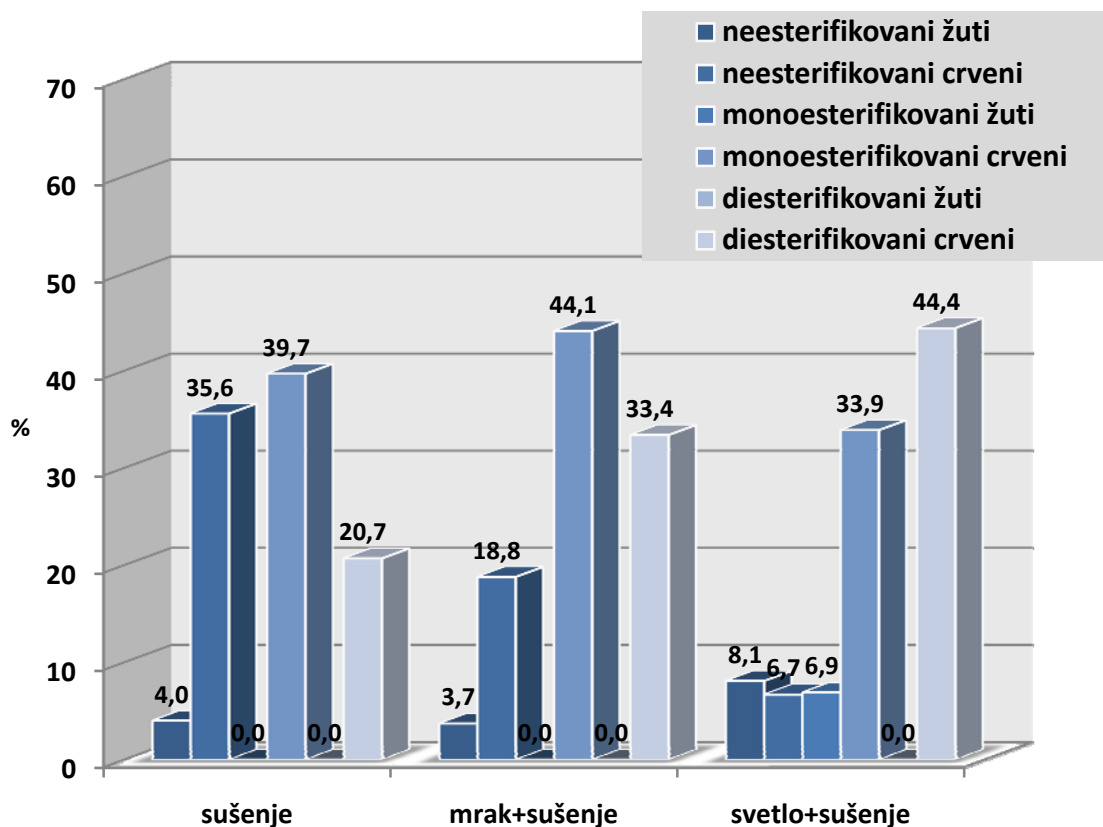
RB – redni broj jedinjenja

t<sub>R</sub> – retenciono vreme jedinjenja

Pojedine grupe zrenja koje su označene različitim slovima se signifikantno razlikuju ( $\chi^2$  test, p<0,05)

**Tabela 40. Promena učešća žutih i crvenih karotenoida u ukupnim karotenoidima u perikarpu nakon tretmana i/ili sušenja crvene začinske paprike (%).**

Tretman nakon ubiranja	Žuti	Crveni	Crveni/Žuti
<b>Sušenje</b>	4,0	96,0	24,0
<b>Dozrevanje u mraku + sušenje</b>	3,7	96,3	26,0
<b>Dozrevanje na svetlu + sušenje</b>	15,0	85,0	5,7

**Slika 53. Promena učešća crvenih i žutih karotenoida u perikarpu nakon tretmana i/ili sušenja crvene začinske paprike u zavisnosti od stepena esterifikacije karotenoida (%). Mrak+sušenje – tretman dozrevanja u mraku i sušenja, svetlo+sušenje - tretman dozrevanja u svetlu i sušenja.**

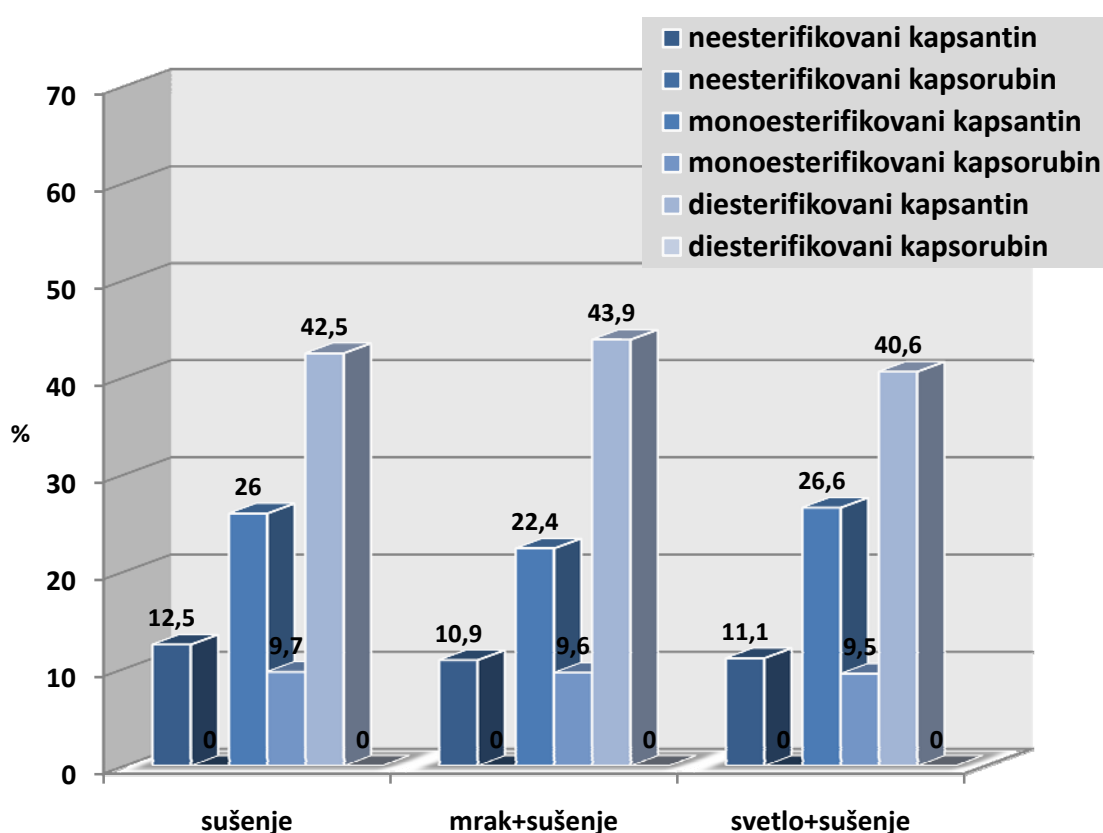
Posmatranjem udela karotenoida različitog stepena esterifikacije (Slika 53), uočava se da tretmani, a posebno tretman na svetlu smanjuje udeo neesterifikovanih a povećavaju udeo potpuno esterifikovanih karotenoida. Kod sušene paprike najveći udeo imali su neesterifikovani karotenoidi, kod paprike dozrevane u mraku monoesterifikovani a kod perikarpa paprike dozrevane na svetlu potpuno esterifikovani karotenoidi. Posmatrajući frekvenciju neesterifikovanih karotenoida značajne razlike se uočavaju samo kod monoesterifikovanih karotenoida između sušene paprike i paprike dozrevane na svetlu. Razlike u frekvenciji monoesterifikovanih karotenoida nisu uočene, dok se kod potpuno esterifikovanih karotenoida značajno izdvaja tretman dozrevanja na svetlu.



**Tabela 41. Promena učešća kapsantina i kapsorubina u ukupnim karotenoidima perikarpa nakon tretmana i/ili sušenja crvene začinske paprike (%).**

Tretman nakon ubiranja	Kapsantin	Kapsorubin	Kapsantin/kapsorubin
<b>Sušenje</b>	83,7	12,4	6,75
<b>Dozrevanje u mraku + sušenje</b>	84,3	11,9	7,08
<b>Dozrevanje na svetlu + sušenje</b>	76,4	8,6	8,88

Promena učešća kapsantina i kapsorubina u perikarpu crvene paprike između sušene i dozrevanih paprika prikazana je u tabeli 41. Rezultati iz tabele pokazuju da kod crvene paprike, bez obzira na tretman, ne dolazi do promene učešća kapsantina i kapsorubina niti njihovog odnosa. Stepen esterifikacije kapsantina i kapsorubina prikazan je na slici 54.

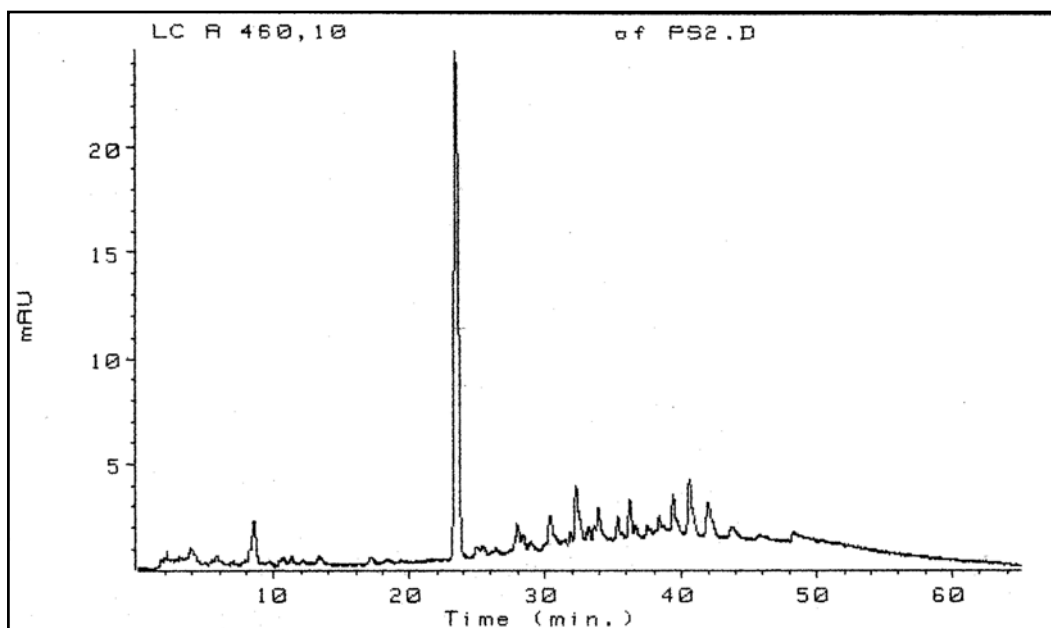


**Slika 54. Promena učešća kapsantina i kapsorubina u ukupnim karotenoidima perikarpa nakon tretmana i/ili sušenja crvene začinske paprike u zavisnosti od stepena esterifikacije karotenoida (%). Mrak+sušenje – tretman dozrevanja u mraku i sušenja, svetlo+sušenje - tretman dozrevanja u svetlu i sušenja.**

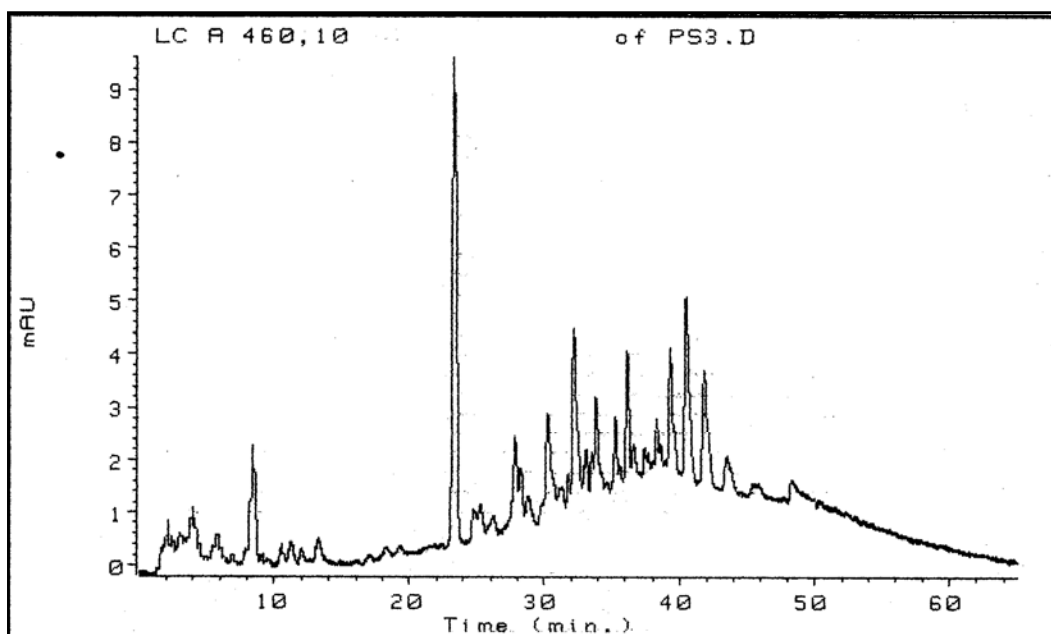
Posmatrajući grafikon na slici 54 uočava se da tretmani nakon branja plodova, a naročito tretman dozrevanjem na svetlu smanjuje udeo neesterifikovanog kapsantina a povećava udeo potpuno esterifikovanog kapsantina dok se udeo monoesterifikovanog kapsantina ne menja značajno. Takođe u ovoj fazi zrelosti kapsorubin se javlja isključivo u monoesterifikovanom obliku.

#### 4.2.1.4. Tamno crvena paprika

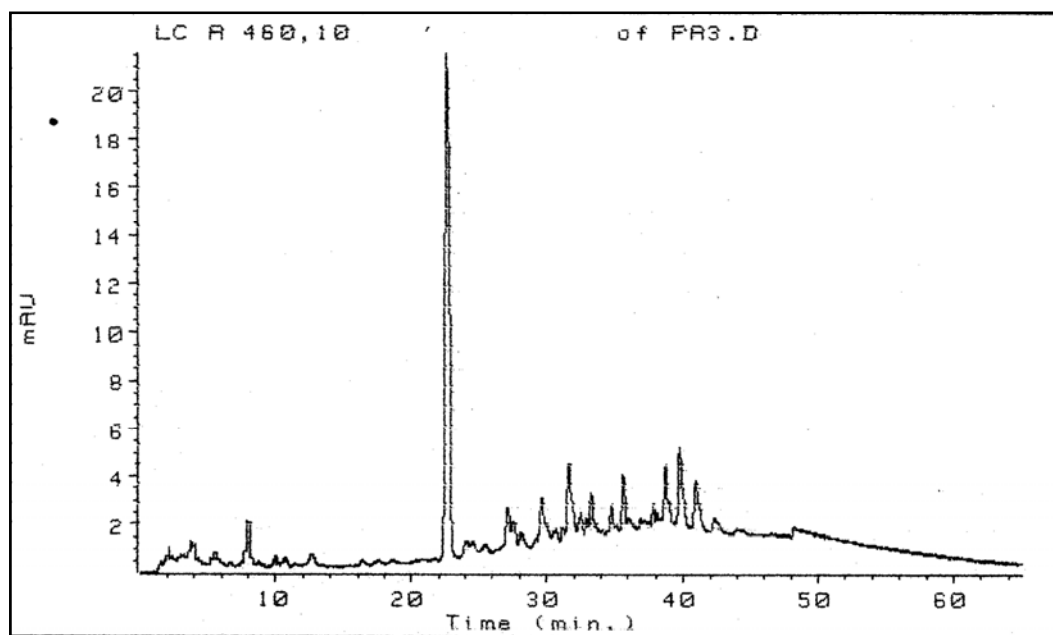
Kao i kod crvene paprike ni kod tamno crvene paprike nije uočena razlika u vizuelnoj oceni niti u instrumentalnim pokazateljima boje niti u ASTA vrednostima kao posledica tretmana nakon plodova paprike (Tabele 23, 24, 25 i 26). Pomenuti rezultati pokazuju da tretmani nakon branja plodova paprike nisu imali za posledicu promene na karotenoidima. Hromatogrami karotenoida tamno crvene paprike prikazani su na slikama 55, 56 i 57.



Slika 55. Hromatogram karotenoida iz perikarpa osušene tamno crvene paprike.



Slika 56. Hromatogram karotenoida iz perikarpa tamno crvene paprike dozrevane u mraku.



Slika 57. Hromatogram karotenoida iz perikarpa tamno crvene paprike dozrevane na svetlu.

Kao i kod braon paprike (Tabela 34), dozrevanje tamno crvene paprike nije statistički značajno uticalo na ukupan sadržaj karotenoida u perikarpu (Tabela 42). Iako nije bilo značajne razlike, najveći sadržaj karotenoida imao je perikarp tamnocrvene paprike koji je dozrevao u mraku, što ovu fazu zrelosti izdvaja od zelene i crvene paprike, kod kojih je perikarp paprike dozrevan na svetlu imao najveći sadržaj karotenoida. Međutim, za razliku od perikarpa braon paprike gde su tretmani nakon branja paprike izazvali promene u sadržaju žutih i crvenih karotenoida, kod tamno crvene paprike promene u sadržaju žutih i crvenih karotenoida tretmani nakon branja nisu imali uticaja.

Tabela 42. Promena sadržaja karotenoida u perikarpu nakon tretmana i/ili sušenja tamno crvene začinske paprike (mg/kg)

Tretman nakon branja	Žuti	Crveni	Ukupno
<b>Sušenje</b>	4,15 <sup>a</sup>	40,52 <sup>a</sup>	44,67 <sup>a</sup>
<b>Dozrevanje u mraku + sušenje</b>	7,44 <sup>a</sup>	48,96 <sup>a</sup>	56,40 <sup>a</sup>
<b>Dozrevanje na svetlu + sušenje</b>	5,95 <sup>a</sup>	43,21 <sup>a</sup>	49,16 <sup>a</sup>

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju ( $\chi^2$  test,  $p < 0,05$ )

Promena sadržaja karotenoida tamnocrvene paprike prikazana je u tabeli 43. Kao i kod crvene paprike uočava se prisustvo malog broja karotenoida, znatno manje nego kod braon paprika. Takođe u odnosu na crvenu papriku prisutan je karotenoid broj 34 – potpuno esterifikovani karotenoid, a kod svih tamnocrvenih paprika uočava se prisustvo  $\beta$ -karotena (broj 26, tabela 43).

Tabela 43. Promena sadržaja pojedinih karotenoida (mg/kg) nakon tretmana i/ili sušenja tamno crvene začinske paprike.

RB	karotenoid	T. Crvena <sup>a</sup>	T. Crvena mrak <sup>a</sup>	T. Crvena svetlo <sup>a</sup>	boja	max. aps. (nm)	t <sub>R</sub> (min)
1	kapsorubin <sup>1</sup>				crven	446,470,480	4,883
2	violaksantin <sup>1</sup>				žut	421,442,473	5,788
3	kapsantin <sup>1</sup>	5,61	6,14	5,48	crven	(446),470,486	6,928
4	anteraksantin <sup>1</sup>				žut	422,445,472	7,501
5	?				žut		8,128
6	?				žut	(402),432,454,488	8,678
7	?				žut	<sup>(UV)</sup> ,___,464-2,486	9,246
8	zeaksantin <sup>1</sup>				žut	430,452,479	9,895
9	?				žut	(430),448,475	10,665
10	?				žut	(430),448,475	11,740
11	?				žut		21,550
11a	?				žut		22,508
12	?				žut		
13	?				žut	(434),452,476	24,633
14	?	1,31	1,62	1,94	žut	(434),452,476	26,177
15	Kapsorubin <sup>2</sup>	4,33	5,41	4,67	crven	(446),470,480	27,802
16	Kapsantin <sup>2</sup>				crven	(446),470,486	29,450
17	Kapsantin <sup>2</sup>	7,66	8,32	8,67	crven	___,474,(502)	29,915
18	Kapsantin <sup>2</sup>				crven	___,474,(502)	30,244
19	?				žut	<sup>(374)</sup> ,(434),456,486	31,145
20	Kapsantin <sup>2</sup>	3,95	4,31	4,41	crven	(446),470,502	31,514
21	Kapsantin <sup>2</sup>				crven	___,468,___	31,850
22	?				žut		32,258
23	?				žut	<sup>(UV)</sup> ,(408),430,454	32,768
24	?				žut	(430),456,___	33,041
25	?		2,08		žut	(428),450,475	33,384
26	β-karoten <sup>1</sup>	2,84	3,74	4,01	žut	(428),450,484	34,442
27	cis-β-karoten <sup>3</sup>				žut	<sup>(352,366)</sup> ,(422),450,484	34,794
28	Kapsorubin <sup>2</sup>				crven	<sup>UV</sup> ,___,460,480	35,832
29	Kapsantin <sup>2</sup>				crven	(444),474,502	36,760
30	Kapsorubin <sup>2</sup>				crven	<sup>UV</sup> , 434,454,484	37,140
31	Kapsantin <sup>2</sup>	4,03	5,31	3,90	crven	___,472,(500)	37,677
32	Kapsantin <sup>2</sup>	7,07	9,37	9,33	crven	___,472,(500)	38,551
32a	Zeaksantin <sup>2</sup>				žut	<sup>(358)</sup> ,___,460,480	38,762
33	Kapsantin <sup>2</sup>	5,38	7,25	6,74	crven	___,472,(500)	39,536
33a	Zeaksantin <sup>2</sup>				žut	<sup>(358)</sup> ,___,460,480	39,792
34	Kapsantin <sup>2</sup>	2,50	2,86		crven	___,472,(500)	40,664

Identifikacija karotenoida: 1-na osnovu retencionog vremena i apsorpcionog spektra; 2-na osnovu apsorpcionog spektra;

3-na osnovu apsorpcionog spektra i literaturnih podataka

RB – redni broj jedinjenja

t<sub>R</sub> – retenciono vreme jedinjenja

Pojedine grupe zrenja koje su označene različitim slovima se signifikantno razlikuju ( $\chi^2$  test,  $p < 0,05$ )

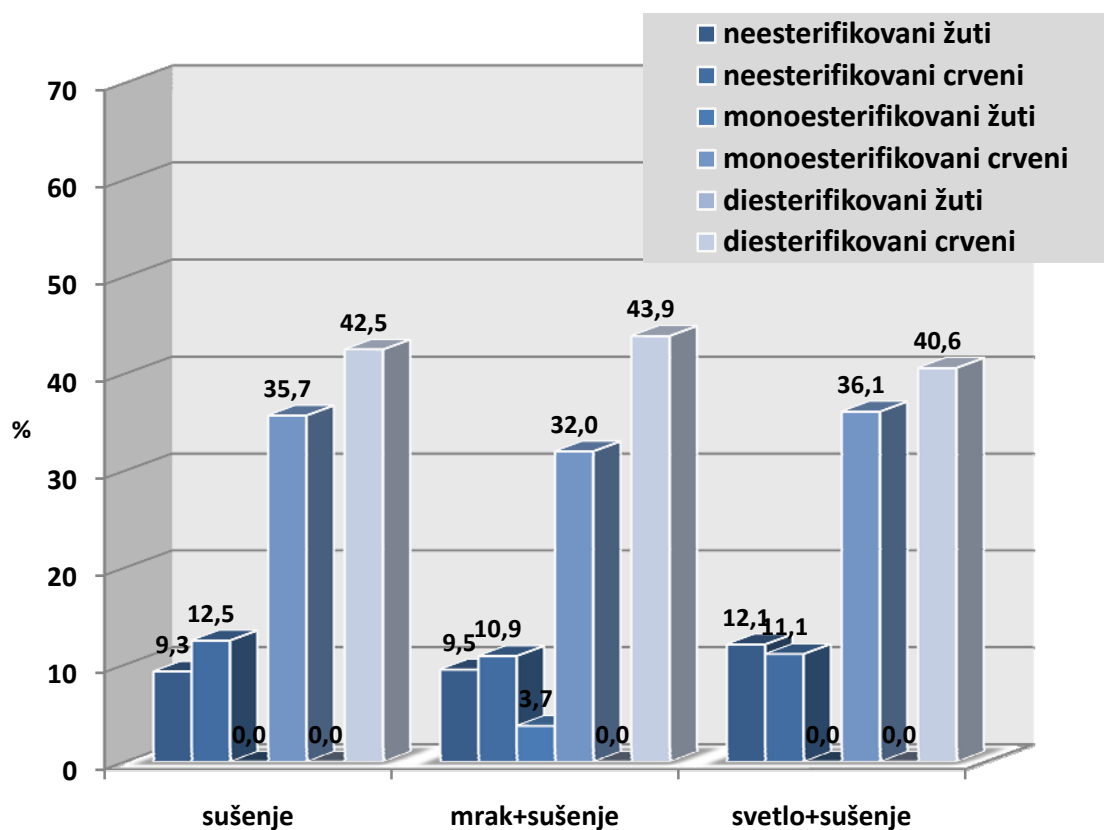
Za razliku od ostalih ispitivanih faza zrenja, kod tamnocrvene paprike statističkom analizom nije uočena razlika u frekvenciji pojavljivanja karotenoida između suve i paprika koje su dozrevale (Tabela 43).

Iako nije bilo signifikantne razlike između pojedinih suvih tamno crvenih paprika u sadržaju žutih i crvenih karotenoida (Tabela 42), uočavaju se razlike u udelu crvenih i žutih karotenoida i njihovog odnosa (Tabela 44). Najmanji udeo žutih karotenoida imala je sušena tamno crvena paprika kod koje je odnos crvenih i žutih karotenoida bio 9,75 dok je dozrevanje paprika imalo za posledicu nešto veći udeo žutih karotenoida pa je odnos crvenih i žutih karotenoida za tretman dozrevanja u mraku iznosio 6,57 a za dozrevanje na svetlu 7,26.

**Tabela 44. Promena učešća žutih i crvenih karotenoida u ukupnim karotenoidima perikarpa nakon tretmana i/ili sušenja tamno crvene začinske paprike (%).**

Tretman nakon branja	Žuti	Crveni	Crveni/Žuti
<b>Sušenje</b>	9,3	90,7	9,75
<b>Dozrevanje u mraku + sušenje</b>	13,2	86,8	6,57
<b>Dozrevanje na svetlu + sušenje</b>	12,1	87,9	7,26

Učešće neesterifikovanih, monoesterifikovanih i potpuno esterifikovanih karotenoida se kod zelene braon i crvene paprike menjalo kao posledica zrenja i dejstva tretmana nakon berbe paprike (Slike 44, 48 i 53). Međutim kod tamno crvene paprike tretmani nakon branja nisu uticali na esterifikaciju karotenoida (Slika 58). U proseku odnos između neesterifikovanih, monoesterifikovanih i potpuno esterifikovanih karotenoida kod tamno crvene paprike iznosio je 22:36:42. Pored pomenutog odnosa unutar karotenoida istog stepena esterifikacije odnos žutih i crvenih karotenoida nije se signifikantnije menjao.

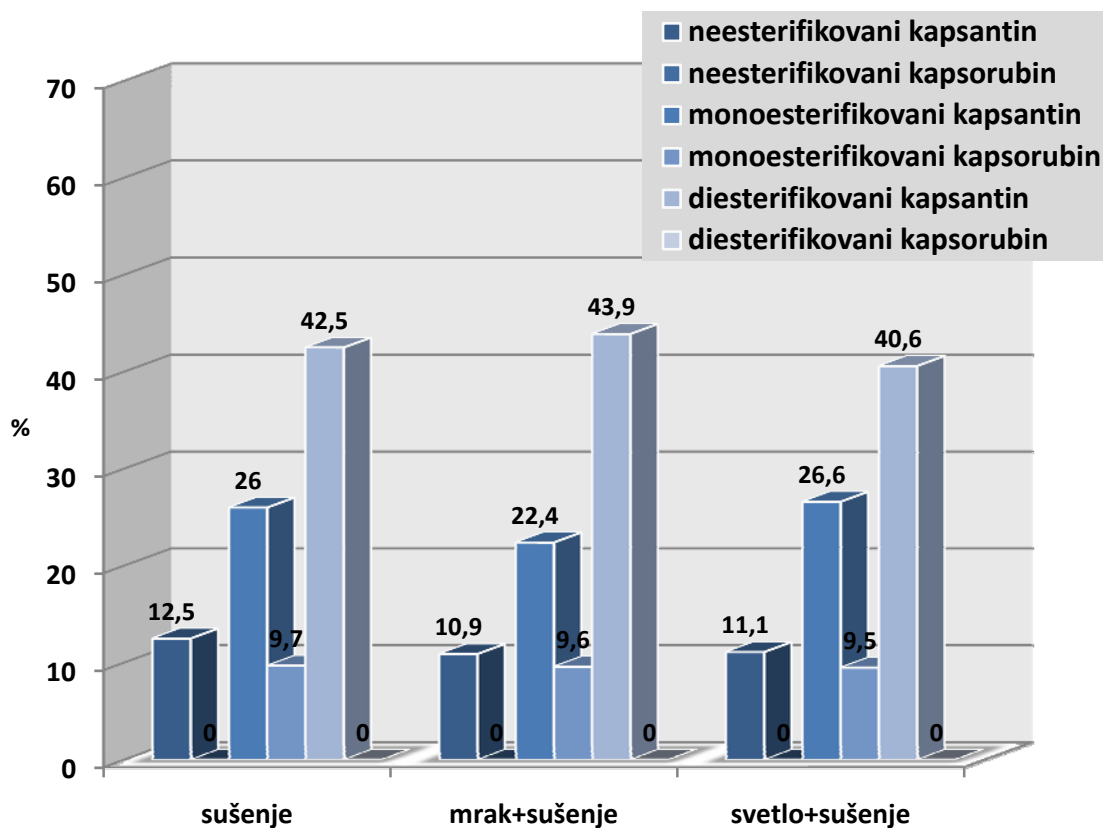


Slika 58. Promena učešća crvenih i žutih karotenoida u perikarpu nakon tretmana i/ili sušenja tamno crvene začinske paprike u zavisnosti od stepena esterifikacije karotenoida (%). Mrak+sušenje – tretman dozrevanja u mraku i sušenja, svetlo+sušenje - tretman dozrevanja u svetlu i sušenja.

Tabela 45. Promena učešća kapsantina i kapsorubina u perikarpu nakon tretmana i/ili sušenja braon začinske paprike (%).

Tretman nakon branja	Kapsantin	Kapsorubin	Kapsantin/kapsorubin
<b>Sušenje</b>	81,0	9,7	8,35
<b>Dozrevanje u mraku + sušenje</b>	77,2	9,6	8,04
<b>Dozrevanje na svetlu + sušenje</b>	78,4	9,5	8,25

Nepromenljivost udela uočava se i kod kapsantina i kapsorubina i njihovog odnosa (Tabela 45) a takođe i kod stepena esterifikacije (Slika 59). Kao i kod crvene paprike i kod tamno crvene paprike kapsorubin se može naći samo kao monoesterifikovan.



Slika 59. Promena učešća kapsantina i kapsorubina u ukupnim karotenoidima perikarpa nakon tretmana i/ili sušenja braon začinske paprike u zavisnosti od stepena esterifikacije karotenoida (%). Mrak+sušenje – tretman dozrevanja u mraku i sušenja, svetlo+sušenje - tretman dozrevanja u svetlu i sušenja.

\* \* \*

Dobijeni rezultati jasno pokazuju da nakon branja plodova dolazi do intenzivnog procesa dozrevanja. Ove promene se uočavaju vizuelno (Tabela 23) ali i instrumentalnim merenjima (Tabela 24 i 25) i hemijskim analizama (Tabela 26). Međutim, ove promene najdetaljnije opisuju analize karotenoida metodom *HPLC*. Dozrevanje **zelenih** paprika nakon ubiranja plodova imalo je za posledicu porast ukupnog sadržaja karotenoida za čak 4,85 puta u slučaju plodova paprike dozrevane na svetlu (Tabela 30) kao i povećanje odnosa crvenih u odnosu na žute karotenoide sa 0,14 koliko je bilo u sušenoj zelenoj paprici na 3,54 koliko je iznosilo kod zelene paprike dozrevane u mraku (Tabela 32). **Dozrevanje zelene paprike** je takođe uticalo i na stepen esterifikacije pa je tako udeo neesterifikovanih karotenoida koji je kod zelene sušene paprike iznosio 85,9% opao na 50,4% koliko je uočeno kod paprike dozrevane na svetlu (Slika 35).

Iako vrlo sličnog izgleda dominantna boja perikarpa tretiranih zelenih paprika i **braon** paprike je ocenjena kao narandžasta, crveno-narandžasta i smeđe-narandžasta dok su kao prateći ton sve tri paprike imale smeđu boju (Tabela 23). Dominantna talasna dužina ovih paprika se nije signifikantno menjala (Tabela 24) a odnos crvene u odnosu na žutu boju ( $a^*$ ) bio je najveći kod zelene paprike dozrevane na svetlu dok je ovaj pokazatelj kod sušenih braon

paprika i zelenih paprika dozrevanih u mraku bio vrlo sličan. Rezultati analize karotenoida metodom HPLC-a pokazali su da perikarp zelenih paprika koji je dozrevao ima slične pokazatelje kao osušena braon paprika. Naime, kod dozrevanih zelenih paprika sadržaj ukupnih karotenoida bio je 201,01 mg/kg u slučaju paprike dozrevane u mraku, odnosno 284,14 mg/kg kod zelene paprike dozrevane na svetlu (Tabela 30) a kod braon paprike sadržaj karotenoida bio je 156,3 mg/kg (Tabela 34). Pored sadržaja ove grupe paprika imaju i vrlo sličan odnos crvenih i žutih karotenoida koji se kretao u rasponu od 3,31 do 3,65 (Tabela 32 i 36). Takođe, paprike pomenutih grupa zrenja imale su i vrlo sličan odnos kapsantina i kapsorubina koji se kretao od 11,4 do 14,1 (Tabela 33 i 37) dok su razlike uočene kod stepena esterifikacije, pa se tako procenat neesterifikovanih karotenoida kod zelenih dozrevanih paprika kretao oko 50% (Slika 44) dok je kod braon paprike taj procenat bio znatno manji 36% (Slika 48). Navedeni rezultati upućuju na zaključak da dozrevanjem u periodu od 15 dana zelene paprike prelaze, odnosno po navedenim pokazateljima prestižu sledeću grupu zrenja, što je razumljivo, jer je period između dva uzorkovanja bio kraći od perioda dozrevanja.

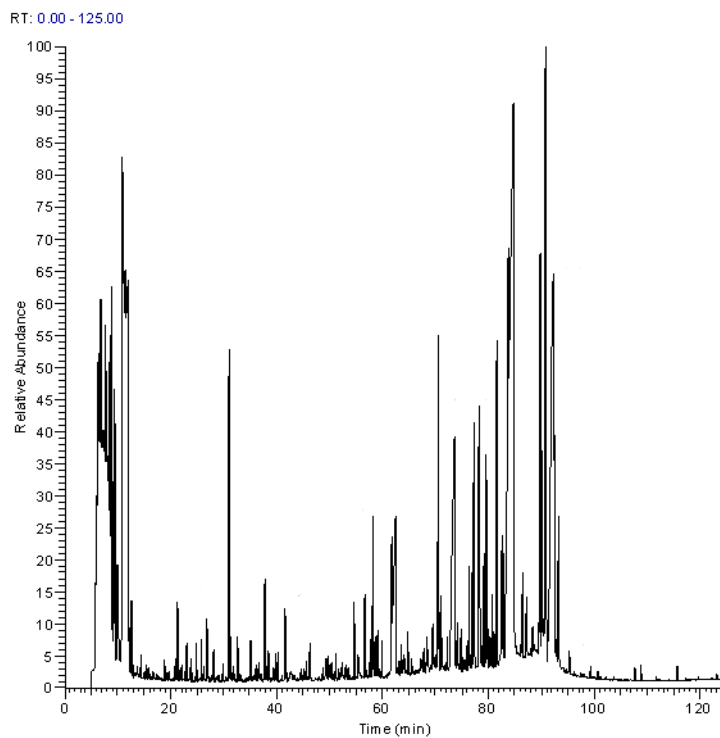
**Dozrevanje braon** paprike na svetlu nije signifikantno povećao sadržaj karotenoida (Tabela 34) ali je zato povećalo odnos crvenih prema žutim karotenoidima za 2,5 puta (Tabela 36) i povećalo stepen esterifikacije karotenoida pa je udeo neesterifikovanih karotenoida pao sa 36% na 17,8% a procenat potpuno esterifikovanih porastao sa 41,4% na 61,6% (Slika 48). Udeo neesterifikovanih karotenoida kod dozrevane braon paprike je najmanja vrednost za ovaj pokazatelj u odnosu na sve ostale paprike (Slike 44, 48, 53 i 58).

Vizuelna razlika između mlevenih uzoraka **crvenih** paprika se ne uočava (Tabela 23). Ova činjenica bi mogla da navede na pogrešan zaključak kako do daljeg dozrevanja ne dolazi, međutim sadržaj karotenoida u slučaju oba tretmana crvene paprike se povećava (Tabela 38), a tek kod **tamno crvene** paprike nema razlike u sadržaju karotenoida između sušene tamno crvene paprike i dozrevanih tamno crvenih paprika (Tabela 42). Vrlo visok odnos crvenih prema žutim karotenoidima opaža se kod sušene crvene paprike i crvene paprike dozrevane u mraku (Tabela 40). Ovaj odnos se naglo smanjuje kod crvene paprike dozrevane na svetlu (Tabela 40) i zadržava se kod tamno crvenih paprika, bez obzira na tretman (Tabela 44). Udeo potpuno esterifikovanih karotenoida raste sa 20,7% koliko je iznosilo kod crvene sušene paprike preko 33,4% koliko je bilo kod crvene paprike dozrevane u mraku do 44,4% kod crvene paprike koja je dozrevala na svetlu (Slika 53). Ovako visok udeo potpuno esterifikovanih karotenoida (preko 40%) zadržao se i kod tamno crvene paprike bez obzira na primenjeni tretman posle ubiranja plodova (Slika 58). Velika sličnost pokazatelja crvene paprike dozrevane u mraku i svih tamno crvenih paprika ukazuje da je u pomenutim fazama zrenja vrlo mala biosinteza i esterifikacija karotenoida.

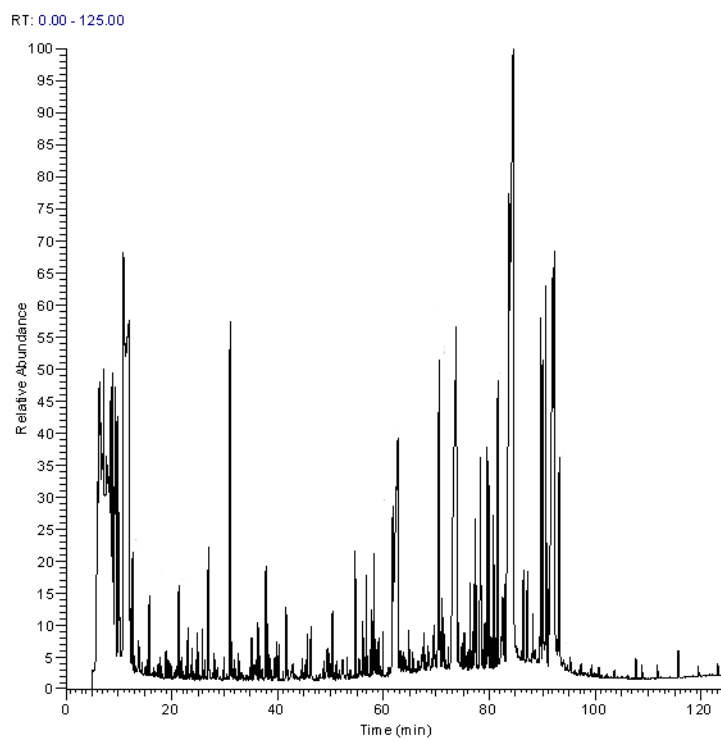


#### 4.2.2. Promene u sastavu etarskih ulja perikarpa sušene paprike nastale tretmanom i/ili sušenjem nakon branja plodova

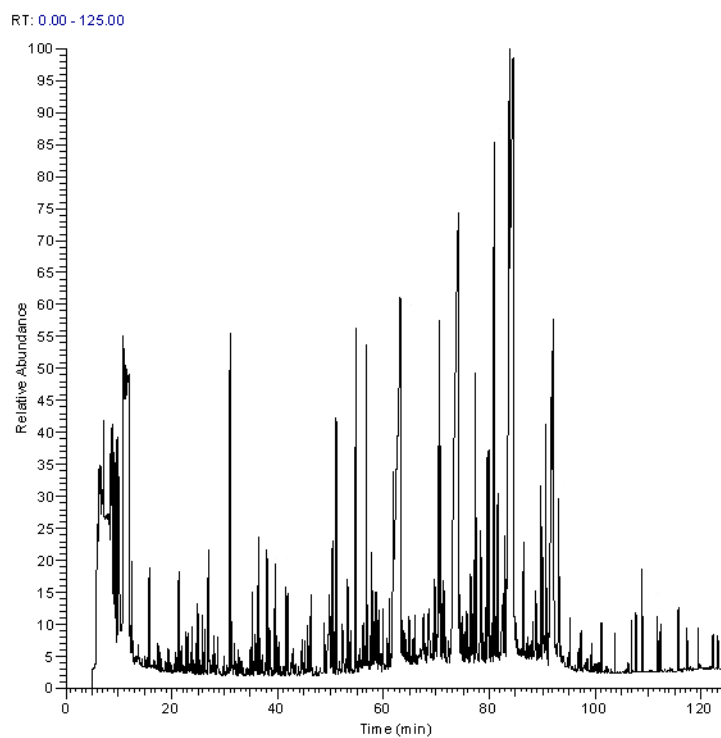
Analizom etarskih ulja, dobijenih destilacijom vodenom parom iz suvog, mlevenog perikarpa paprike dobijeni su hromatogrami prikazani na slikama 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 i 70.



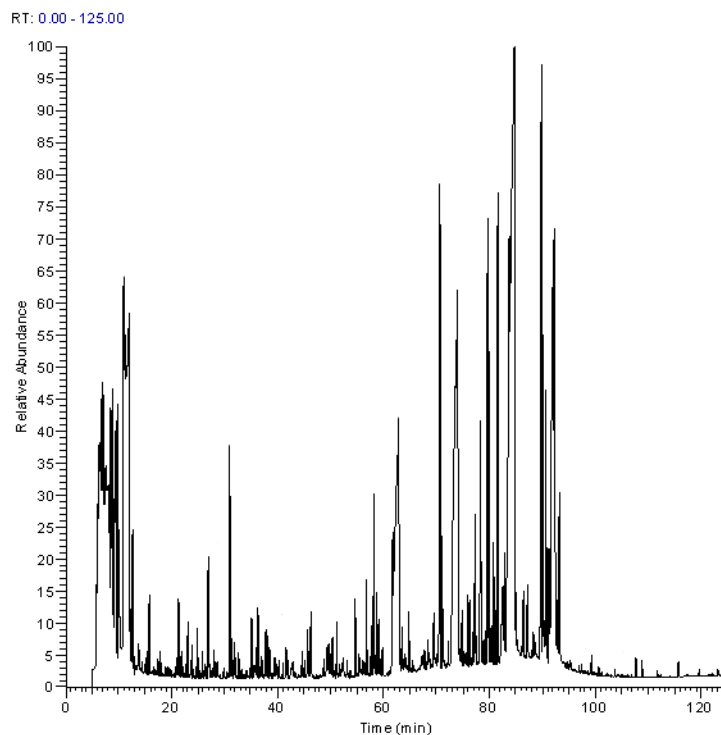
Slika 60. Hromatogram etarskih ulja dobijenih iz perikarpa zelene sušene paprike.



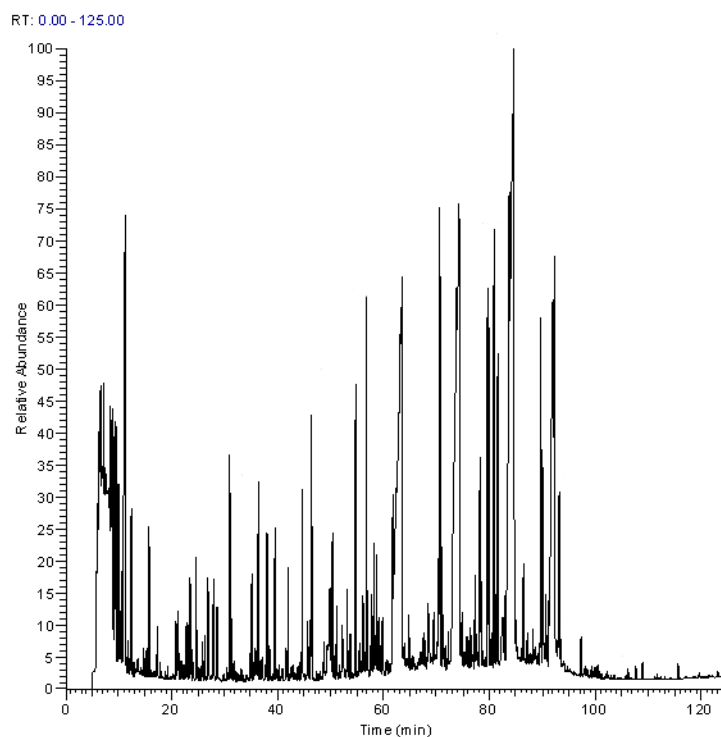
Slika 61. Hromatogram etarskih ulja dobijenih iz perikarpa zelene paprike dozrevane u mraku.



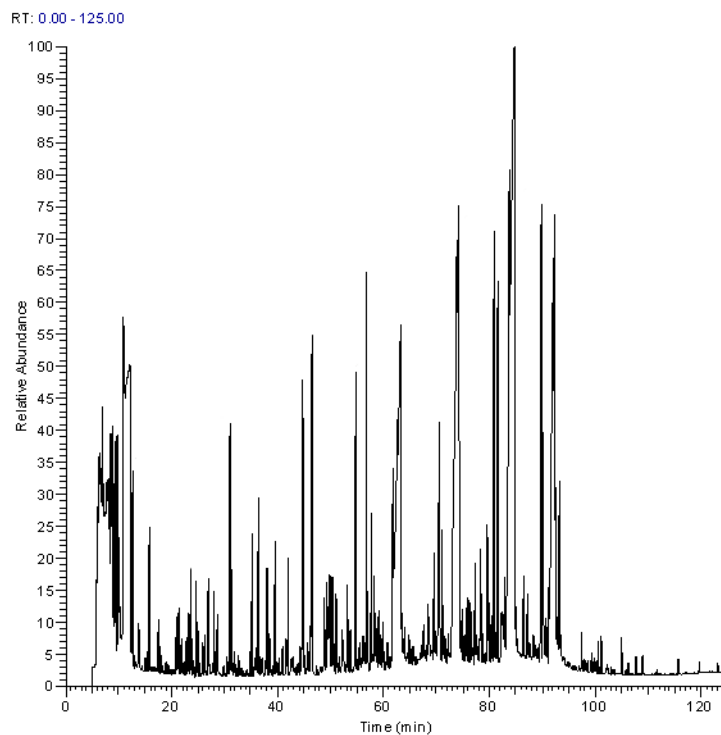
Slika 62. Hromatogram etarskih ulja dobijenih iz perikarpa zelene paprike dozrevane na svetlu.



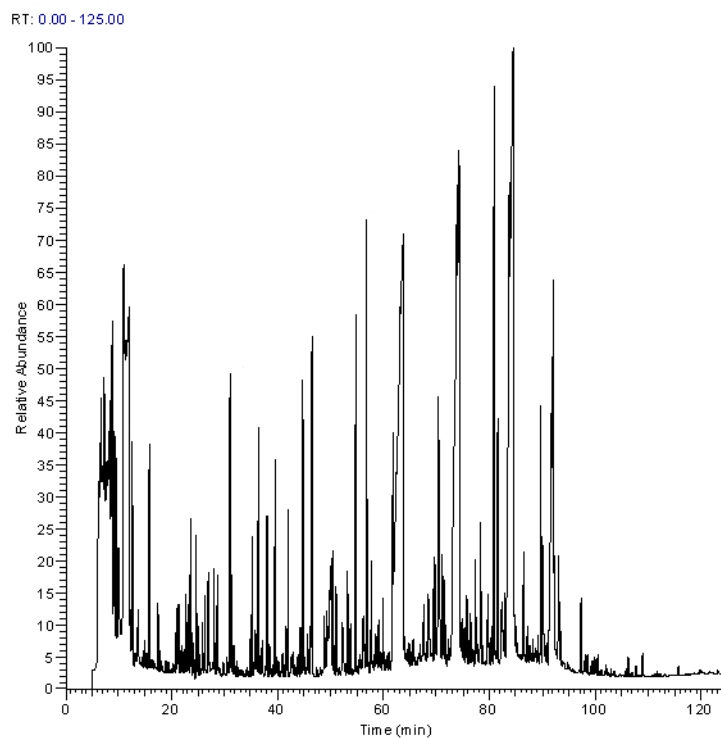
Slika 63. Hromatogram etarskih ulja dobijenih iz perikarpa braon sušene paprike



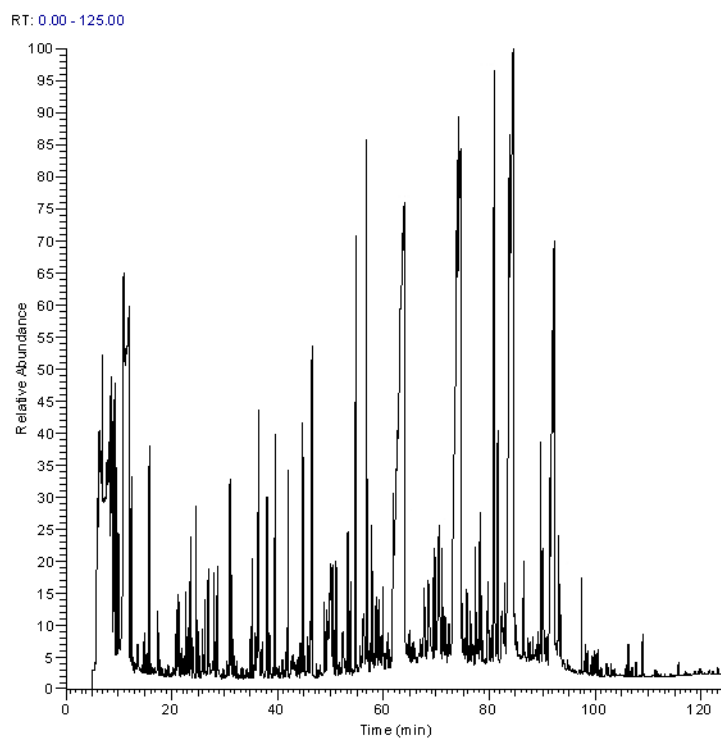
Slika 64. Hromatogram etarskih ulja dobijenih iz perikarpa braon paprike dozrevane na svetlu



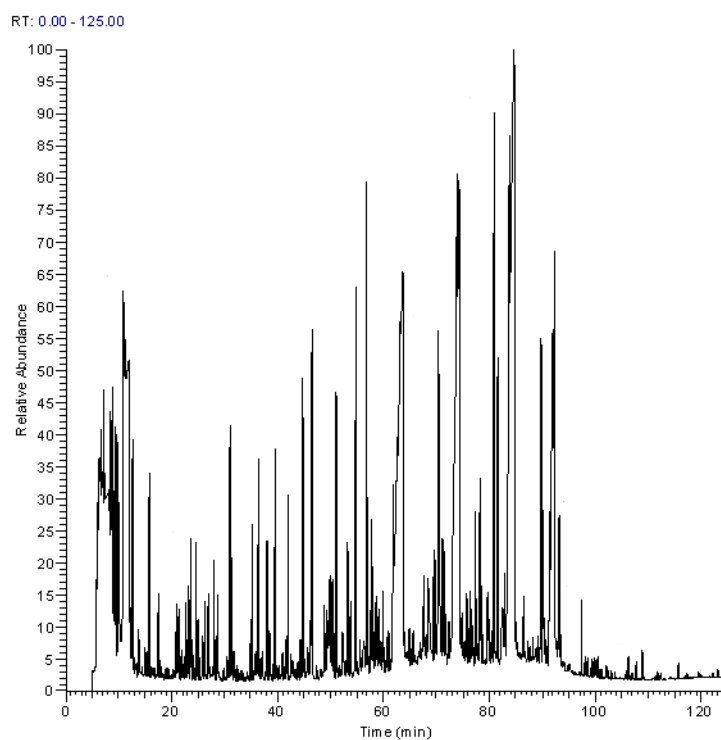
Slika 65. Hromatogram etarskih ulja dobijenih iz perikarpa crvene sušene paprike



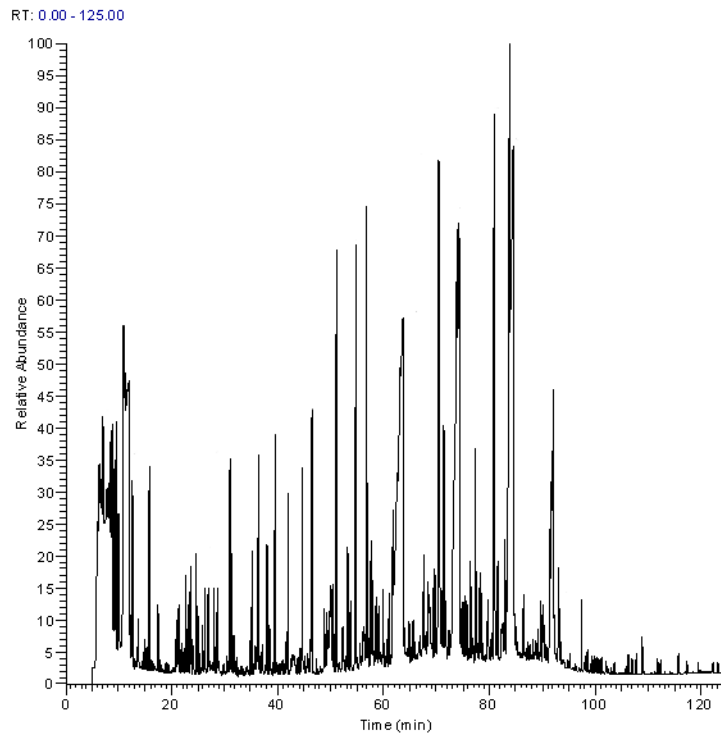
Slika 66. Hromatogram etarskih ulja dobijenih iz perikarpa crvene paprike dozrevane u mraku



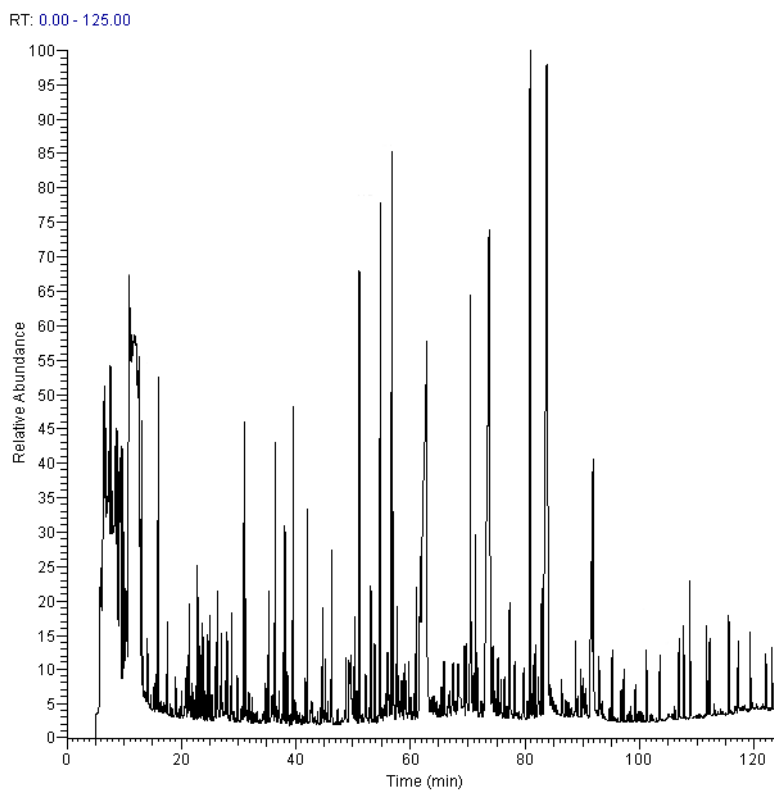
Slika 67. Hromatogram etarskih ulja dobijenih iz perikarpa crvene paprike dozrevane na svetlu



Slika 68. Hromatogram etarskih ulja dobijenih iz perikarpa tamno crvene sušene paprike.



Slika 69. Hromatogram etarskih ulja dobijenih iz perikarpa tamno crvene paprike dozrevane u mraku



Slika 70. Hromatogram etarskih ulja dobijenih iz perikarpa tamno crvene paprike dozrevane na svetlu.

Uočava se velika razlika u broju pikova između hromatograma sveže (Slike 28, 29, 30 i 31) suve paprike (Slike 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 i 70). Sušenje, odnosno izlaganje paprike visokim temperaturama bi za posledicu trebalo da ima smanjenje broja isparljivih jedinjenja u perikarpu što je i pokazano prilikom sušenja babure (Luning et al., 1995a, 1995b). Imajući u vidu pomenuti izvor i izgled hromatograma sveže paprike prilikom destilacije, uzet je 3× veći ekvivalent suve paprike u odnosu na svežu papriku. Ovakav odnos mlevene začinske paprike i vode prilikom destilacije koristili su i drugi autori (Kocsis et al., 2002, 2003). Takođe, neenzimatski procesi bi takođe mogli da imaju uticaj na povećanje broja isparljivih jedinjenja. Nakon analize hromatograma suvih paprika determinisana jedinjenja prikazana su u tabeli 46.

**Tabela 46. Relativni udeo determinisanih jedinjenja u etarskom ulju suve začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti, mrak/svetlo tretman,  $t_R$ -retenciono vreme.**

Jedinjenje	Zelena	Zelena mrak	Zelena svetlo	Braon	Braon svetlo	Crvena	Crvena mrak	Crvena svetlo	T. Crvena	T. Crvena mrak	T. Crvena svetlo	$t_R$
<b>3-heksanol</b>				<0,1		<0,1			<0,1	<0,1	<0,1	<b>12,54</b>
<b>heksanal</b>	0,16	0,26	0,19	0,28			0,43	<0,1	0,52	0,42		<b>12,55</b>
<b>p-krezol</b>		<0,1		<0,1	<0,1	0,19	<0,1	<0,1	0,19	0,21	<0,1	<b>13,75</b>
<b>furfural</b>	<0,1	0,19	0,13	0,18	0,13	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>13,88</b>
<b>2-heksenal</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>14,90</b>
<b>p-ksilen</b>	<0,1	0,22	0,27	0,24	0,34	0,31	<0,1	<0,1	0,46	0,49	0,90	<b>15,91</b>
<b>2-heptanon</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>16,77</b>
<b>heptanal</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,11	0,11	0,15	<0,1	0,18	0,14	0,20	<b>17,51</b>
<b>acetilfuran</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>17,91</b>
<b>3,5-dimetilfenol</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1		<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1		<b>19,36</b>
<b>3-hepten-2-on</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>19,50</b>
<b>3-etil-1,5-oktadien</b>						<0,1			<0,1			<b>19,63</b>
<b>furan</b>				<0,1					<0,1	<0,1	<0,1	<b>20,46</b>
<b>propilbenzen</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>20,73</b>
<b>2-heptanal</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,12	0,11	0,13	0,13	0,20	0,11	0,20	<b>20,94</b>
<b>5-metilfurfural</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,11	<b>20,99</b>
<b>benzaldehyd</b>	0,25	0,37	0,36	0,27	0,23	0,24	0,28	0,25	0,25	0,27	0,43	<b>21,34</b>
<b>1-okten-3-on</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>22,25</b>
<b>metil heptanon</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,11	<0,1	0,16	0,16	0,15	0,20	0,32	<b>22,76</b>
<b>β-mircen</b>	<0,1		<0,1									<b>23,09</b>
<b>2-amilfuran</b>	0,14	0,22	0,19	0,19	0,20	0,25	0,33	0,23	0,34	0,30	0,37	<b>23,14</b>
<b>trans-2-trans-4-heptadienal</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,28	0,30	0,57	0,40	0,43	0,36		<b>23,61</b>
<b>2-(1-pentiletil)-furan</b>				<0,1	<0,1				<0,1		0,28	<b>23,75</b>
<b>2,4-oktadien</b>						<0,1	0,14	0,10				<b>24,31</b>
<b>dekan</b>	<0,1	<0,1	<0,1	0,10	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,13	<b>23,84</b>
<b>oktanal</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,10	<0,1	<b>24,06</b>
<b>limonen epoksid</b>				<0,1								<b>24,21</b>
<b>1-acetil-2-metil-ciklopentan</b>										0,33		<b>24,75</b>
<b>1,2,3-trimetilbenzen</b>		<0,1	<0,1	<0,1		<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1		<b>25,30</b>
<b>1-etil-3-metilbenzen</b>					<0,1						<0,1	<b>25,32</b>
<b>m-cimen</b>				<0,1					<0,1	<0,1	<0,1	<b>25,62</b>
<b>2-etil-1-heksanol</b>	<0,1	<0,1		<0,1	<0,1	<0,1						<b>25,77</b>
<b>limonen</b>	0,12	0,14	0,16	0,14	<0,1	0,11	0,18	0,16	0,16	0,18	0,22	<b>25,92</b>

Jedinjenje	Zelena	Zelena mrak	Zelena svetlo	Braon	Braon svetlo	Crvena	Crvena mrak	Crvena svetlo	T. Crvena	T. Crvena mrak	T. Crvena svetlo	t <sub>R</sub>
benzil-alkohol	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1		<0,1	<0,1	26,18
<i>trans</i> -β-ocimen	<0,1	0,11		0,13								26,31
2,2,6-trimetilcikloheksanon			0,18		<0,1	0,13	0,20	0,19	0,20	0,22	0,45	26,35
benzenacetaldehid	0,29	0,66	0,56	0,53	<0,1	0,34	0,33	0,33	0,28	0,28	0,33	26,95
α- <i>trans</i> -ocimen	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	27,07
geranil nitril									<0,1			27,45
butilbenzen	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	27,55
<i>trans</i> -2-oktenal	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	27,68
p-metilbenzaldehid	<0,1	<0,1	0,17	<0,1	0,22	0,21	0,36	0,35	0,30	0,35	0,36	28,77
<i>trans</i> -linalol	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	28,88
geranial	<0,1				<0,1							29,10
p-cimen				<0,1								29,32
o-cimen				<0,1								29,76
terpinolen	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,17	29,90
β-linalol	1,66	1,61	1,30	0,74	0,64	0,79	0,92	0,55	0,70	0,65	0,82	31,00
nonanal	<0,1	0,16	0,23	0,15	0,23	0,33	0,46	0,41	0,39	0,44	0,56	31,29
1,2,3,5-tetrametilbenzen	<0,1			<0,1								32,31
α-ciklocitral			<0,1		<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	32,32
2-pentilfuran	0,13	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	32,69
2- <i>trans</i> -6- <i>cis</i> -nonadienal	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,10	<0,1	<0,1	0,10	34,71
<i>trans</i> -2-nonenal	0,12	0,16	0,24	0,17	0,30	0,39	0,40	0,38	0,46	0,42	0,43	35,26
3-metilundekan	<0,1	<0,1		0,13				<0,1	0,20	<0,1	0,17	35,99
3,5-dimetilbenzaldehid	<0,1	<0,1	0,39	0,18	0,71	0,59	0,24	1,31	0,82	0,93	1,09	36,43
citrolenil format				<0,1	<0,1				<0,1	<0,1	<0,1	36,65
p-metilacetofenon					<0,1		0,12	0,11	0,10	<0,1	0,13	37,09
linalol					<0,1				<0,1			37,72
α-terpineol	0,43	0,52	0,45	0,26	0,18	0,24	0,27	0,15	0,21	0,19	0,22	37,88
safranal		0,16	0,30	0,13	0,34	0,25	0,37	0,40	0,32	0,31	0,47	38,12
dekanal	<0,1	<0,1	0,17	0,14	0,11	0,13	0,12	0,13	0,15	0,15	0,17	38,56
gama-jonon										<0,1		38,97
β-ciklocitral	<0,1	0,18	0,38	0,12	0,4	0,39	0,53	0,60	0,60	0,72	0,89	39,55
<i>trans</i> -geraniol	0,18	0,23	0,18	<0,1	<0,1	<0,1	0,12	<0,1	<0,1	<0,1	0,11	39,88
2-bornen	<0,1	0,10	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	40,25
p-izopropilbenzoeva kiselina					<0,1					<0,1	<0,1	40,52
ciklododekan				<0,1	<0,1							41,10
<i>cis</i> -geraniol	0,37	0,40	0,33	0,19	0,17	0,25	0,27	0,16	0,22	0,19	0,19	41,68
2,6,6-trimetil-1-cikloheksan-1-acetaldehid	<0,1	<0,1	0,20	<0,1	0,27	0,29	0,36	0,45	0,43	0,45	0,49	42,07
<i>trans</i> -2-dekanal	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	42,47
<i>cis</i> -citral										<0,1	0,16	42,85
nonanonska kiselina			0,19	0,13						<0,1		42,91
izolimonen					<0,1							43,18
2-metilnaftalen	<0,1			0,13								44,81
2,4-dimetilbenzen	<0,1	<0,1	0,11	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,18	45,21
<i>trans,trans</i> -2,4-dekadienal	0,21	0,27	0,32	0,30	1,22	2,02	1,76	1,50	1,93	1,26	0,57	46,43
metil-estar dekanske kiseline				<0,1								46,62
β-jonon	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	47,34
1,2-dihidro-1,5,8-	<0,1	<0,1	0,21	<0,1	0,11	0,25	0,18	0,21	0,22	0,21	0,24	48,74



Jedinjenje	Zelena	Zelena mrak	Zelena svetlo	Braon	Braon svetlo	Crvena	Crvena mrak	Crvena svetlo	T. Crvena	T. Crvena mrak	T. Crvena svetlo	t <sub>R</sub>
<b>trimetilnaftalen</b>												
<b>α-jonon</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>48,88</b>
<b>dekanska kiselina</b>	0,12	0,12	<0,1	0,14	0,17	0,46	1,09	1,08	<0,1	<0,1	0,63	<b>49,70</b>
<b>undekanska kiselina</b>	0,18											<b>49,38</b>
<b>α-kopaen</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>50,24</b>
<b>trans-damascenon</b>	<0,1	0,27	0,40	0,18	0,40	0,41	0,36	0,22	0,21	0,20	0,34	<b>50,39</b>
<b>β-elemen</b>		<0,1	0,14		<0,1					0,17	0,14	<b>50,82</b>
<b>trans-α-bisabolen epoksid</b>	<0,1		<0,1			0,12	<0,1					<b>50,71</b>
<b>Tetradekan</b>	<0,1			<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>51,75</b>
<b>6-metil-6-(metilfuran-2-il)heptan-2-on</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>52,87</b>
<b>trans-α-jonon</b>	<0,1	0,10	0,31	<0,1	0,29	0,29	0,36	0,47	0,40	0,41	0,41	<b>53,16</b>
<b>dihidro-β-jonon</b>	<0,1	<0,1	0,14	<0,1	0,13	0,15	0,14	0,24	0,20	0,21	0,20	<b>53,83</b>
<b>2-hidroksi-5-metoksiacetofenon</b>										<0,1		<b>54,60</b>
<b>trans-geraniolaceton</b>	0,26	0,44	1,36	0,26	1,02	1,07	1,23	1,66	1,54	2,13	2,29	<b>54,81</b>
<b>izometil-α-jonon</b>	<0,1			0,11								<b>56,33</b>
<b>trans-α-santol</b>	<0,1	<0,1										<b>56,58</b>
<b>trans-β-jonon</b>	0,48	0,64	1,67	0,52	1,79	1,89	2,12	2,70	2,77	3,23	3,08	<b>56,81</b>
<b>β-jonon-epoksid</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>56,98</b>
<b>α-(3-metilbutiliden)-benzenacetaldhid</b>	<0,1	<0,1		<0,1		<0,1		<0,1				<b>57,04</b>
<b>2-tridekanon</b>	0,16	0,25	0,55	0,17	0,29	0,54	0,38	0,54	0,73	0,67	0,46	<b>57,75</b>
<b>dekahidro-2,2-dimetilnaftalen</b>	0,19	<0,1				0,36	0,21				0,21	<b>58,46</b>
<b>pentadekanal</b>	0,13	<0,1		0,23	0,28		<0,1	0,27	0,36		<0,1	<b>58,72</b>
<b>trans-dekahidro-3a-metil-2H-ciklopentaciklookten</b>	0,17	<0,1		0,19	0,21	0,23	0,22	<0,1	0,27		0,18	<b>59,06</b>
<b>miristicin</b>	<0,1	<0,1										<b>59,23</b>
<b>metil-estar dodekanske (laurinske) kiseline</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1		<b>59,45</b>
<b>dihidroaktinidiolid</b>	0,18	0,21								0,38	0,29	<b>59,83</b>
<b>trans-nerolidol</b>	<0,1	0,62	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>62,75</b>
<b>dodekanska kiselina</b>	<0,1	0,13	9,45	<0,1	6,04	6,92	<0,1	9,15	6,57	8,94	7,93	<b>63,32</b>
<b>farnezan epoksid</b>	<0,1	<0,1		<0,1								<b>63,82</b>
<b>heksadekan</b>	0,13				<0,1	<0,1	<0,1			<0,1		<b>64,06</b>
<b>tetradekanal</b>	0,19	0,26	0,22	0,21	0,14	<0,1	<0,1	<0,1	0,10	0,16	<0,1	<b>64,82</b>
<b>delta-dodekanollakton</b>		0,29	0,51		0,22	0,46	0,52	0,58	0,78	<0,1	0,47	<b>68,47</b>
<b>2-oktil-benzoat</b>	<0,1	<0,1		<0,1								<b>70,14</b>
<b>metil-tridekanoat</b>	1,68	1,35		2,98	2,85	0,82	1,44	0,55	2,01	3,29	1,83	<b>70,59</b>
<b>spatulenol</b>		0,32		<0,1		<0,1	0,41		0,53	0,94	0,68	<b>71,33</b>
<b>trans, trans-farnezal</b>					<0,1	<0,1	0,13	0,13	0,16	0,20	0,16	<b>71,75</b>
<b>tetradekanska kiselina</b>	<0,1	<0,1	9,25	7,49	5,03	5,4	5,34	5,50	5,77	5,33	6,47	<b>73,98</b>
<b>1,3,3-trimetilnonilbenzen</b>	<0,1	<0,1										<b>75,42</b>
<b>farnezan</b>				<0,1	<0,1							<b>75,54</b>
<b>metil-estar tetradekanske (miristinske) kiseline</b>	0,42	0,28	0,47	0,23	0,14	0,22	<0,1	0,12	0,15	0,45		<b>76,41</b>
<b>fitol</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1		<0,1				<b>76,94</b>
<b>cis-farnezol</b>	<0,1											<b>76,72</b>

Jedinjenje	Zelena	Zelena mrak	Zelena svetlo	Braon	Braon svetlo	Crvena	Crvena mrak	Crvena svetlo	T. Crvena	T. Crvena mrak	T. Crvena svetlo	t <sub>R</sub>
<b>pentadekanska kiselina</b>	1,53	1,29	0,89	1,44	1,11	0,57	0,64	0,64	0,87	<0,1		<b>78,29</b>
<b>9,17-oktadekadienal</b>	0,90	0,93	0,90	2,05	1,48	0,55	0,40	0,47	0,54			<b>79,64</b>
<b>farnezil aceton</b>	0,26	0,51	2,32	0,41	1,69	1,59	2,46	<0,1	2,32	2,86	2,72	<b>80,86</b>
<b>cis-<math>\alpha</math>-bisabolen epoksid</b>		<0,1										<b>80,91</b>
<b>metil-estar palmitinske kiseline</b>	1,40	1,09	0,53	<0,1	1,01	1,31	0,73	2,46	0,96	0,32	0,25	<b>81,58</b>
<b>heksadekanska kiselina</b>										0,28	0,24	<b>82,31</b>
<b>izofitol</b>	0,62	0,28	0,61	2,14	0,18	0,19		0,44		0,11		<b>82,61</b>
<b>palmitinska kiselina</b>	15,10	12,88	9,41	14,01	11,75	11,55	9,04	8,11	10,20	7,57	<0,1	<b>84,49</b>
<b>metil-estar palmitinske kiseline</b>	<0,1	<0,1	<0,1	0,14	0,12		<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>84,95</b>
<b>maniol oksid</b>	<0,1	<0,1		<0,1	<0,1		<0,1	<0,1	<0,1			<b>85,75</b>
<b>izopropil-palmitat</b>	0,32	0,36	0,40	0,38	0,35	0,32	0,36	0,33	0,29	0,23		<b>86,41</b>
<b>falkarinol</b>	0,30	0,40	0,10	0,33	0,12	0,24	0,13	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>87,12</b>
<b>citridenaceton</b>			<0,1			<0,1		0,11				<b>87,58</b>
<b>metil-estar linoleinske kiseline</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>89,47</b>
<b>metil-estar linoleinske kiseline</b>	1,85	1,42	0,51	2,93	1,20	1,66	0,67	0,55	0,99	0,18	0,11	<b>89,74</b>
<b>trans-fitol</b>		1,96	1,1	1,32	0,33	0,27	0,13	<0,1		<0,1	0,19	<b>90,59</b>
<b>metil-estar stearinske kiseline</b>	0,13	0,16		0,27	<0,1	0,18	<0,1	0,12	<0,1			<b>91,33</b>
<b>retinol-acetat</b>					0,20	<0,1	<0,1		0,24	0,28	<0,1	<b>91,43</b>
<b>cis, cis-linoleinske kiselina</b>	7,81	5,42	2,66	5,73	3,78	4,22	2,75	2,06	2,44	1,47	1,10	<b>91,99</b>
<b>2,5-diizopropil-p-ksilen</b>				0,7	<0,1					<0,1	<0,1	<b>93,43</b>
<b>farnezol izomer a</b>					<0,1						<0,1	<b>93,85</b>
<b>trans, trans-farnezol</b>										<0,1	<0,1	<b>94,98</b>

U suvim plodovima paprike determinisana su 143 jedinjenja. Od ukupno 63 determinisanih jedinjenja u svežoj paprici, 29 je pronađeno i u suvoj začinskoj paprici. Od dominantnih jedinjenja čije je prisustvo utvrđeno u svim fazama zrelosti sveže paprike tetradekanska kiselina, falkarinol, heksadekanal i metil-estar linoleinske kiseline su pronađeni u etarskim uljima suve paprike, dok je heksadekanska kiselina uočena samo u perikarpu dozrelih tamno crvenih paprika. Od ukupno determinisana 143 jedinjenja 63 su pronađena u etarskom ulju svih suvih perikarpa, bez obzira na tretman a dodatnih 19 jedinjenja nije pronađeno u jednoj ili dve faze. Ostala jedinjenja su u sastav etarskih ulja ulazila samo u jednoj fazi zrelosti, zatim u perikarpu plodova više faza zrelosti koji nisu dozreli, samo u dozrelih plodovima nekih faza, a za neka jedinjenja se nije mogla uočiti pravilnost u njihovom pojavljivanju. Takođe, neka jedinjenja su uočena samo u jednoj ili dve faze zrelosti. O pojedinim isparljivim jedinjenjima biće reči kasnije, nakon njihove podele u grupe, a već se sad može doneti zaključak da je sušenje perikarpa značajno promenilo sastav etarskih ulja u odnosu na svežu papriku. Takođe, na sastav etarskih ulja suve paprike utiču faze zrelosti kao i tretmani.

Radi lakšeg sagledavanja promena koja nastaju tokom dozrevanja začinske paprike determinisana jedinjenja koje čine etarska ulja paprike su podeljena u sledeće grupe:

- Ugljovodonici
- Aldehidi
- Ketoni
- Alkoholi
- Kiseline
- Estri
- Terpeni
- Fenoli
- Heterociklična jedinjenja
- Ostala jedinjenja

#### 4.2.2.1. Ugljovodonici

Kao i kod sveže paprike, terpeni (iako ugljovodonici) će biti prikazani kasnije, kao posebna grupa. Ugljovodonici bez terpena su podeljeni na zasićene, nezasićene i ciklične koji su dodatno razvrstani u aromatične i ugljovodonike sa kondenzovanim prstenovima (Tabela 47).

Neciklični ugljovodonici nisu bili prisutni u većem broju, zasićenih je bilo četiri, od čega je dekan bio prisutan u svim fazama zrelosti i svim tretmanima dok tetradekan nije ulazio u sastav etarskih ulja zelene dozrevane paprike. Nezasićenih ugljovodonika je bilo svega dva. Od nezasićenih ugljovodonika 3-etil-1,5-oktadien je ulazio u sastav etarskih ulja samo nedozrelih paprika u kasnijim fazama zrelosti, dok se 2,4-oktadien nalazi u etarskim uljima crvene paprike, bez obzira na tretman (Tabela 47).

Ciklični ugljovodonici su u etarskom ulju suve paprike bili prisutni u većem broju od necikličnih (Tabela 47). Od ukupno 17 cikličnih ugljovodonika, 6 je bilo prisutno u etarskim uljima u svim fazama, bez obzira na tretman. Ciklododekan se javljao samo u braon paprici, a *para* i *orto*-cimen samo u braon nedozreloj paprici. U etarskim uljima nedozrelih plodova ranijih faza zrelosti bili su prisutni 1,2,3,5-tetrametilbenzen i 2-metilnaftalen dok je samo za zelenu papriku karakterističan 1,3,3-trimetilnonilbenzen. Za tri jedinjenja je karakteristično da su se javljala samo kada je perikarp bio braon i tamno crvene boje. Naime, *m*-cimen je bio prisutan u etarskom ulju nedozrele braon paprike kao i u tamno crvenoj dozreloj i nedozreloj paprici, 2,5-diizopropil-p-k silen u dozreloj tamno crvenoj i braon, kao i nedozreloj braon paprici dok je 1-etil-3-trimetilbenzen bio karakterističan za braon i tamnocrvenu papriku dozrevanu na svetlu.

Procentualni udeo ugljovodonika bio je uglavnom manji od 0,1 %. Izuzetak su 2,6,6-trimetil-1-cikloheksan-1-acetaldehid i 1,2-dihidro-1,5,8-trimetilnaftalen kod kojih je procentualni udeo bio veći od 0,1 i kasnijim fazama zrenja ali i u ranijim fazama kod paprika koje su dozrevale.

Tabela 47. Relativni udeo ugljovodnika u etarskom ulju suve začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti, mrak/svetlo tretman,  $t_R$ -retenciono vreme.

Ugljovodnici	Zelena	Zelena mrak	Zelena svetlo	Braon	Braon svetlo	Crvena	Crvena mrak	Crvena svetlo	T. Crvena	T. Crvena mrak	T. Crvena svetlo	$t_R$
<b>ZASIĆENI</b>												
Dekan	<0,1	<0,1	<0,1	0,10	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,13	<b>23,84</b>
3-metilundekan	<0,1	<0,1		0,13			<0,1		0,20	<0,1	0,17	<b>35,99</b>
tetradekan	<0,1			<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>51,75</b>
heksadekan	0,13				<0,1	<0,1	<0,1			<0,1		<b>64,06</b>
<b>NEZASIĆENI, dieni</b>												
3-etil-1,5-oktadien						<0,1			<0,1			<b>19,63</b>
2,4-oktadien						<0,1	0,14	0,10				<b>24,31</b>
<b>CIKLIČNI</b>												
<b>derivati cikloheksana</b>												
2,6,6-trimetil-1-cikloheksan-1-acetaldehid	<0,1	<0,1	0,20	<0,1	0,27	0,29	0,36	0,45	0,43	0,45	0,49	<b>42,07</b>
<b>derivati ciklodekana</b>												
ciklododekan				<0,1	<0,1							<b>41,10</b>
<b>AROMATIČNI</b>												
<b>Monociklični</b>												
p-ksilen	<0,1	0,22	0,27	0,24	0,34	0,31	<0,1	<0,1	0,46	0,49	0,90	<b>15,91</b>
propilbenzen	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>20,73</b>
1,2,3-trimetilbenzen		<0,1	<0,1	<0,1		<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1		<b>25,30</b>
1-etil-3-metilbenzen					<0,1						<0,1	<b>25,32</b>
m-cimen				<0,1					<0,1	<0,1	<0,1	<b>25,62</b>
butilbenzen	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>27,55</b>
p-cimen				<0,1								<b>29,32</b>
o-cimen				<0,1								<b>29,76</b>
1,2,3,5-tetrametilbenzen	<0,1			<0,1								<b>32,31</b>
2-metilnaftalen	<0,1			0,13								<b>44,81</b>
2,4-dimetilbenzen	<0,1	<0,1	0,11	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,18	<b>45,21</b>
1,3,3-trimetilnonilbenzen	<0,1	<0,1										<b>75,42</b>
2,5-diizopropil-p-ksilen				0,70	<0,1					<0,1	<0,1	<b>93,43</b>
<b>Ugljovodnici sa kondenzovanim prstenovima</b>												
1,2-dihidro-1,5,8-trimetilnaftalen	<0,1	<0,1	0,21	<0,1	0,11	0,25	0,18	0,21	0,22	0,21	0,24	<b>48,74</b>
dekahidro-2,2-dimetilnaftalen	0,19	<0,1				0,36	0,21				0,21	<b>58,46</b>
trans-dekahidro-3a-metil-2H-ciklopentaciklookten	0,17	<0,1		0,19	0,21	0,23	0,22	<0,1	0,27		0,18	<b>59,06</b>

#### 4.2.2.2. Aldehidi

Aldehidi prisutni u etarskim uljima suvih plodova prikazani su u tabeli 48. Od ukupno prisutna 23 aldehida, što predstavlja tek 11% od ukupno determinisanih jedinjenja začinske paprike, čak 16 su bili prisutni u svim fazama zrenja i tretmanima.

**Tabela 48. Relativni udeo aldehida u etarskom ulju suve začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti, mrak/svetlo tretman,  $t_R$ -retenciono vreme.**

Aldehidi	Zelena	Zelena mrak	Zelena svetlo	Braon	Braon svetlo	Crvena	Crvena mrak	Crvena svetlo	T. Crvena	T. Crvena mrak	T. Crvena svetlo	$t_R$
heksanal	0,16	0,26	0,19	0,28			0,43	<0,1	0,52	0,42		<b>12,55</b>
2-heksenal	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>14,90</b>
heptanal	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,11	0,11	0,15	<0,1	0,18	0,14	0,20	<b>17,51</b>
2-heptanal	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,12	0,11	0,13	0,13	0,20	0,11	0,20	<b>20,94</b>
benzaldehyd	0,25	0,37	0,36	0,27	0,23	0,24	0,28	0,25	0,25	0,27	0,43	<b>21,34</b>
<i>trans</i> -2- <i>trans</i> -4-heptadienal	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,28	0,30	0,57	0,40	0,43	0,36		<b>23,61</b>
oktanal	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,10	<0,1	<b>24,06</b>
benzenacetaldehyd	0,29	0,66	0,56	0,53	<0,1	0,34	0,33	0,33	0,28	0,28	0,33	<b>26,95</b>
<i>trans</i> -2-oktanal	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>27,68</b>
para-metilbenzaldehyd	<0,1	<0,1	0,17	<0,1	0,22	0,21	0,36	0,35	0,30	0,35	0,36	<b>28,77</b>
nonanal	<0,1	0,16	0,23	0,15	0,23	0,33	0,46	0,41	0,39	0,44	0,56	<b>31,29</b>
2- <i>trans</i> -6- <i>cis</i> -nonadienal	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,10	<0,1	<0,1	0,10	<b>34,71</b>
<i>trans</i> -2-nonanal	0,12	0,16	0,24	0,17	0,30	0,39	0,40	0,38	0,46	0,42	0,43	<b>35,26</b>
3,5-dimetilbenzaldehyd	<0,1	<0,1	0,39	0,18	0,71	0,59	0,24	1,31	0,82	0,93	1,09	<b>36,43</b>
safranal		0,16	0,30	0,13	0,34	0,25	0,37	0,40	0,32	0,31	0,47	<b>38,12</b>
dekanal	<0,1	<0,1	0,17	0,14	0,11	0,13	0,12	0,13	0,15	0,15	0,17	<b>38,56</b>
<i>trans</i> -2-dekanal	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>42,47</b>
<i>trans,trans</i> -2,4-dekadienal	0,21	0,27	0,32	0,30	1,22	2,02	1,76	1,50	1,93	1,26	0,57	<b>46,43</b>
$\alpha$ -(3-metilbutiliden)-benzenacetaldehyd	<0,1	<0,1		<0,1		<0,1		<0,1				<b>57,04</b>
pentadekanal	0,13	<0,1		0,23	0,28		<0,1	0,27	0,36		<0,1	<b>58,72</b>
tetradekanal	0,19	0,26	0,22	0,21	0,14	<0,1	<0,1	<0,1	0,10	0,16	<0,1	<b>64,82</b>
9,17-oktadekadienal	0,90	0,93	0,90	2,05	1,48	0,55	0,40	0,47	0,54			<b>79,64</b>

Prema procentualnom udelu aldehidi čije je prisustvo utvrđeno u perikarpu mogu se podeliti u nekoliko grupa (Tabela 48). Prvu grupu čine aldehidi čiji je procentualni udeo uvek bio manji od 0,1% a jedinjenja koja čine ovu grupu su 2-heksenal, oktanal, *trans*-2-oktanal, *trans*-2-dekanal. U ovu grupu bi se mogao svrstati i 2-*trans*-6-*cis*-nonadienal koji za razliku od nabrojanih jedinjenja u perikarpu crvenih i tamno crvenih paprika koje su dozrevane na svetlu u sastav etarskih ulja ulazi sa tačno 0,1% i  $\alpha$ -(3-metilbutiliden)-benzenacetaldehyd čiji je procentualni udeo bio manji od 0,1%, ali nije uočen u svim fazama zrelosti. Drugu grupu čine aldehidi čiji se procentualni udeo bio manji od 0,1% u ranim fazama a kasnijim fazama prelazi ovu granicu a jedinjenja koja čine ovu grupu su 3,5-dimetilbenzaldehyd, dekanal (udeo veći od 0,1% od zelene paprike izlagane svetlu) i heptanal, 2-heptanal, *trans*-2-*trans*-4-heptadienal i para-metilbenzaldehyd (udeo veći od 0,1% od braon paprike izlagane svetlu). Četvrta grupa aldehida su jedinjenja čiji je procentualni udeo u svim fazama (nezavisno od

tretmana) bio veći od 0,1% a u ovu grupu spadaju benzaldehid, *trans*-2-nonenal, *trans,trans*-2,4-dekadienal. Safranal nije bio determinisan samo u etarskim uljima zelene netretirane paprike. Odsustvo safranala kod zelene paprike objašnjava se činjenicom da je safranal produkt razgradnje karotenoida i značajno aromatsko jedinjenje (Laffingwell, 2002)

Po sastavu aldehida ispitana mlevena začinska paprika najsličnija je začinskoj paprici koja vodi poreklo iz Mađarske (Kocsis et al., 2002; 2003). Aldehidi koji su zajednički za ove dve paprike su heptadienal, benzaldehid, 2,4-heptadienal, oktanal, 2-oktenal, nonanal i 2,6-nonadienal. Prisustvo pomenutog 2,6-nonadienala i 2,4-dekadienala utvrđeno je i u uzorcima mađarske i marokanske mlevene začinske paprike (Zimmerman i Schieberle, 2000).

#### 4.2.2.3. Ketoni

Ketoni determinisani u etarskim uljima suvog mlevenog perikarpa začinske paprike prikazani su u tabeli 49. Ukupno je identifikovano 12 ketona, što je skoro duplo manje nego aldehida (Tabela 48). Pola od ukupno identifikovanih ketona, odnosno 2-heptanon, 3-hepten-2-on, 1-okten-3-on, metilheptanon, 2-nonen-4-on i 2-tridekanon su identifikovani u etarskim uljima paprika svih faza zrelosti, bez obzira na tretman.

**Tabela 49. Relativni udeo ketona u etarskom ulju suve začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti, mrak/svetlo tretman,  $t_R$ -retenciono vreme.**

Ketoni	Zelena	Zelena mrak	Zelena svetlo	Braon	Braon svetlo	Crvena	Crvena mrak	Crvena svetlo	T. Crvena	T. Crvena mrak	T. Crvena svetlo	$t_R$
<b>2-heptanon</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>16,77</b>
<b>3-hepten-2-on</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>19,50</b>
<b>1-okten-3-on</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>22,25</b>
<b>metilheptanon</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,11	<0,1	0,16	0,16	0,15	0,20	0,32	<b>22,76</b>
<b>1-acetil-2-metil-ciklopentan</b>										0,33		<b>24,75</b>
<b>2,2,6-trimetilcikloheksanon</b>			0,18		<0,1	0,13	0,20	0,19	0,20	0,22	0,45	<b>26,35</b>
<b>2-nonen-4-on</b>	0,13	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>32,69</b>
<b>para-metilacetofenon</b>					<0,1		0,12	0,11	0,10	<0,1	0,13	<b>37,09</b>
<b>2-hidroksi-5-metoksiacetofenon</b>										<0,1		<b>54,60</b>
<b>2-tridekanon</b>	0,16	0,25	0,55	0,17	0,29	0,54	0,38	0,54	0,73	0,67	0,46	<b>57,75</b>
<b>citrilidenaceton</b>			<0,1			<0,1		0,11				<b>87,58</b>

Što se procentualnog udela tiče (Tabela 49) ketona tiče, udeo manji od 0,1% imali su pet jedinjenja (2-heptanon, 3-hepten-2-on, 1-okten-3-on, 2-nonen-4-on i citrilidenaceton). Metilheptanon je povećavao svoj procentualni udeo kako su odmicala faze zrenja a isto bi se moglo reći i za 2,2,6-trimetilcikloheksanon i *para*-metilacetofenon kod kojih je karakteristično da se nisu mogli detektovati u ranim fazama zrelosti. Keton čiji je procentualni udeo bio veći od 0,1% u svim fazama bio je 2-tridekanon. Na osnovu rezultata

(Tabela 49) može se uočiti da je ovaj keton je dozrevanjem plodova ubranih u ranim fazama (zelena i braon boja plodova) povećavao svoj procentualni udeo dok je dozrevanje tamno crvenih plodova imalo za posledicu smanjenje procentualnog udela 2-tridekanona.

#### 4.2.2.4. Alkoholi

Alkoholi koji ulaze u sastav etarskih ulja mlevene začinske paprike prikazani su u tabeli 50.

**Tabela 50. Relativni udeo alkohola u etarskom ulju suve začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti, mrak/svetlo tretman,  $t_R$ -retenciono vreme.**

Alkoholi	Zelena	Zelena mrak	Zelena svetlo	Braon	Braon svetlo	Crvena	Crvena mrak	Crvena svetlo	T. Crvena	T. Crvena mrak	T. Crvena svetlo	$t_R$
<b>3-heksanol</b>				<0,1		<0,1			<0,1	<0,1	<0,1	<b>12,54</b>
<b>2-etil-1-heksanol</b>	<0,1	<0,1		<0,1	<0,1	<0,1						<b>25,77</b>
<b>benzilalkohol</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1		<0,1	<0,1	<b>26,18</b>
<b>falkarinol</b>	0,30	0,40	0,10	0,33	0,12	0,24	0,13	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>87,12</b>

Od četiri determinisana alkohola, samo je falkarinol bio prisutan u svim fazama zrenja dok benzilalkohol nije ulazio u sastav samo tamno crvene paprike. Za falkarinol je i karakteristično da je smanjivao procentualni udeo u kasnijim fazama zrenja, dok je procentualni udeo ostalih alkohola bio manji od 0,1% (Tabela 50). Alkohol karakterističan za rane faze zrelosti je 2-etil-1-heksanol. I drugi autori su utvrdili mali udeo alkoholnih jedinjenja u lako isparljivim jedinjenjima paprike (Mateo et al., 1997; Kocsis et al., 2002, 2003).

#### 4.2.2.5. Kiseline

Kiseline identifikovane u etarskim uljima suvog perikarpa paprike prikazane su u tabeli 51. Dekanska, dodekanska, tetradekanska, palmitinska i linoleinska kiselina su ulazile u sastav etarskih ulja svih faza zrenja i svih tretmana. Pentadekanska kiselina je bila prisutna u etarskim uljima dozrevanih tamnocrvenih paprika, dok se za ostale kiseline nije mogla uočiti pravilnost u njihovom pojavljivanju i fazama zrenja odnosno načinu tretmana.

Od determinisanih kiselina undekanska, heksadekanska i tetradekanska kiselina su determinisane i u svežoj paprici. Prema procentualnim udelima, kiseline su najzastupljenija grupa jedinjenja u etarskim uljima suve paprike (Tabela 51). U ovu grupu jedinjenja spada i palmitinska kiselina koja je i bila jedinjenje sa apsolutno najvećim procentualnim udelom. Pored pomenute palmitinske kiseline, *cis*, *cis*-linoleinska kiselina, pentadekanska i tetradekanska kiselina su imale veći procentualni udeo u svim fazama. Interesantno je pomenuti da tetradekanska kiselina bila prisutna u tragovima u zelenoj sušenoj i zelenoj paprici dozrevanoj u mraku, dok je dodekanska kiselina bila prisutna u tragovima u nedozrevanoj zelenoj i braon paprici.

**Tabela 51. Relativni udeo kiselina u etarskom ulju suve začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti, mrak/svetlo tretman,  $t_R$ -retenciono vreme.**

Kiseline	Zelena	Zelena mrak	Zelena svetlo	Braon	Braon svetlo	Crvena	Crvena mrak	Crvena svetlo	T. Crvena	T. Crvena mrak	T. Crvena svetlo	$t_R$
para-izopropilbenzoeva kiselina					<0,1					<0,1	<0,1	<b>40,52</b>
nonanonska kiselina			0,19	0,13						<0,1		<b>42,91</b>
dekanska kiselina	0,12	0,12	<0,1	0,14	0,17	0,46	1,09	1,08	<0,1	<0,1	0,63	<b>49,70</b>
undekanska kiselina	0,18											<b>49,38</b>
dodekanska kiselina	<0,1	0,13	9,45	<0,1	6,04	6,92	<0,1	9,15	6,57	8,94	7,93	<b>63,32</b>
tetradekanska kiselina	<0,1	<0,1	9,25	7,49	5,03	5,4	5,34	5,50	5,77	5,33	6,47	<b>73,98</b>
pentadekanska kiselina	1,53	1,29	0,89	1,44	1,11	0,57	0,64	0,64	0,87	<0,1		<b>78,29</b>
heksadekanska kiselina										0,28	0,24	<b>82,31</b>
palmitinska kiselina	15,10	12,88	9,41	14,01	11,75	11,55	9,04	8,11	10,20	7,57	<0,1	<b>84,49</b>
cis, cis-linoleinska kiselina	7,81	5,42	2,66	5,73	3,78	4,22	2,75	2,06	2,44	1,47	1,10	<b>91,99</b>

U etarskom ulju začinske paprike poreklom iz mađarske takođe je utvrđeno je prisustvo dekanske i dodekanske kiseline (Kocsis et al., 2002; 2003). Prisustvo propanske i butanske kiseline takođe je utvrđeno je još i u paprici ali prilikom ekstrakcije sa etrom (Mateo et al., 1997) ili pomoću *head space* tehnike (Lee et al., 2004).

#### 4.2.2.6. Estri

Estri koji su identifikovani u etarskim uljima začinske paprike prikazani su u tabeli 52. Nasuprot svežoj paprici, kod koje su svi estri bili estri kiselina, najčešće masnih, kod suve začinske paprike identifikovani su i drugi estri, 2-oktilbenzoat i metiltridekanoat. Metil-estar dekanske kiseline je uočen samo kod netretiranih paprika braon boje, 2-oktilbenzoat je bio karakterističan za paprike sa prisutnom zelenom bojom pa je njegovo prisustvo utvrđeno kod zelene paprike, zelene paprike dozrevane u mraku i braon netretirane paprike, dok su ostali estri bili prisutni u znatno većem broju paprika nezavisno od stepena zrelosti i tretmana.

Metil-estar linolenske kiseline bio je prisutan u svim fazama, ali na osnovu procentualnih udela (Tabela 52) može se zaključiti da je njegov procentualni udeo bio najveći kod braon paprike a da dozrevanje smanjuje procentualni udeo ovog jedinjenja. Pored metil-estra linolenske kiseline, estri sa značajnim procentualnim udelom su metiltridekanoat i metil-estar palmitinske kiseline. Izopropil palmitat je u fazama od zelene do crvene paprike imao vrlo sličan procentualnu udeo (između 0,3-0,4%) bez obzira na tretman, da bi kod tamno crvene paprike tretman u mraku značajno smanjio procentualni udeo ovog jedinjenja a



tretman na svetlu doveo do nestanka izopropil palmitata. Nasuprot pomenutim jedinjenjima, procentualni udeo metil-estra dodekanske kiseline i linoleinske kiseline nije prelazio 0,1% niti u jednoj od ispitivanih faza.

**Tabela 52. Relativni udeo estara u etarskom ulju suve začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti, mrak/svetlo tretman,  $t_R$ -retenciono vreme.**

Estri												$t_R$
	Zelena	Zelena mrak	Zelena svetlo	Braon	Braon svetlo	Crvena	Crvena mrak	Crvena svetlo	T. Crvena	T. Crvena mrak	T. Crvena svetlo	
<b>metil-estar dekanske kiseline</b>				<0,1								<b>46,62</b>
<b>metil-estar dodekanske (laurinske) kiseline</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>59,45</b>
<b>2-oktilbenzoat</b>	<0,1	<0,1		<0,1								<b>70,14</b>
<b>metiltridekanoat</b>	1,68	1,35		2,98	2,85	0,82	1,44	0,55	2,01	3,29	1,83	<b>70,59</b>
<b>metil-estar tetradekanske (miristinske) kiseline</b>	0,42	0,28	0,47	0,23	0,14	0,22	<0,1	0,12	0,15	0,45		<b>76,41</b>
<b>metil-estar palmitinske kiseline</b>	1,40	1,09	0,53	<0,1	1,01	1,31	0,73	2,46	0,96	0,32	0,25	<b>81,58</b>
<b>etil-estar palmitinske kiseline</b>	<0,1	<0,1	<0,1	0,14	0,12		<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>84,95</b>
<b>izopropil-palmitat</b>	0,32	0,36	0,40	0,38	0,35	0,32	0,36	0,33	0,29	0,23		<b>86,41</b>
<b>metil-estar linoleinske kiseline</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>89,47</b>
<b>metil-estar linolenske kiseline</b>	1,85	1,42	0,51	2,93	1,20	1,66	0,67	0,55	0,99	0,18	0,11	<b>89,74</b>
<b>metil-estar stearinske kiseline</b>	0,13	0,16		0,27	<0,1	0,18	<0,1	0,12	<0,1			<b>91,33</b>

Kao i kod drugih jedinjenja najveća sličnost u sastavu estara ispitane začinske paprike bila je sa etarskim uljima začinske paprike poreklom iz Mađarske. Prilikom ispitivanja etarskih ulja pomenute paprike Kocsis et al. (2002; 2003) su identifikovali metil-estar dodekanske kiseline, metil i etil-estar palmitinske kiseline, metil- i etil-estar linoleinske kiseline, metil-estar stearinske kiseline i druge estre masnih kiselina. Metil-estar palmitinske kiseline identifikovan je u sušenoj koreanskoj paprici gde su isparljiva jedinjenja određena *head space* tehnikom (Lee et al., 2004), dok je u španskoj paprici gde su isparljiva jedinjenja ekstrahovana etrom utvrđeno prisustvo samo etilacetata (Mateo et al., 1997).

#### 4.2.2.7. Terpeni

Kao i kod sveže paprike, terpeni su najbrojnija grupa isparljivih jedinjenja u ispitanoj začinskoj paprici (Tabela 53). Ukupno je identifikovano 47 terpena što čini 22,4% od ukupno identifikovanih jedinjenja. Najviše jedinjenja je bilo sa jononskom strukturom, čak osam. Manje od polovine identifikovanih terpena, tačnije dvadeset, je bilo prisutno u svim fazama zrenja i bez obzira na tretman. U ranim fazama zrenja, dok je paprika imala značajan udeo

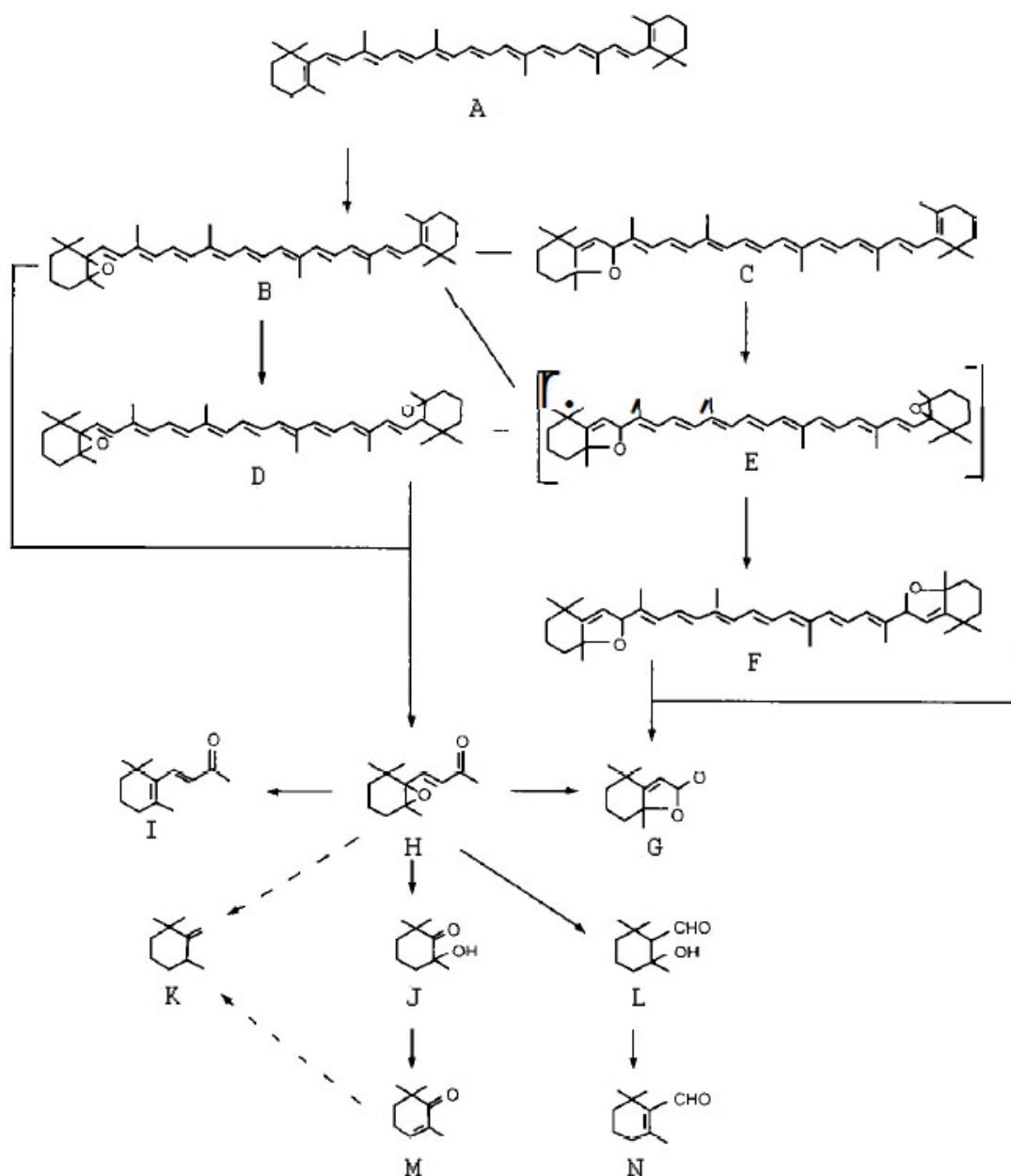
zelene boje, karakteristični terpeni su *cis*-farnezol koji je bio prisutan u etarskim uljima zelene sušene paprike, *trans*- $\alpha$ -santol koji je uočen i u zelenoj paprici dozreva u mraku i *trans*- $\beta$ -ocimen i farnezanepoksid čije je prisustvo još uočeno i u braon sušenoj paprici. Izometil- $\alpha$ -jonon je bio karakterističan za rane faze zrenja i nedozrele plodove, dok su se u samo u braon fazi zrenja javljali limonenepoksid, izolimonen i farnezan.

Kao kod sveže paprike i kod sušenih paprika postoji grupa terpena koja se javlja u braon i tamno crvenoj fazi zrenja a nju u slučaju ispitane sorte paprike čine citrolenilformat, linalol i farnezol izomer a (Tabela 53). Za kasnije faze zrenja karakterističan je *trans*, *trans*-farnezol koji je bio prisutan u paprikama u kojima je dominantna bila crvena boja, dok su se za tamnocrvenu fazu karakteristični: geranilnitril, gama-jonon, *cis*-citral i *trans*, *trans*-farnezol.

Veliki broj jedinjenja je u sastav etarskih ulja ulazio u vrlo malom procentualnom udelu kao na primer  $\alpha$ -*trans*-ocimen, *trans*-linalol, 2-bornen itd. Od jedinjenja koja su prisutna u većem procentualnom udelu vredno je istaći jedinjenja koja u sebi imaju jononsku strukturu ( $\alpha$ - i  $\beta$ -jonon,  $\beta$ -jonon-epoksid) koju su povećavali svoj procentualni udeo sa višim stepenima zrelosti, odnosno sa tretmanima. Jedan od načina nastanka jononske strukture je degradacija karotenoida. Degradacija karotenoida može biti prouzrokovana oksidacijom i termalnom degradacijom, pri čemu nastaju ne-volatilna i volatilna jedinjenja. Prema Bonnie i Choo (1999) serija jedinjenja koja nastaju zagrevanjem  $\beta$ -karotena prikazana su na slici 71. Kako se sa slike 71 vidi, termalnom degradacijom karotenoida nastaje  $\beta$ -jonon i  $\beta$ -ciklocitral, a kako su plodovi paprika sušeni na relativno visokim temperaturama može se zaključiti da su na ovaj način nastala pomenuta jedinjenja. Vezano sa prethodnom konstatacijom, povećanje procentualnog udela jedinjenja sa jononskom strukturom i  $\beta$ -ciklocitrala u kasnijim fazama zrenja može se dovesti u korelaciju sa povećanim sadržajem karotenoida.

Tabela 53. Relativni udeo terpena u etarskom ulju suve začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti, mrak/svetlo tretman,  $t_R$ -retenciono vreme.

Terpeni	Zelena	Zelena mrak	Zelena svetlo	Braon	Braon svetlo	Crvena	Crvena mrak	Crvena svetlo	T. Crvena	T. Crvena mrak	T. Crvena svetlo	$t_R$
<b><math>\beta</math>-mircen</b>	<0,1	<0,1										<b>23,09</b>
<b>limonen epoksid</b>				<0,1								<b>24,21</b>
<b>limonen</b>	0,12	0,14	0,16	0,14	<0,1	0,11	0,18	0,16	0,16	0,18	0,22	<b>25,92</b>
<b>trans-<math>\beta</math>-ocimen</b>	<0,1	0,11		0,13								<b>26,31</b>
<b><math>\alpha</math>-trans-ocimen</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>27,07</b>
<b>geranilnitril</b>									<0,1			<b>27,45</b>
<b>trans-linalol</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>28,88</b>
<b>geranial</b>	<0,1				<0,1							<b>29,10</b>
<b>terpinolen</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,17	<b>29,90</b>
<b><math>\beta</math>-linalol</b>	1,66	1,61	1,30	0,74	0,64	0,79	0,92	0,55	0,70	0,65	0,82	<b>31,00</b>
<b><math>\alpha</math> ciklocitral</b>			<0,1		<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>32,32</b>
<b>citrolenil format</b>				<0,1	<0,1				<0,1	<0,1	<0,1	<b>36,65</b>
<b>linalol</b>					<0,1				<0,1			<b>37,72</b>
<b><math>\alpha</math>-terpineol</b>	0,43	0,52	0,45	0,26	0,18	0,24	0,27	0,15	0,21	0,19	0,22	<b>37,88</b>
<b>gama-jonon</b>										<0,1		<b>38,97</b>
<b><math>\beta</math>-ciklocitral</b>	<0,1	0,18	0,38	0,12	0,4	0,39	0,53	0,60	0,60	0,72	0,89	<b>39,55</b>
<b>trans-geraniol</b>	0,18	0,23	0,18	<0,1	<0,1	<0,1	0,12	<0,1	<0,1	<0,1	0,11	<b>39,88</b>
<b>2-bornen</b>	<0,1	0,10	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>40,25</b>
<b>cis-geraniol</b>	0,37	0,40	0,33	0,19	0,17	0,25	0,27	0,16	0,22	0,19	0,19	<b>41,68</b>
<b>cis-citral</b>										<0,1	0,16	<b>42,85</b>
<b>izolimonen</b>					<0,1							<b>43,18</b>
<b><math>\beta</math>-jonon</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>47,34</b>
<b><math>\alpha</math>-jonon</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>48,88</b>
<b><math>\alpha</math>-kopaen</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>50,24</b>
<b>trans-damascenon</b>	<0,1	0,27	0,40	0,18	0,40	0,41	0,36	0,22	0,21	0,20	0,34	<b>50,39</b>
<b>trans-<math>\alpha</math>-bisabolen epoksid</b>	<0,1		<0,1			0,12	<0,1					<b>50,71</b>
<b>trans-<math>\alpha</math>-jonon</b>	<0,1	0,10	0,31	<0,1	0,29	0,29	0,36	0,47	0,40	0,41	0,41	<b>53,16</b>
<b>dihidro-<math>\beta</math>-jonon</b>	<0,1	<0,1	0,14	<0,1	0,13	0,15	0,14	0,24	0,20	0,21	0,20	<b>53,83</b>
<b>trans-geraniolaceton</b>	0,26	0,44	1,36	0,26	1,02	1,07	1,23	1,66	1,54	2,13	2,29	<b>54,81</b>
<b>izometil-<math>\alpha</math>-jonon</b>	<0,1			0,11								<b>56,33</b>
<b>trans-<math>\alpha</math>-santol</b>	<0,1	<0,1										<b>56,58</b>
<b>trans-<math>\beta</math>-jonon</b>	0,48	0,64	1,67	0,52	1,79	1,89	2,12	2,70	2,77	3,23	3,08	<b>56,81</b>
<b>dihidroaktinidiolid</b>	0,18	0,21								0,38	0,29	<b>59,83</b>
<b><math>\beta</math>-jonon-epoksid</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>56,98</b>
<b>trans-nerolidol</b>	<0,1	0,62	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>62,75</b>
<b>farnezan epoksid</b>	<0,1	<0,1		<0,1								<b>63,82</b>
<b>spatulenol</b>		0,32		<0,1		<0,1	0,41		0,53	0,94	0,68	<b>71,33</b>
<b>trans, trans-farnezal</b>					<0,1	<0,1	0,13	0,13	0,16	0,20	0,16	<b>71,75</b>
<b>farnezan</b>				<0,1	<0,1							<b>75,54</b>
<b>fitol</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1		<0,1				<b>76,94</b>
<b>cis-farnezol</b>	<0,1											<b>76,72</b>
<b>farnezil aceton</b>	0,26	0,51	2,32	0,41	1,69	1,59	2,46	<0,1	2,32	2,86	2,72	<b>80,86</b>
<b>cis-<math>\alpha</math>-bisabolen epoksid</b>		<0,1										<b>80,91</b>
<b>izofitol</b>	0,62	0,28	0,61	2,14	0,18	0,19		0,44		0,11		<b>82,61</b>
<b>maniol oksid</b>	<0,1	<0,1		<0,1	<0,1		<0,1	<0,1	<0,1			<b>85,75</b>
<b>trans-fitol</b>		1,96	1,1	1,32	0,33	0,27	0,13	<0,1		<0,1	0,19	<b>90,59</b>
<b>farnezol izomer a</b>					<0,1						<0,1	<b>93,85</b>
<b>trans, trans-farnezol</b>									<0,1	<0,1		<b>94,98</b>



Slika 71. Serija ne-volatilnih i volatilnih jedinjenja koja nastaje termalnim tretmanom β-karotena (Bonnie i Choo, 1999). A- β-karoten, B- 5,6-epoksi-β-karoten, C- citroksantin, D- 5,6,5',6'-diepoksi-β-karoten, E- luteohrom, F- aurohrom, G- dihidroaktinidiolide, H- 5,6-epoksi-β-jonon, I- β-jonon, J- 2-hidroksi-2,6,6-trimetilcikloheksanon, K- 2,6,6-trimetilcikloheksanon, L- 2-hidroksi-trimetilcikoheksanon-1-karboksialdehide, M- 2,6,6-trimetil-2-cikoheksen-1-on, N- ciklocitral.

#### 4.2.2.8. Fenoli

U etarskim uljima ispitane začinske paprike identifikovana su dva fenola, *p*-krezol i 3,5-dimetilfenol (Tabela 54). Pomenuta dva fenola bila su prisutna u većini faza zrelosti i tretmana.

**Tabela 54. Relativni udeo fenola u etarskom ulju suve začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti, mrak/svetlo tretman,  $t_R$ -retenciono vreme.**

Fenoli	Zelena	Zelena mrak	Zelena svetlo	Braon	Braon svetlo	Crvena	Crvena mrak	Crvena svetlo	T. Crvena	T. Crvena mrak	T. Crvena svetlo	$t_R$
<b><i>p</i>-krezol</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,19	<0,1	<0,1	0,19	0,21	<0,1	<b>13,75</b>
<b>3,5-dimetilfenol</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>19,36</b>

Procentualni udeo oba identifikovana fenola bio je vrlo mali, pa je za 3,5-dimetilfenol udeo u svim fazama bio manji od 0,1% dok je za *p*-krezol kod netretirane sušene crvene i tamnocrvene paprike procentualni udeo iznosio 0,19%.

Fenoli koji su identifikovani u ispitanoj paprici nisu ulazili u sastav etarskih ulja mađarske paprike (Kocsis et al., 2002; 2003), ali je zato *p*-krezol uočen kod španske suve paprike (Mateo et al., 1997). Dibutilfenol koji je ulazio u sastav isparljivih jedinjenja korejanske (Lee et al., 2004) i mađarske paprike (Kocsis et al., 2002; 2003) nije uočen u ispitanoj sorti začinske paprike.

#### 4.2.2.9. Heterociklična jedinjenja

Heterociklična jedinjenja etarskih ulja suvih perikarpa paprike prikazana su u tabeli 55. Karakteristično za sva heterociklična jedinjenja je da u prstenu sadrže atom kiseonika. Posmatranjem tabele 55 uočava se da od 8 identifikovanih heterocikličnih jedinjenja 7 jedinjenja u osnovi ima furansku strukturu. Izuzetak je miristicin koji u heterocikličnom prstenu ima dva atoma kiseonika.

Od osam jedinjenja koji pripadaju ovoj grupi samo jedno jedinjenje je imalo procentualni udeo veći od 0,1% u svim ispitanim fazama – 2-amilfuran. Furfural je u zelenim tretiranim plodovima i kod braon paprike imao udeo veći od 0,1% (Tabela 55)

I drugi autori su uočili da heterociklična jedinjenja koja u osnovi imaju furansku strukturu ulaze u sastav etarskih ulja. Tako je na primer u sastav isparljivih jedinjenja koreanske sušene paprike ulazio 2-etil-5-metilfuran (Lee et al., 2004), u sastav mađarske 2-pentilfuran (Kocsis et al., 2002; 2003) dok u španskoj paprici nije utvrđeno prisustvo jedinjenja sa furanskom osnovom (Mateo et al., 1997).

Tabela 55. Relativni udeo heterocikličnih jedinjenja u etarskom ulju suve začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti, mrak/svetlo tretman,  $t_R$ -retenciono vreme.

Heterociklična jedinjenja	Zelena	Zelena mrak	Zelena svetlo	Braon	Braon svetlo	Crvena	Crvena mrak	Crvena svetlo	T. Crvena	T. Crvena mrak	T. Crvena svetlo	$t_R$
furfural	<0,1	0,19	0,13	0,18	0,13	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>13,88</b>
acetilfuran	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>17,91</b>
tetrahidro-2,2-dimetil-5-(1-metiletil)furan				<0,1					<0,1	<0,1	<0,1	<b>20,46</b>
5-metilfurfural	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,11	<b>20,99</b>
2-amilfuran	0,14	0,22	0,19	0,19	0,20	0,25	0,33	0,23	0,34	0,30	0,37	<b>23,14</b>
2-(1-pentiletil)-furan				<0,1	<0,1				<0,1		0,28	<b>23,75</b>
6-metil-6-(metilfuran-2-il)heptan-2-on	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<b>52,87</b>
miristicin	<0,1	<0,1										<b>59,23</b>

#### 4.2.2.10. Ostala jedinjenja

Od ostalih jedinjenja pronađenih u etarskim uljima paprike identifikovani su retinil acetat koji je svrstan u vitamine i delta-dodekanollakton (Tabela 56).

Tabela 56. Relativni udeo ostalih jedinjenja u etarskom ulju suve začinske paprike različitog stepena zrelosti (%). Boje označavaju stepen zrelosti, mrak/svetlo tretman,  $t_R$ -retenciono vreme.

Ostala jedinjenja	Zelena	Zelena mrak	Zelena svetlo	Braon	Braon svetlo	Crvena	Crvena mrak	Crvena svetlo	T. Crvena	T. Crvena mrak	T. Crvena svetlo	$t_R$
<b>VITAMINI</b>												
retinil-acetat					0,20	<0,1	<0,1		0,24	0,28	<0,1	<b>91,43</b>
<b>LAKTONI</b>												
delta-dodekanollakton		0,29	0,51		0,22	0,46	0,52	0,58	0,78	<0,1	0,47	<b>68,47</b>

Detekcija a i procentualni udeo ostalih jedinjenja je jako varirao. Retinil-acetat nije detektovan u ranim fazama, izuzetak je braon paprika koja je dozrevana na svetlu, a zatim nije uočen kod crvene paprike dozrevane na svetlu, a takođe najmanji procentualni udeo ima kod tamno crvene paprike dozrevane na svetlu. Delta-dodekanollakton nije detektovan kod sušene zelene i braon paprike, dok je u ostalim fazama procentualni udeo ovog jedinjenja bio veći od 0,1%.

\* \* \*

Nisu sva jedinjenja pripadala samo jednoj grupi, tako na primer terpen dihidroaktinidiolid, ima heterocikličnu strukturu. Bez obzira na ovu otežavajuću činjenicu na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je dozrevanje uticalo na sastav etarskih ulja, najčešće pojavom novog jedinjenja koje nije bilo prisutno kod netretiranih sušenih plodova.

### 4.2.3. Promene na semenu sušene paprike nastale tretmanom i/ili sušenjem nakon branja plodova

Intenzivne promene u perikarpu koje se dešavaju za vreme dozrevanja koja traje petnaest dana ogledaju se i u promeni boje perikarpa i sastavu etarskih ulja. Pomenute promene su energetski vrlo zahtevne a kako se ove promene dešavaju na perikarpu koji je odvojen od biljaka a fotosintetski nije aktivan, pretpostavlja se da bi se deo energije mogao nadomestiti iz rezervi semena. Analize sadržaja vlage ukupnih mineralnih materija i lipida prikazani su u tabeli 57 a sadržaji mikro i makroelemenata u tabelama 58 i 59.

**Tabela 57. Promene sadržaja suve materije, ukupnih mineralnih materija i lipida kod semena tokom zrenja začinske paprike.**

Faze zrenja	Tretman nakon branja	Vlaga (%)	Mineralne materije (%)	Lipidi (%)
<b>Zelena</b>	Sušenje	5,61 <sup>e</sup>	4,46 <sup>g</sup>	23,18 <sup>e</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	4,97 <sup>d</sup>	4,68 <sup>h</sup>	16,78 <sup>a</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	4,87 <sup>d</sup>	4,68 <sup>h</sup>	16,04 <sup>a</sup>
<b>Braon</b>	Sušenje	4,05 <sup>b</sup>	4,22 <sup>f</sup>	27,52 <sup>f</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje			
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	4,18 <sup>bc</sup>	3,86 <sup>e</sup>	16,21 <sup>a</sup>
<b>Crvena</b>	Sušenje	3,56 <sup>a</sup>	3,29 <sup>bc</sup>	22,00 <sup>b</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	3,85 <sup>b</sup>	3,46 <sup>cd</sup>	20,24 <sup>c</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	3,84 <sup>b</sup>	3,54 <sup>d</sup>	17,77 <sup>b</sup>
<b>T. Crvena</b>	Sušenje	4,23 <sup>c</sup>	3,20 <sup>ab</sup>	18,38 <sup>b</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	4,26 <sup>c</sup>	3,02 <sup>a</sup>	21,50 <sup>d</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	4,12 <sup>bc</sup>	3,15 <sup>ab</sup>	19,91 <sup>c</sup>

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju (Duncan-ov test,  $p < 0,05$ )

Dozrevanje začinske paprike je uticalo na vlagu semena paprike. Dozrevanjem se procenat vlage u semenu perikarpa zelenih paprika smanjio dok se kod braon i crvene povećao, a kod tamno crvene dozrevanje nije uticalo na sadržaj vlage. Procenat ukupnih mineralnih materija je imao suprotnu tendenciju od procenta vlage pa se tako procenat ukupnih mineralnih materija kod zelene paprike dozrevanjem povećao, kod braon paprike smanjio, kod crvene paprike je samo tretman dozrevanja na svetlu povećao procenat ukupnih mineralnih materija. Dozrevanje tamno crvene paprike nije uticalo na procenat ukupnih mineralnih materija. Dozrevanje je smanjilo udeo lipida u svim fazama zrelosti, osim kod tamno crvene paprike koja je dozrevala u mraku (Tabela 57).

Sadržaj Na, K i Ca je varirao na sličan način. Sadržaj pomenutih elemenata se u semenima povećava, maksimum je kod paprika braon boje a zatim se sadržaj Na, K i Ca smanjuje. Takođe, dozrevanje je imalo sličan uticaj na pomenute makro elemente. Kod sva tri elementa dozrevanje zelene paprike je povećalo a dozrevanje braon paprike smanjilo sadržaj Na, K i Ca. Zajednički obrazac ponašanja između Na, K i Ca se gubi kod crvene i tamno crvene

paprike. Sadržaj Na se smanjuje kod crvene paprike samo dozrevanjem na svetlu dok se kod tamno crvene paprike njegov sadržaj smanjuje bez obzira na tretman. Sadržaj K se ponaša vrlo slično Na s tom razlikom da tretman crvene paprike na svetlu povećava sadržaj kalijuma u perikarpu. Dozrevanje u crvene paprike mraku je povećalo sadržaj kalcijuma a tretmani dozrevanja nisu uticali na sadržaj Ca u semenu. Za razliku od Na, K i Ca oscilacije u sadržaju Mg su bile mnogo manje izražene, kako između različitih stepena zrelosti tako i dejstvom tretmana (Tabela 58).

**Tabela 58. Promene sadržaja Na, K, Ca i Mg u semenima tokom dozrevanja začinske paprike.**

Faze zrenja	Tretman nakon branja	Na(mg/kg)	K (%)	Ca(mg/kg)	Mg (%)
<b>Zelena</b>	Sušenje	803,3 <sup>gh</sup>	1,14 <sup>c</sup>	351,9 <sup>d</sup>	0,316 <sup>f</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	687,2 <sup>fg</sup>	1,66 <sup>f</sup>	509,3 <sup>f</sup>	0,326 <sup>f</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	1120,0 <sup>i</sup>	1,63 <sup>f</sup>	512,4 <sup>f</sup>	0,301 <sup>e</sup>
<b>Braon</b>	Sušenje	899,1 <sup>h</sup>	1,64 <sup>f</sup>	584,8 <sup>g</sup>	0,267 <sup>a</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje				
<b>Crvena</b>	Dozrevanje na svetlu + sušenje	558,9 <sup>def</sup>	1,45 <sup>e</sup>	392,9 <sup>e</sup>	0,280 <sup>b</sup>
	Sušenje	559,5 <sup>de</sup>	1,11 <sup>c</sup>	275,6 <sup>b</sup>	0,297 <sup>de</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	592,7 <sup>ef</sup>	1,15 <sup>c</sup>	304,6 <sup>c</sup>	0,281 <sup>bc</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	377,2 <sup>bc</sup>	1,21 <sup>d</sup>	274,3 <sup>b</sup>	0,293 <sup>cde</sup>
<b>T. Crvena</b>	Sušenje	459,5 <sup>cd</sup>	1,11 <sup>c</sup>	251,4 <sup>a</sup>	0,285 <sup>bcd</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	279,2 <sup>ab</sup>	0,98 <sup>a</sup>	254,9 <sup>a</sup>	0,296 <sup>de</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	162,8 <sup>a</sup>	1,04 <sup>b</sup>	249,1 <sup>a</sup>	0,285 <sup>bcd</sup>

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju (Duncan-ov test,  $p < 0,05$ )

**Tabela 59. Promene sadržaja Fe, Mn, Zn i Cu u semenima tokom zrenja začinske paprike (mg/kg).**

Faze zrenja	Tretman nakon branja	Fe	Mn	Zn	Cu
<b>Zelena</b>	Sušenje	51,07 <sup>c</sup>	15,60 <sup>b</sup>	24,30 <sup>d</sup>	12,77 <sup>b</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	54,48 <sup>d</sup>	16,83 <sup>f</sup>	27,83 <sup>f</sup>	11,42 <sup>a</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	53,14 <sup>cd</sup>	15,17 <sup>a</sup>	26,25 <sup>e</sup>	11,21 <sup>a</sup>
<b>Braon</b>	Sušenje	51,33 <sup>c</sup>	16,80 <sup>f</sup>	25,92 <sup>e</sup>	11,39 <sup>a</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje				
<b>Crvena</b>	Dozrevanje na svetlu + sušenje	50,92 <sup>c</sup>	16,02 <sup>c</sup>	26,44 <sup>e</sup>	12,90 <sup>bc</sup>
	Sušenje	44,80 <sup>a</sup>	15,97 <sup>c</sup>	22,90 <sup>bc</sup>	13,84 <sup>d</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	45,28 <sup>ab</sup>	16,17 <sup>cd</sup>	23,91 <sup>cd</sup>	13,40 <sup>cd</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	47,98 <sup>b</sup>	16,18 <sup>cd</sup>	23,61 <sup>cd</sup>	13,60 <sup>d</sup>
<b>T. Crvena</b>	Sušenje	44,62 <sup>a</sup>	16,39 <sup>de</sup>	21,80 <sup>ab</sup>	13,29 <sup>bcd</sup>
	Dozrevanje u mraku + sušenje	43,60 <sup>a</sup>	17,08 <sup>g</sup>	21,52 <sup>a</sup>	13,25 <sup>bcd</sup>
	Dozrevanje na svetlu + sušenje	43,28 <sup>a</sup>	16,63 <sup>ef</sup>	21,70 <sup>ab</sup>	13,40 <sup>cd</sup>

Vrednosti u koloni označene različitim slovima se signifikantno razlikuju (Duncan-ov test,  $p < 0,05$ )

Promena sadržaja ispitanih neophodnih mikroelemenata tokom sazrevanja bila je specifična za svaki mikroelement. Najbliži trend su imali Mn i Zn. Ova dva elementa su najveću



koncentraciju imali kada je perikarp bio braon boje a sadržaj se nije menjao prilikom prelaska iz crvene u tamno crvenu fazu. Dozrevanje plodova u semenu braon, crvene i tamno crvene paprike nije uticalo na sadržaj Mn i Zn, dok je dozrevanjem zelene paprike imalo za posledicu povećanje koncentracije Zn. Mn je dozrevanjem zelene paprike u mraku povećao svoju koncentraciju, dok dozrevanje na svetlu smanjilo sadržaj Mn u odnosu na sušenu zelenu papriku.

Nastavak intenzivnih procesa koji su se odvijali u biljci tokom vegetacije a nastavljaju se tokom perioda dozrevanja u trajanju od 15 dana i podrazumevaju biosintezu karotenoida i nekih jedinjenja koja ulaze u sastav etarskih ulja su energetski zahtevni procesi. Potrošnja energije za pomenute procese tokom perioda dozrevanja bi kao posledicu mogla da ima i smanjenje sadržaja lipida u semenu.

## 5. ZAKLJUČCI

U radu su ispitivane biohemijske promene ploda paprike tokom sazrevanja na biljci i promene tokom dozrevanja ubranog ploda u trajanju od 15 dana. Na osnovu rezultata biohemijski aspekti sazrevanja i dozrevanja začinske paprike bi se mogli opisati na sledeći način:

Zeleni plodovi su brani u punoj veličini a njihova boja je ocenjena kao majsko zelena. Zeleni plodovi su imali najmanji sadržaj suve materije, ukupnih mineralnih materija, ukupnih šećera, askorbinske kiseline. Aktivnost ispitanih enzima je na najnižem nivou. Takođe, zeleni plodovi su imali najveći sadržaj hlorofila (HI  $a+b=126,64$  mg/kg) koji je i uslovio dominantnu zelenu boju perikarpa a vrlo mali sadržaj karotenoida. Karotenoidi crvene boje (kapsantin i kapsorubin) nisu uočeni u ovoj fazi zrelosti. Lakoisparljiva jedinjenja koja se vezuju za zelenu, svežu aromu plodova prisutna su u etarskim uljima (2-metoksi-3-izobutilpirazin, 2,6-nonadienal i dekadienal). U ovoj fazi zrenja semena imaju najmanji sadržaj suve materije, ukupnih mineralnih materija i lipida.

Dozrevanjem i sušenjem zelene paprike došlo je do promene boje perikarpa u odnosu na sušenu nedozrevanu papriku. Nakon sušenja u mraku boja mlevenog perikarpa je postala narandžasta dok je sušenjem na svetlu mleveni perikarp bio crveno-narandžaste boje dok je nedozrevani mleveni perikarp imao drap-žutu boju – nespecifičnu za plod ove kulture. S tim u vezi dozrevanje perikarpa povećalo je i ASTA vrednosti, pri čemu je paprika dozrevana na svetlu imala duplo veću ASTA vrednost. Hromatografsko razdvajanje karotenoida pokazalo je da dozrevanje ne samo što povećava sadržaj ukupnih karotenoida već da su novo sintetisani karotenoidi uglavnom crvene boje. Takođe, pojavljuju se i esterifikovani karotenoidi. Ukoliko bi se stepen zrelosti merio intenzitetom crvene boje, dozrevani plodovi zelene paprike bili bi zreliji nego plodovi suve paprike braon boje, što potvrđuje udeo crvene boje  $a^*$ , koji je kod braon paprike 8,56 a kod zelene dozrevane na svetlu 11,94, ASTA vrednosti koja je kod braon paprike 19,37 a kod zelene dozrevane na svetlu 42,75, i na kraju sadržaj kapsantina i kapsorubina koji je kod braon paprike bio 122,7 mg/kg a kod zelene dozrevane na svetlu 218,19 mg/kg. Ovako intenzivni procesi su imali za posledicu signifikantno smanjenje sadržaja lipida u semenu kod dozrevanih paprika.

Posle osam dana izvršeno je sledeće uzorkovanje, pri čemu je paprika promenila boju. Nakon osam dana sazrevanja na polju dominantna boja perikarpa paprike imala je ocenu od zelene sa pratećim tonom smeđe, do smeđe sa pratećim tonom crvene boje. Takođe, povećava se sadržaj suve materije, ukupnih mineralnih materija i askorbinske kiseline dok sadržaj ukupnih šećera ostaje na nivou zelenog ploda paprike. Uočava se i povećana aktivnost ispitanih enzima u odnosu na zelene plodove. U ovoj fazi zrelosti smanjuje se sadržaj hlorofila a povećava sadržaj ukupnih karotenoida. U sastavu karotenoida uočava se prisustvo crvenih pigmenta a novosintetisani karotenoidi se esterifikuju i uočavaju se i mono i diesterifikovani karotenoidi. Prisustvo zelenih hlorofila i crvenih karotenoida daje smeđu boju perikarpa, karakterističnu za ovu fazu zrelosti. U ovoj fazi u sastavu etarskih ulja se i dalje nalaze prisutna jedinjenja karakteristična za svežu aromu plodova. U semenima se povećava sadržaj suve materije, ukupnih mineralnih materija i lipida.

Dozrevanje braon paprike dalje je povećalo intenzitet crvene boje. Analiza karotenoida je pokazala da se ukupan sadržaj karotenoida ne menja, ali se povećava udeo crvenih karotenoida kao i da se povećava stepen esterifikacije, pri čemu potpuno esterifikovanih karotenoida ima preko 60%. Ovako visok udeo esterifikovanih karotenoida predstavlja maksimum u odnosu na sve ispitane tretmane. I kod braon paprike dozrevanje u trajanju od 15 dana ima za posledicu smanjenje sadržaja lipida u semenu.

Kod crvene paprike koja je dozrevala na polju dodatnih 11 dana uočava se mnogo veća uniformnost crvene boje plodova nego kod prethodne faze zrelosti. Povećava se sadržaj suve materije, askorbinske kiseline i ukupnih šećera (ali samo u odnosu na zelene plodove) dok sadržaj ukupnih mineralnih materija ostaje isti. Aktivnost enzima je na najvišem nivou u ovoj fazi zrenja ( $\beta$ -glukozidaza 18,9 a peroksidaza 0,0282). Hlorofili se više ne detektuju a od karotenoida su dominantni crveni pigmenti. U ovoj fazi uočava se da esterifikovanih karotenoida ima više nego slobodnih. Jedinjenja koja se vezuju za sveže i zelene plodove više ne ulaze u sastav etarskih ulja. U ovoj fazi u semenima se uočava najveći sadržaj suve materije, ukupnih mineralnih materija i lipida (suva materija=52,19%; mineralne materije=1,92%; lipidi=14,47%).

Dozrevanje crvene paprike nije uticalo na boju mlevenog suvog perikarpa. Međutim, jasno se uočavaju razlike u ASTA vrednostima kao i u ukupnom sadržaju karotenoida. Naime, dozrevanje crvene paprike imalo je za posledicu biosintezu karotenoida. Novosintetisani karotenoidi nisu menjali odnos crvenih/žutih karotenoida ali su povećali ukupan stepen esterifikacije karotenoida. Pored promene boje dozrevanje crvenog perikarpa na svetlu jedini je tretman koji je smanjio ukupan sadržaj šećera. Uočljive promene tokom procesa dozrevanja imale su za posledicu smanjenje sadržaja lipida u semenu.

Nakon sledećih 15 dana sazrevanja na polju perikarp svih plodova ima tamno bordo boju ( $\lambda=635$  nm;  $L^*=28,45$ ;  $a^*=31,77$ ;  $b^*=13,46$ ). Sadržaj suve materije, ukupnih mineralnih materija, ukupnih šećera i askorbinske kiseline je najveći u odnosu na prethodne faze zrelosti (suva materija=13,52%; mineralne materije=0,73%; ukupni šećeri=3,17%). Aktivnost enzima značajno se smanjuje. Ukupni sadržaj karotenoida se značajno povećao u odnosu na prethodnu fazu zrelosti a crvenih karotenoida ima skoro tri puta više od žutih. U ovoj fazi zrelosti esterifikovanih karotenoida ima 81,4% a potpuno esterifikovani karotenoidi čine 59,3% od ukupnih karotenoida. Sadržaj suve materije, ukupnih mineralnih materija i lipida se smanjuje u odnosu na sadržaj u crvenoj paprici.

Dozrevanje tamno crvene paprike nije uticalo ni na promenu boje mlevenog perikarpa, ni na ukupan sadržaj karotenoida, ni na stepen esterifikacije. Blaga, nesignifikantna promena se jedino uočava kod odnosa crvenih i žutih karotenoida, pri čemu se dozrevanjem povećava udeo žutih karotenoda. U semenima dozrevanih plodova uočava se povećanje sadržaja lipida. Ovakav trend je karakterističan samo za dozrevanje tamno crvene paprike.

U ovom radu prvi put je ispitan sadržaj karotenoida i sastav etarskih ulja u plodovima paprike koji su dozrevani u mraku u čemu se ogleda naučni doprinos ovog rada. Dobijeni rezultati su upoređeni sa rezultatima sušene i paprike dozrevane na svetlu. Najčešća ispitivanja ploda paprike su okrenuta ka boji dok je vrlo mali broj istraživanja volatilnih supstanci, pa ovaj rad i u delu ispitivanja sastava etarskih ulja takođe ima veliki značaj. Najzad, prema autorovom saznanju u ovom radu su u našoj zemlji prvi put analizirani karotenoidi paprike metodom

HPLC-a i etarskih ulja paprike metodom GC-MS, čime se u velikoj meri doprinosi boljem poznavanju domaćih sorti začinskih paprika.

## 6. LITERATURA

1. Abeles, F.B., Morgan, P.W., Saltveit, M.E. (1992) Ethylene in plant biology. Academic Press, New York
2. Aggelis, A., John, I., Karvouni, Z., Grierson, D. (1997). Characterization of two cDNA clones for mRNAs expressed during ripening of melon (*Cucumis melo L*) fruits. *Plant Molecular Biology*, 33, 313-322.
3. Aina, J. O. (1990). Physico-chemical changes in African mango (*Irvingia gabonensis*) during normal storage ripening. *Food Chemistry*, 36, 205-212.
4. Andujar, M., Moreiras-Varela, O., Gil, F. (1990). Tablas de composición de alimentos. Instituto de Nutrición y Bromatología del Consejo Superior de Investigaciones científicas, Madrid.
5. Araki, N., Kusumi, K., Masamoto, K., Niwa, Y., Iba, K. (2000). Temperature sensitive Arabidopsis mutant defective in 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase within the plastid non-mevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis. *Physiologia Plantarum*, 108, 19-24.
6. Asilbekova, D.T. (2003). Lipids from *Capsicum annuum* seeds. *Chemistry of Natural Compounds*, 39, 528-530.
7. Barata-Soares, A., Gomez, M. L., de Mesquita, C. H., Lajolo, F. (2004). Ascorbic acid biosynthesis: a precursor study on plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 16, 147-154.
8. Bartley, G.E., Scolnik, P.A. (1993). cDNA cloning, expression during development, and genome mapping of PSY2, a second tomato gene encoding phytoene synthase. *The Journal of Biological Chemistry*, 268, 25718-25721.
9. Bate, N.J., Riley, J.C., Thompson, J.E., Rothstien, S.J. (1998). Quantitative and qualitative differences in C-6-volatile production from lipoxygenase pathway in an alcohol dehydrogenase mutant of *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum*, 104, 97-104.
10. Bauernfeind, J. C. (1972). Carotenoid vitamin A precursors and analogs in foods and feeds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 20, 456-473.
11. Becker, W. M. (1986). *The World of the Cell*. Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA.
12. Bekker, N.P., Ulchenko, N.T., Glushenkova, A.I. (2001). Physicochemical properties and composition of lipids from *Capsicum annuum* seeds. *Chemistry of Natural Compounds*, 37, 131-133.
13. Bendich, A (1994). Recent advances in clinical research involving carotenoids. *Pure and Applied Chemistry*, 66, 1017-1024.
14. Bendich, A. (1990). "Carotenoids and the immune system." In *Carotenoids: Chemistry and Biology*. Eds. N. I. Krinsky, M. M. Mathews-Roth and R. F. Taylor. New York: Plenum Press, 323-335.
15. Bendich, A., Olson, J. A. (1989). Biological actions of carotenoids. *The FASEB Journal*, 3, 1927-1932.

16. Bernal, M.A., Calderón, A.A., Pedreño, M.A., Muñoz, R., Barceló, A.R., Merino de Cáceres, F. (1993). Dihydrocapsaicin oxidation by *Capsicum annuum* (var. *annuum*) peroxidase. *Journal of Food Science*, 58, 611-613.
17. Bernal, M.A., Merino de Cáceres, F., Barceló, A.R. (1994). Histochemical localization of peroxidase in *Capsicum* fruits. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 27, 197-198.
18. Bhushan, B., Thomas, P. (1990). Effects of  $\gamma$ -irradiation and storage temperature on lipoxygenase activity and carotenoid disappearance in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 38, 1586-1590.
19. Biacs, P.A., Daood, H.G., Pavis, A., Hajdu, F. (1989). Studies of the carotenoid pigments of paprika (*Capsicum annuum* L. var. SZ-20). *Journal of agricultural and food chemistry*, 37, 350-353
20. Bonnie, T.Y.P., Choo, Y.M. (1999). Oxidation and thermal degradation of carotenoids. *Journal of Oil Palm Research*, 1, 62-78
21. Bouranis, D. L. and C. A. Niavis (1992). Cell wall metabolism in growing and ripening stone fruit. *Plant and Cell Physiology* 33, 999–1008.
22. Bouvier, F., Backhaus, R.A., Camara, B., (1998c). Induction in control of chromoplast-specific carotenoid genes by oxidative stress. *The Journal of biological chemistry*, 273, 30651-30659.
23. Bouvier, F., d'Harlingue, A., Huguency, P., Marin, E., Marionpoll, A., Camara, B. (1996). Xanthophyll biosynthesis — cloning, expression, functional reconstitution, and regulation of  $\beta$ -cyclohexenyl carotenoid epoxidase from pepper (*Capsicum annuum*). *The Journal of biological chemistry*, 271, 28861-28867.
24. Bouvier, F., d'Harlingue, A., Suire, C., Backhaus, R.A., Camara, B. (1998a). Dedicated roles of plastid transketolases during the early onset of isoprenoid biogenesis in pepper fruits. *Plant physiology*, 117, 1423-1431.
25. Bouvier, F., Huguency, P., d'Harlingue, A., Kuntz, M., Camara, B. (1994). Xanthophyll biosynthesis in chromoplasts: isolation and molecular cloning of an enzyme catalyzing the conversion of 5,6-epoxycarotenoid into ketocarotenoid. *The Plant journal*, 6, 45-54.
26. Bouvier, F., Keller, Y., d'Harlingue, A., Camara, B. (1998b). Xanthophyll biosynthesis: molecular and functional characterization of carotenoid hydroxylases from pepper fruits (*Capsicum annuum* L). *Biochimica et biophysica acta*, 1391, 320-328.
27. Bramley, P. (1997). The regulation and genetic manipulation of carotenoid biosynthesis in tomato fruit. *Pure and Applied Chemistry*, 69, 2159-2162.
28. Bramley, P., Teulieres, C., Blain, I., Bird, C., Schuch, W. (1992). Biochemical characterization of transgenic tomato plants in which carotenoid synthesis has been inhibited through the expression of antisense RNA to pTOM5. *The Plant journal*, 2, 343-349.

29. Breithaupt D.E., Schwack, W. (2000). Determination of free and bound carotenoids in paprika (*Capsicum annum* L.) by LC/MS. *European Food Research and Technology*, 211, 52-55
30. Britton, G., Liaaen-Jensen, S., Pfander, H. (1995). *Carotenoids 1A: Isolation and analysis*. Birkhäuser Verlag, Basel – Boston – Berlin.
31. Burns, J. K. (1990).  $\alpha$ - and  $\beta$ -galactosidase activities in juice vesicles of stored Valencia oranges. *Phytochemistry* 29. 2425–2429.
32. Burton, G. W. (1989). Antioxidant action of carotenoids. *The Journal of nutrition* 119, 109-111.
33. Buttery, R.G., Seifert, R.M., Guadagni, D.G., Ling, L.C. (1969). Characterization of some volatile constituents of bell peppers. *Journal of agricultural and food chemistry*, 17, 1322-1327.
34. Byers, T., Perry, G. (1992). Dietary carotenes, vitamin C, and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. *Annual Review of Nutrition*, 12, 139-159.
35. Calderon, A.A., Zapata, J.M., Munoz, R., Barcelo, A.R. (1993). Localization of peroxidase in grapes using nitrocellulose blotting of freezing-thawing fruit. *Hort. Science.*, 28, 38-40
36. Cameron, R. G., J. A. Manthey, R. A. Baker and K. Grohmann (2001). Purification and characterization of a  $\beta$ -glucosidase from *Citrus sinensis* var. Valencia fruit tissue. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 4457–4462.
37. Carol, P., Kuntz, M. (2001). A plastid terminal oxidase comes to light: implications for carotenoid biosynthesis and chlororespiration. *Trends in Plant Science*, 6, 31-36.
38. Chitwood, R.L., Pangborn, R.M., Jennings, W., 1983. GC/MS and sensory analysis of volatiles from three cultivars of capsicum. *Food Chemistry*, 11, pp. 201–216.
39. Conforti, F., Statti, G.A., Menichini, F. (2007). Chemical and biological variability of hot pepper fruits (*Capsicum annum* var. *acuminatum* L.) in relation to maturity stage. *Food Chemistry*, 102, 1096-1104.
40. Contreras-Padilla, M., Yahia, R.M. (1998) Changes in capsaicinoids during development, maturation and senescence of chile peppers and relation with peroxidase activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2075-2079.
41. Cunningham, F.X. Jr, Gantt, E. (1998). Genes and enzymes of carotenoid biosynthesis in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 557-583.
42. Cunningham, F.X. Jr, Lafond, T.P., Gantt, E. (2000). Evidence of a role for LytB in the nonmevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis. *Journal of bacteriology*, 182, 5841-5848.
43. Daood, H. G., Vinkler, M., Markus, F., Hebshi, E. A., Biacs, P. A. (1996). Antioxidant vitamin content of spice red pepper (paprika) as affected by technological and varietal factors. *Food chemistry*, 55, 365-372.

44. Deli, J., Matus, Z., Szabolcs, J. (1992). Carotenoid composition in the fruits of black paprika (*Capsicum annuum* variety *longum nigrum* during ripening. Journal of agricultural and food chemistry, 40,2072-2076
45. deMan, J.M. (1999). Principles of Food Chemistry. Springer - Verlag
46. Demmig-Adams, B., Adams, W. W., III. (1992). Photoprotection and other responses of plants to high light stress. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 43, 599–626.
47. Di Mascio, P., Kaiser, R. M., Sies, H. (1989). Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. Archives of biochemistry and biophysics, 274, 532-538.
48. Dick, A. J., A. Opoku-Gyamfua and A. C. DeMarco (1990). Glycosidases of apple fruit: A multifunctional  $\beta$ -galactosidase. Physiologia Plantarum 80. 250–256.
49. Dudareva, N., Pichersky, E., Garshenzon, J. (2004). Biochemistry of plant volatiles. Plant Physiology, 135, 1893-1902.
50. Eisenreich, W., Rohdich, F., Bacher, A. (2001). Deoxyxylulose phosphate pathway to terpenoids. Trends in Plant Science, 6, 78-84.
51. El-Tinay, A. H., Chichester, C. O. (1970). Oxidation of  $\beta$ -carotene. Site of initial attack. Journal of Organic Chemistry, 35, 2290-2293.
52. Eriksson, O., Friis, E.M., Löfgren, P. (2000). Seed size, fruit size and dispersal systems in angiosperms from the early Cretaceous to the late Tertiary. American Naturalist, 156, 47-58.
53. Eschrich, W. (1989). Phloem loading of assimilates. In: Transport of Photoassimilates. Baker, D.A., Milburn, J.A. (eds). Longman Scientific & Technical, Essex, pp 206-263.
54. Estrada, B., Bernal, M.A., Diaz, J., Pomar, F., Merino, F. (2000) Fruit development in *Capsicum annuum*: Changes in capsaicin, lignin, free phenolics and peroxidase patterns, Journal of Agricultural and Food Chemistry 48, 6234–6239.
55. Falconer, M. E., Fishwick, M. J., Land, D. G., Sayer, E. R. (1964). Carotene oxidation and off-flavor development in dehydrated carrot. Journal of the Science of Food and Agriculture. 15, 897-901.
56. Farin, D., Ikan R., Gross, J. (1983). The carotenoid pigments in the juice and flavedo of a mandarin hybrid (*Citrus reticulata* cv. Michal) during ripening. Phytochemistry, 22, 403-408.
57. Fernández-Bolaños, J., R. Rodríguez, R. Guillén, A. Jiménez and A. Heredia (1995). Activity of cell wall-associated enzymes in ripening olive fruit. Physiologia Plantarum 93, 651–658.
58. Fils-Lycaon, B. and M. Buret (1991). Changes in glycosidase activities during development and ripening of melon. Postharvest Biology and Technology 1, 143–151.



59. Foote, C. S., Chang, Y. C., Denny, R. W. (1970). Chemistry of singlet oxygen X. Carotenoid quenching parallels biological protection. *Journal of the American Chemical Society*, 92, 5216-5218.
60. Frank, H. A., Cogdell, R. J. (1996). Carotenoids in photosynthesis. *Photochemistry and photobiology*, 63, 257–264.
61. Frankel, C. (1972). Involvement of peroxidase and indole-3-acetic acid oxidase isozymes, from pear, tomato and blueberry fruit ripening. *Plant Physiology*, 49, 757-763.
62. Fraser, P.D., Kiano, J.W., Truesdale, M.R., Schuch, W., Bramley, P.M. (1999). Phytoene synthase-2 enzyme activity in tomato does not contribute to carotenoid synthesis in ripening fruit. *Plant molecular biology*, 40, 687-698.
63. Fraser, P.D., Truesdale, M.R., Bird, C.R., Schuch, W., Bramley, P.M. (1994). Carotenoid biosynthesis during tomato fruit development. *Plant Physiology*, 105, 405-413.
64. Friis, E.M., Chaloner, W.G., Crane, P.R. (eds) (1987). *The origins of angiosperms and their biological consequences*. Cambridge: Cambridge University Press.
65. Fujiwake, H., Suzuki, T., Iwai, K. (1980). Intracellular localization of capsaicin and its analogous in *Capsicum* fruit. II. The vacuole as the intracellular accumulation site of capsaicinoid in the protoplast of *Capsicum* fruit. *Plant and Cell Physiology*, 21, 1023-1030.
66. Gerardi, C., F. Blando, A. Santino and G. Zacheo (2001). Purification and characterization of a  $\beta$ -glucosidase abundantly expressed in ripe sweet cherry (*Prunus avium* L.) fruit. *Plant Science* 160, 795–805.
67. Gerster, H. 1991. Potential role of  $\beta$ -carotene in the prevention of cardiovascular disease. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 61, 277-291.
68. Ghose T.K. (1987). Measurement of cellulase activities. *Pure and Applied Chemistry*, 59, 257–268
69. Giami, S. Y., Alu. D. A. (1994). Changes in composition and certain functional properties of ripening plantain (*Musa spp.*, AAB group) pulp. *Food Chemistry* 50, 137-140.
70. Giuliano, G., Bartley, G.E., Scolnik, P. (1993). Regulation of carotenoid biosynthesis during tomato development. *The Plant cell*, 5, 379-387.
71. Goodman, D.S., Huang, H. S. (1965). Biosynthesis of vitamin A with rat intestinal enzymes. *Science* 149, 879-880.
72. Gross, J. (1981). Pigment changes in the flavedo of Dancy tangerine (*Citrus reticulata*) during ripening. *Zeitschrift fuer Pflanzenphysiologie*, 103, 451-457.
73. Gross, J. (1982a). Changes of chlorophylls and carotenoids in developing strawberry fruits (*Fragaria anonassa*) cv. Tenira. *Gartenbauwiss.* 47,142-144.
74. Gross, J. (1982b). Pigment changes in the pericarp of the Chinese gooseberry or kiwi fruit (*Actinidi chinensis*) cv. Bruno during ripening. *Gartenbauwiss.* 47,162-167.

75. Gross, J. (1982c). Carotenoid changes in the juice of the ripening Dancy tangerine (*Citrus reticulata*). *Lebensmittel-Wissenschaft und –Technologie*, 15, 36-38.
76. Gross, J. (1983). Chlorophyll and carotenoid pigments in *Ribes* fruits. *Scientia Horticulturae*, 18, 131-136.
77. Gross, J. (1987). *Pigments in Fruits*. London: Academic Press.
78. Grossman, A. R., Bhaya, D., Apt, K. E., Kehoe, D. M. (1995). Light-harvesting complexes in oxygenic photosynthesis: Diversity, control, and evolution. *Annual review of genetics*, 29, 231–288.
79. Hadživuković, S. (1991). *Statistički metodi s primenom u poljoprivrednim i biološkim istraživanjima*. Poljoprivredni fakultet, Institut za ekonomiku poljoprivrede i sociologiju sela. Novi Sad, 1991
80. Heuvelink, E., Marcelis, L.F.M. (1989). Dry matter distribution in tomato and cucumber. *Acta Horticulturae*, 260, 149-157.
81. Hieber, A.D., Bugos, R.C., Yamamoto, H.Y. (2000). Plant lipocalins: violaxanthin de-epoxidase and zeaxanthin epoxidase. *Biochimica et biophysica acta*, 1482, 84-91.
82. Hirschberg, J., (2001). Carotenoid biosynthesis in flowering plants. *Curren Opinion in Plant Biology*, 4, 210-218.
83. Ho, L. C. (1988). Metabolism and compartmentation of imported sugars in sink organs in relation to sink strength. *Annual review of plant physiology*, 39, 335-378.
84. Homnava, A., Payne, J., Koehler, P., Eitenmiller, R. (1991). Characterization of changes during ripening of oriental persimmon. *Journal of Food Quality*, 14,425-434.
85. Horton, P., Ruban, A. V., Walters, R. G. (1996). Regulation of light harvesting in green plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 47, 655–684.
86. Howard, L. R., Smith, R. T., Wagner, A. B., Villalon, B., Burns, E. E. (1994). Provitamin A and ascorbic acid content of fresh pepper cultivars (*Capsicum annuum*) and processed jalapeños. *Journal of Food Science*, 59, 362-365.
87. Howard, L. R., Talcot, S. T., Brenes, C. H., Villalon, B. (2000). Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum annuum*) as influenced by maturity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48, 1713-1720.
88. Huguene, P., Badillo, A., Chen, H.C., Klein, A., Hirschberg, J., Camara, B., Kuntz, M. (1995). Metabolism of cyclic carotenoids: a model for the alteration of this biosynthetic pathway in *Capsicum annuum* chromoplasts. *The Plant journal*, 8, 417-424.
89. Huguene, P., Bouvier, F., Badillo, A., Quennemet, J., d’Harlingue, A., Camara, B. (1996). Developmental and stress regulation of gene expression for plastid and cytosolic isoprenoid pathways in pepper fruits. *Plant Physiology*, 111, 619-626.

90. Hunter, R. F., Krakenberger, R. M. (1947). The oxidation of  $\beta$ -carotene in solution by oxygen. J. Chem. Soc. 1-4.
91. Husar, L., Ferenc, D., Tot, A. (1997). Proizvodnja začinske paprike direktnom setvom, Vitamin Horgoš, Udarnik, Senta.
92. Huyskens, S., Timberg R., Gross, J. (1985). Pigment and plastid ultra-structural changes in kumquat (*Fortunella margarita*) "Nagami" during ripening. Journal of Plant Physiology, 118, 61-72.
93. Ikoma, Y., Komatsu, A., Kita, M., Ogawa, K., Omura, M., Yano, M., Moriguchi, T. (2001). Expression of a phytoene synthase gene and characteristic carotenoid accumulation during citrus fruit development. Physiologia Plantarum, 111, 232-238.
94. ISO, (1984). Ground (powdered) paprika (*Capsicum annum* Linnaeus) – Specification, International Standard 7540, International Organization for Standardization, Switzerland.
95. Ivačković, N. (1938). Paprika naš domaći začim, Trgovinsko-industrijska komora u Novom Sadu, Grafički Zavod Pilišer i Komp., Novi Sad.
96. Ivković, Đ. (1933). Hemijska laboratorija Novosadske trgovinsko-industrijske i zanatske komore u Horgošu, kultura, prerade i trgovina paprike na području trgovinsko-industrijske u Novom Sadu, Novi Sad.
97. John, J., Subbarayan, C., Cama, H. R. (1970). Carotenoids in 3 stages of ripening of mango. Journal of Food Science, 35, 262-265.
98. Josse, E.M., Simkin, A.J., Gaffe, J., Laboure, A.M., Kuntz, M., Carol, P. (2000). A plastid terminal oxidase associated with carotenoid desaturation during chromoplast differentiation. Plant Physiology, 123, 1427-1436.
99. Jovanović, R. (1946). Proizvodnja prerada i upotreba paprike, Poljoprivredna biblioteka, Zadržno izdavačko preduzeće Beograd, Štamparija glavnog saveza srpskih zemljoradničkih zadruga, Beograd.
100. Katayama, T., Nakayama, T. O. M., Lee, T. H., Chichester, C. O. (1971). Carotenoid transformations in ripening apricots and peaches. Journal of Food Science, 36, 804-806.
101. Khadi, B.M., Goud, J.V., Patil, V.B. (1987). Variation in ascorbic acid and mineral content in fruits of some varieties of chilli (*Capsicum annum* L.). Plant Foods for Human Nutrition, 37, 9-15.
102. Knapp, S. (2002). Tobacco to tomatoes: a phylogenetic perspective on fruit diversity in the Solanaceae. Journal of Experimental Botany, 53, 2001-2022.
103. Knudsen, J., Tollsen, L., Bergstrom, G. (1993). Floral scents – a checklist of volatile compounds isolated by head-space techniques. Phytochemistry, 33, 253-280.
104. Kobrehel, P., Husor, L., Guteši, R. (1986). Proizvodnja začinske paprike, Industrija paprike „Vitamin“, Horgoš, Forum, Novi Sad

105. Kocsis, N., Amtmann, M., Mednyánszky, Zs., Korány, K. (2002). GC-MS Investigation of the Aroma Compounds of Hungarian Red Paprika (*Capsicum annuum*) Cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15, 195-203.
106. Kocsis, N., Márkus, F., Mednyánszky, Zs., Amtmann, M., Korány, K. (2003). Recognition experiments of the vintage year 1997 hot and red paprika (*Capsicum annuum*) varieties grown in Kalocsa. *Acta Alimentaria* 32, 63-75.
107. Kon, M., Shimba, R. (1987). "Changes of carotenoids in Japanese persimmon (Yotsumizo) during maturation, storage and drying process," (in Japanese). *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*. 34,155-162.
108. Koskitalo, L. N., Ormrod, D. P. (1972). Effects of sub-optimal ripening temperatures on the color quality and pigment composition of tomato fruit. *Journal of Food Science*, 37, 56-59.
109. Krinsky, N. I. (1989). Antioxidant functions of carotenoids. *Free radical biology & medicine*, 7, 617-635.
110. Krinsky, N. I. (1990). "Carotenoids in medicine." In *Carotenoids: Chemistry and Biology*. Eds. N. I. Krinsky, M. M. Mathews-Roth and R. F. Taylor. New York: Plenum Press, 279-291.
111. Krinsky, N. I. (1994). The biological properties of carotenoids. *Pure and Applied Chemistry*, 66, 1003-1010.
112. Kühlbrandt, W., Wang, D. N., Fujiyoshi, Y. (1994). Atomic model of plant light-harvesting complex by electron crystallography. *Nature* 367, 614-621.
113. Kuntz, M., Römer, S., Suire, C., Hugueney, P., Weil, J.H., Schantz, R., Camara, B. (1992). Identification of a cDNA for the plastid-located geranylgeranyl pyrophosphate synthase from *Capsicum annuum*: correlative increase in enzyme activity and transcript level during fruit ripening. *The Plant Journal*, 2, 25-34.
114. Laffingwell, J.C. (2002). Carotenoids as flavor & fragrance precursors. *Laffingwell reports*, 2, 1-5.
115. Lange, B.M., Croteau, R. (1999). Isoprenoid biosynthesis via a mevalonate-independent pathway in plants: cloning and heterologous expression of 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase from peppermint. *Archives of biochemistry and biophysics*, 365, 170-174.
116. Lantz, E. M. (1943). The carotene and ascorbic acid content of peppers. *New Mexico State University Agric. Exp. Sta. Bul.* 306; New Mexico State University: Las Cruces, NM.
117. Lee, J.H., Sung, T.H., Lee, K.T., Kim, M.R. (2004). Effect of Gamma-irradiation on Color, Pungency, and Volatiles of Korean Red Pepper Powder. *Journal of Food Science*, 69, 585-592.
118. Lefebvre, V., Kuntz, M., Camara, B., Palloix, A. (1998). The capsanthin-capsorubin synthase gene: a candidate gene for the  $\gamma$  locus controlling the red fruit colour in pepper. *Plant Molecular Biology*, 36, 785-789.

119. Leffingwell, J. (2002). Carotenoids as Flavor & Fragrance Precursors. Leffingwell Reports, Vol. 2, 1-5.
120. Leshem, Y. Y. (1988). Plant senescence processes and free radicals. In Free Radical Biology and Medicine; Pergamon Press: Oxford, U.K., pp 39-49.
121. Lichtenthaler, H.K., Rohmer, M., Schwender, J. (1997). Two independent biochemical pathways for isopentenyl diphosphate and isoprenoid biosynthesis in higher plants. *Physiologia Plantarum*, 101, 643-652.
122. Lichtenthaler, H.K., Schwender, J., Disch, A., Rohmer, M. (1997). Biosynthesis of isoprenoids in higher plant chloroplasts proceeds via mevalonate-independent pathway. *FEBS Letters*, 400, 271-274.
123. Lois, L.M., Rodriguez-Concepcion, M., Gallego, F., Campos, N., Boronat, A. (2000). Carotenoid biosynthesis during tomato fruit development: regulatory role of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase. *The Plant journal*, 22, 503-513.
124. Luning, P.A, Yuksel, D., van der Vuurst de Vries, R., Roozen, J.P. (2005b). Aroma changes in fresh bell peppers (*Capsicum annuum*) after hot-air drying. *Journal of Food Science*, 6, 1269-1276.
125. Luning, P.A., Ebbenhorst-Seller, T., Rijk, T. de, Roozen, J.P. (1995a). Effect of hot-air drying on flavour compounds of bell peppers (*Capsicum annuum*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 68, 355-365.
126. Luning, P.A., Rijk, T.D., Wichers, H.J., Roozen, J.P. (1994). Gas chromatography, mass spectrometry, and sniffing port analyses of volatile compounds of fresh bell peppers (*Capsicum annuum*) at different ripening stages. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 42, 977-983.
127. Marin E, Nussaume L, Quesada A, Gonneau M, Sotta B, Hugueney P, Frey, A., Marion-Poll, A. (1996). Molecular identification of zeaxanthin epoxidase of *Nicotiana plumbaginifolia*, a gene involved in abscisic acid biosynthesis and corresponding to the ABA locus of *Arabidopsis thaliana*. *EMBO Journal*, 15, 2331-2342.
128. Marković, V. (1994). Gajenje paprike, Poljoknjiga Beograd.
129. Marković, V., Vračar, Lj. (1998). Proizvodnja i prerada paprike, Feljton, Novi Sad.
130. Martínez, S., López, M., Gonzáles-Raurich, M., Alvarez, A. B. (2005), The effects of ripening stage and processing systems on vitamin C content in sweet peppers (*Capsicum annuum* L.). *International journal of food sciences and nutrition*, 56, 45-51.
131. Marty, C., Berset, C. (1988). Degradation products of *trans*- $\beta$ -carotene produced during extrusion cooking. *Journal of Food Science*, 53, 1880-1886.
132. Mataix, J. (1993). Tabla de composición de alimentos españoles: Granada. Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos, Universidad de Granada, p 108
133. Mateo, J., Aguirrezábal, M., Domínguez, C., Zumalacárregui, J.M. (1997). Volatile Compounds in Spanish Paprika. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10, 225-232.

134. Mathews-Roth, M. M. (1985). Carotenoid and cancer prevention — experimental and epidemiological studies. *Pure and Applied Chemistry*, 57, 717-722.
135. Mathews-Roth, M. M. (1991). Recent progress in the medical applications of carotenoids. *Pure and Applied Chemistry*, 63, 147-156.
136. Matus, Z., Deli, J., Szabolcs, J. (1991). Carotenoid composition of yellow pepper during ripening: Isolation of  $\beta$ -cryptoxanthin 5,6-epoxide. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 39, 1907-1914.
137. Mayer, M.P., Nievelstein, V., Beyer, P. (1992). Purification and characterization of a NADPH dependent oxidoreductase from chromoplasts of *Narcissus pseudonarcissus* — a redox-mediator possibly involved in carotene desaturation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 30, 389-398.
138. Mercadante, A. Z., Rodriguez-Amaya, D. B. (1993). Composition of carotenoids in two mango cultivars and mango juice obtained by HPLC. Paper presented at the 10th International Symposium on Carotenoids, Trondheim.
139. Miesle, T.J., Proctor, A., Lagrimini, L.M. (1991). Peroxidase activity, isoenzymes, and tissue localization in developing highbush blueberry fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 116, 827-830.
140. Mijušković, S. (1955). *Proizvodnja industrijske (začinske) paprike*, Zavod za poljoprivredna istraživanja, Novi Sad, Gradska štamparija Subotica.
141. Mínguez-Mosquera, M. I., Garrido-Fernández J., Gandul-Rojas, B. (1989). Pigment changes in olives during fermentation and brine storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 37, 8-11.
142. Mínguez-Mosquera, M. I., Hornero-Méndez, D. (1994a). Formation and transformation of pigments during the fruit ripening of *Capsicum annuum* cv. Bola and Agridulce. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 42, 38-44.
143. Mínguez-Mosquera, M. I., Hornero-Méndez, D. (1994b). Changes in carotenoid esterification during the fruit ripening of *Capsicum annuum* CV. Bola. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 42, 640-644.
144. Mínguez-Mosquera, M.I., Hornero-Méndez, D. (1993). Separation and quantification of carotenoid pigments in red peppers (*Capsicum annum* L.), paprika and oleoresin by reversed-phase HPLC. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 41, 1616-1620.
145. Mitchell, G. E., McLauchlan, R. L., Beattie, T. R., Banos, C., Gillen, A. A. (1990). Effect of gamma irradiation on the carotene content of mangos and red capsicums. *Journal of Food Science*, 55, 1185-1186.
146. Moehs, C.P., Tian, L., Osteryoung, K.W., DellaPenna, D. (2001). Analysis of carotenoids biosynthetic gene expression during marigold petal development. *Plant Molecular Biology*, 45, 281-293.
147. Morais, H., Ramos, A.C., Cserháti, T., Forgács, E. (2001). Effect of fluorescent light and vacuum packaging on the rate of decomposition of pigment in paprika (*Capsicum annuum*) powder determined by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 936, 139-144.

148. Morris, D. A. (1982). Hormonal regulation of sink invertase activity: Implications for the control of assimilate partitioning. *In: Plant Growth Substances, 1982* (ed.) Wareing P. F., Academic Press, New York, pp 659-668.
149. Moser, D., Matile, P. (1997). Chlorophyll breakdown in ripening fruits of *Capsicum annuum*. *Journal of Plant Physiology*, 150, 759-761.
150. Moya, S. Y., Mejía, L. A., de Mejía, E. G., Vázquez, F. A. (1994). Efecto de la maduración y el secado en el contenido de carotenoides pro-vitamina A en Chile (*Capsicum annuum* anaheim). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 44, 41-46.
151. Mozafar, A. (1994). *Plant Vitamins: Agronomic, Physiological and Nutritional Aspects*; CRC Press: Boca Raton, FL.
152. Murray K., Whitefield F., (1975). The occurrence of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in raw vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 26, 973-986.
153. Nakamura, Y., Saganuama, E., Matsuo, T., Okamoto, S., Sato, K., Ohtsuki, K. (1999). 2,4-Nonadienal and Benzaldehyde Bioantimutagens in Fushimi Sweet Pepper (Fushimi-Togarashi). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 47, 544-549.
154. Nešković, M., Konjević, R., Čulafić, Lj., (2003). Razviće ploda i semena. *In: Fiziologija biljaka*. NNK, Beograd.
155. Nielsen T, Skjærbæk, H., Karlsen, P. (1991). Carbohydrate metabolism during fruit development in sweet pepper (*Capsicum annuum*) plants. *Physiologia Plantarum*, 82, 311-319.
156. Niketić-Aleksić, G., Vereš, M., Zlatković, B., Rašković, V. (1989). *Priručnik za industrijsku preradu voća i povrća*. Naučna knjiga, Beograd.
157. Niyogi, K.K., Grossman, A.R., Bjorkman, O. (1998). Arabidopsis mutants define a central role for the xanthophyll cycle in the regulation of photosynthetic energy conversion. *Plant Cell*, 10, 1121-1134.
158. Norris, S.R., Barrette, T.R., DellaPenna, D. (1995). Genetic dissection of carotenoid synthesis in Arabidopsis defines plastoquinone as an essential component of phytoene desaturation. *Plant Cell*, 7, 2139-2149.
159. Olson, J.A., Hayaishi, O. (1965). The enzymatic cleavage of  $\beta$ -carotene into vitamin A by soluble enzymes of rat liver and intestine. *National Academy of Sciences of the United States of America. Proceedings*. 54, 1364-1369.
160. Osuna-García, J.A., Wall, M.M., Waddell, C.A. (1998). Endogenous levels of tocopherols and ascorbic acid during fruit ripening of NewMexican – type chile (*Capsicum annuum* L.) cultivars. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46, 5093-5096.
161. Palozza, P. N. I. Krinsky. (1992). Antioxidant effects of carotenoids *in vivo and in vitro*: An overview. *Methods in Enzymology*, 213, 403-420.
162. Pare, P., Tumilson, J. (1999). Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant Physiology*, 121, 325-331.

163. Pecker, I., Chamovitz, D., Linden, H., Sandmann, G., Hirschberg, J. (1992). A single polypeptide catalyzing the conversion of phytoene to  $\zeta$ -carotene is transcriptionally regulated during tomato fruit ripening. The Proceedings of the National Academy of Sciences Online USA, 89, 4962-4966.
164. Pecker, I., Gabbay, R., Cunningham, F.X. Jr, Hirschberg, J. (1996). Cloning and characterization of the cDNA for lycopene  $\beta$ -cyclase from tomato reveals decrease in its expression during fruit ripening. *Plant Molecular Biology*, 30, 807-819.
165. Pedreño, M.A., Bernal, M.A., Calderón, A.A., Ferrer, M.A., Lòpez-Serrano, M., Merino de Cáceres, F. Muñoz, R. Barceló, A.R. (1992). A general pattern for peroxidase isoenzyme localization and function in Vitaceae, Solanaceae and Leguminosae. In: Welinder, K.G., Rasmussen, S.K., Penel, C., Greppin, H. (eds). *Plant peroxidases: Biochemistry and physiology*. University of Geneva, Geneva, 307-314.
166. Pedrosa, J. F., Casali, V. W. D., Cheng, S. S., Chitarra, M. I. F., de Carvalho, V. D. (1983). Variação na composição química durante o armazenamento de morangas e abóboras. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 18, 29-32.
167. Pfündel, E., Bilger, W. (1994). Regulation and possible function of the violaxanthin cycle. *Photosynthesis Research*, 42, 89–109.
168. Pharr, D. M., H. N. Sox and Nesbitt, W. B. (1976). Cell wall-bound nitrophenylglycosidases of tomato fruits. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 101, 397–400.
169. Pino, J., Sauri-Duch, E., Marbot, R. (2006). Changes in volatile compounds of Habanero chile pepper (*Capsicum chinense* Jack. cv. Habanero) at two ripening stages. *Food Chemistry*, 94, 394-398.
170. Pogson, B., McDonald, K.A., Truong, M., Britton, G., DellaPenna, D. (1996). Arabidopsis carotenoid mutants demonstrate that lutein is not essential for photosynthesis in higher plants. *Plant Cell*, 8, 1627-1639.
171. Pullerits, T., and Sundström, V. (1996). Photosynthetic light-harvesting pigment-protein complexes: Toward understanding how and why. *Accounts of Chemical Research*, 29, 381–389.
172. Quesada M. A., Sanchez-Roldan, C., Heredia, A., Valpuesta, V., Bukovac, M. J. (1992). Peroxidase and IAA oxidase activities and peroxidase isoenzymes in the pericarp of seeded and seedless "Redhaven" peach fruit. *Journal of Plant Growth Regulation*, 11, 1-6.
173. Rahman, F. M. M., Buckle, K. A. (1980). Pigment changes in capsicum cultivars during maturation and ripening. *Journal of Food Technology*, 15, 241-249.
174. Ramakrishnan, T. V., Francis, F. J. (1979). Coupled oxidation of carotenoids in fatty acid esters of varying unsaturation. *Journal of Food Quality*, 2, 277-287.
175. Ranwala, A. P., C. Suematsu and H. Masuda (1992). The role of  $\beta$ -galactosidases in the modification of cell wall components during muskmelon fruit ripening. *Plant Physiology* 100, 1318–1325.



176. Raymundo, L. C., Chichester, C. O., Simpson, K. L. (1976). Light-dependent carotenoid synthesis in the tomato fruit. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 24, 59-64.
177. Reid, M. S., Lee, T. H., Pratt, H. K., Chichester., C. O. (1970). Chlorophyll and carotenoid changes in developing muskmelons. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 95, 814-815.
178. Roca, M., Mínguez-Mosquera, M. I. (2006). Chlorophyll catabolism pathway in fruits of *Capsicum annum* (L.): stay-Green versus red fruits. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, 4035-4040.
179. Römer, S., Hugueney, P., Bouvier, F., Camara, B., Kuntz, M. (1993). Expression of the genes encoding the early carotenoid biosynthetic enzymes in *Capsicum annum*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 196, 1414-1421.
180. Ronen, G., Carmel-Goren, L., Zamir, D., Hirschberg, J. (2000). An alternative pathway to  $\beta$ -carotene formation in plant chromoplasts discovered by map-based cloning of B and old-gold color mutations in tomato. *The Proceedings of the National Academy of Sciences Online USA*, 97, 11102-11107.
181. Ronen, G., Cohen, M., Zamir, D., Hirschberg, J. (1999). Regulation of carotenoid biosynthesis during tomato fruit development: expression of the gene for lycopene epsilon-cyclase is down-regulated during ripening and is elevated in the mutant delta. *The Plant Journal*, 17, 341-351.
182. Rotstein, A., Gross, J., Lifshitz, A. (1972). Changes in the pulp carotenoid pigments of the ripening Shamouti orange. *Lebensm. Wiss. Technol.* 5,140-143.
183. Rouseff, R.L., Nagy, S. (1994). Health and nutritional benefits of citrus fruit components. *Food Technology*, 48, 126-132.
184. Russo, V.M., Biles, C. (2004). Fertilizer Rate and B Galactosidase and Peroxidase Activity in Pepper Fruit at Different Stages and Years of Harvest. *Plant Foods for Human Nutrition*. 58, 231-239.
185. Sabo, J. (1997). 50 godina „Aleve“, Aleva, Novi Kneževac, Feljton, Novi Sad.
186. Schwender, J., Muller, C., Zeidler, J., Lichtenthaler, H.K. (1999). Cloning and heterologous expression of a cDNA encoding 1-deoxy-Dxylulose-5-phosphate reductoisomerase of *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Letters*, 455, 140-144.
187. Shewmaker, C.K., Sheehy, J.A., Daley, M., Colburn, S., Ke, D.Y. (1999). Seed specific overexpression of phytoene synthase: increase in carotenoids and other metabolic effects. *The Plant Journal*, 20, 401-412.
188. Silva, E., Lourenco, E.J., Neves, V.A. (1990). Soluble and bound peroxidases from papaya fruit. *Phytochemistry*, 29, 1051-1056.
189. Simmone, A. H.; Simmone, E. H.; Eitenmiller, R. R.; Mills, H. A.; Green, N. R. (1997). Ascorbic acid and provitamin A contents in some unusually colored bell peppers. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10, 299-311
190. Simpson, K. L. (1983). Relative value of carotenoids as precursors of vitamin A. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 42, 7-17.

191. Sozzi, G.O. 2004. Strategies for the regulation of postharvest fruit softening by changing cell wall enzyme activity. In: Ramdane Dris & Shri Mohan Jain (eds.), Production Practices and Quality Assessment of Food Crops, Volume 4: Postharvest Treatment and Technology. Kluwer Academic Publishers B.V., Dordrecht, The Netherlands, 135-172.
192. Steeghs, M., Bias, H., de Gouw, J., Goldan, P., Kuster, W., Northway, M., Fall, R., Vivanco, J. (2004). Proton-transfer-reaction mass spectrometry (PTR-MS) as a new tool for real time analysis of root secreted volatile organic compounds (VOCs) in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* 135, 47-58.
193. Sun, Z.R., Gantt, E., Cunningham, F.X. Jr. (1996). Cloning and functional analysis of the  $\beta$ -carotene hydroxylase of *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biological Chemistry*, 271, 24349-24352.
194. Suzuki, T., Fujiwake, H., Iwai, K. (1980). Intracellular localization of capsaicin and its analogous, capsaicinoid, in *Capsicum* fruit. I. Microscopic investigation of the structure of the placenta of *Capsicum annuum* var. *annuum* cv. *karayatsubusa*. *Plant and Cell Physiology*, 21, 839-853.
195. Tateishi, A., Y. Kanayama and S. Yamaki (1996).  $\alpha$ -L-Arabinofuranosidase from cell walls of Japanese pear fruits. *Phytochemistry* 42, 295-299.
196. Tepić, A. (2005). Promena boje začinske mlevene paprike i zaštitno delovanje antioksidanasa. Magistarska teza, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
197. Terão, J. (1989). Antioxidant activity of  $\beta$ -carotene-related carotenoids in solution. *Lipids*, 24, 659-661.
198. Thelander, M., Narita, J.O., Gruissem, W. (1986). Plastid differentiation and pigment biosynthesis during tomato fruit ripening. *Current topics in plant biochemistry and physiology*, 5, 128-141.
199. Thomas, P., Janave, M. T. (1975). Effects of gamma irradiation and storage temperature on carotenoids and ascorbic acid content of mangoes on ripening. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 26, 1503-1512.
200. Tiffney, B.H. (1984). Seed size, dispersal syndromes, and the rise of the angiosperms: evidence and hypothesis. *Annals of Missouri Botanical Garden* 71, 551-576.
201. Tojagić, S., Mirilov, M. (1998). Hrana: značaj i tokovi u organizmu. Matica srpska, Novi Sad.
202. Trajković, J., Baras, J., Mirić, M., Šiler, S. (1983). Analize životnih namirnica. Tehnološko-Metalurški fakultet, Beograd.
203. van Grondelle, R., Dekker, J. P., Gillbro, T., Sundström, V. (1994). Energy transfer and trapping in photosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1187, 1-65.
204. Wettstein, D. (1957). Chlorophyll-letale und submikroskopische formwechsel der plastiden. *Experimental Cell Research*, 12, 427-433.
205. White, P. (2002). Recent advances in fruit development and ripening: an overview. *Journal of Experimental Botany*, 53, 1995-2000.

- 
206. Wilberg, V. C., Rodriguez-Amaya, D. B. (1995). HPLC quantitation of major carotenoids of fresh and processed guava, mango and papaya. *Lebensm. Wiss. Technol.* 28,474-480.
  207. Wing, S.L., Buocher, L.D. (1998). Ecological aspects of the Cretaceous flowering plant radiation. *Annual review of Earth and planetary sciences*, 26, 379-421.
  208. Woodall, A.A., Lee, S.W.-M., Weesie, R.J., Jackson, M.J., Britton, G. (1997). Oxidation of carotenoids by free radicals: relationship between structure and reactivity. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1336, 33-42.
  209. Woodward, J. R. (1972). Physical and chemical changes in developing strawberry fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 23, 465-473.
  210. Wu, C. M., Liou, S. E. (1986). Effect of tissue disruption on volatile constituents of bell peppers. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 34, 770–772.
  211. Zechmeister, L. (1949). Stereoisomeric provitamins A. *Vitamins and Hormones*. 7, 57-81.
  212. Ziegler, R. G. (1991). Vegetables, fruits, and carotenoids and the risk of cancer. *American Journal of Clinical Nutrition*, 53, 251S-259S
  213. Zimmermann, M., Schieberle, P. (2000). Important odorants of sweet bell pepper powder (*Capsicum annuum* cv. *annuum*): differences between samples of Hungarian and Moroccan origin. *European Food Research and Technology*, 211, 175–180.

## KRATKA BIOGRAFIJA



Žarko Kevrešan je rođen 09. 07. 1973. godine u Novom Sadu. Diplomirao je na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Novom Sadu 1997. godine. Zvanje magistra poljoprivrednih nauka je stekao 2000. godine na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Novom Sadu.

Od školske 1997/98. do 2001. godine bio je angažovan na izvođenju vežbi iz predmeta Fiziologija biljaka za studente Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu. Od 1997. do 2000. godine bio je stipendista Ministarstva za nauku i tehnologiju Republike Srbije, a od 2000-2001. godine u okviru programa tržišta rada, za pripremu za samostalan rad u struci, je radio na Poljoprivrednom fakultetu u zvanju asistent-pripravnik.

Od 2001. do 2007. bio je zaposlen na Tehnološkom fakultetu u Zavodu za tehnologiju mesa. U zvanje istraživač-saradnik, za naučnu disciplinu tehnologija proizvodnje i prerade mesa – kontrola kvaliteta, je izabran 2002. godine. 2006. godine reizabran je u zvanje istraživač-saradnik za naučnu disciplinu Kontrola kvaliteta prehrambenih proizvoda.

Od 2007. do danas zaposlen je u Naučnom institutu za prehrambene tehnologije u Novom Sadu.

Autor i koautor je brojnih radova i saopštenja. Govori, čita i piše engleski, služi se ruskim jezikom.

Novi Sad, 1. VIII 2008.

---

Žarko Kevrešan

**UNIVERZITET U NOVOM SADU  
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

**Redni broj:**

RDB

**Identifikacioni broj:**

IBR

**Tip dokumentacije:** Monografska

TD

**Tip zapisa:** Tekstualni štampani materijal

TZ

**Vrsta rada:** Doktorska disertacija

VR

**Autor:** mr Žarko Kevrešan

AU

**Mentor:** Prof. dr Ksenija Kuhajda

MN

**Naslov rada:** Biohemijski aspekti sazrevanja začinske paprike (*Capsicum annum L.*)

NR

**Jezik (i pismo) publikacije:** Srpski (latinica)

JP

**Jezik izvoda:** s / e

JI

**Zemlja publikovanja:** Srbija

ZP

**Uže geografsko područje:** Vojvodina

UGP

**Godina:** 2008.

GO

**Izdavač:** Autorski reprint

IZ

**Mesto i adresa:** Novi Sad, Departman za hemiju, Prirodno-matematički fakultet, Trg Dositeja  
Obradovića 3

MA

**Fizički opis rada:** poglavlja (6); strana (140); tabela (59); slika (71); shema (1), literaturnih  
navoda (213)

FO

**Naučna oblast:** Hemija / Biohemija

NO

**Naučna disciplina:** Hemija prirodnih proizvoda

ND

**Ključne reči:** sazrevanje, paprika, karotenoidi, etarska ulja

KR

**Univerzalna decimalna klasifikacija:**

UDK

**Čuva se:** Biblioteka Departmana za hemiju, PMF, Novi Sad

ČU

**Važna napomena:** Nema

BN

**Izvod:**

IZ

U radu su ispitane biohemijske promene na plodovima paprike tokom sazrevanja plodova i tokom dozrevanja plodova posle branja. U cilju ispitivanja promena tokom sazrevanja plodovi su uzorkovani u različitim fazama zrelosti tj. kad su plodovi bili zelene, braon, crvene i tamno crvene boje. Svaka od pomenutih grupa zrenja je dozrevana sledećih petnaest dana sa i bez prisustva svetla. Posle perioda dozrevanja plodovi su osušeni i samleveni.

U uzorcima svežih plodova paprika ispitan je sadržaj vode, pepela, ukupnih mono i oligosaharida, mikro i makroelemenata, boja plodova (vizuelnom ocenom i instrumentalnim merenjem), sadržaj pigmenata i sastav etarskih ulja, dok je u suvim uzorcima određena boja, sadržaj mikro i makro elemenata, pigmenata i sastav etarskih ulja. U semenima paprika ispitan je sadržaj vode, pepela, ulja i neophodnih mikro i makro elemenata.

Dobijeni rezultati pokazuju da se tokom sazrevanja dešavaju biohemijske promene na plodovima paprika. Povećava se sadržaj suve materije, dolazi do promena u sastavu pigmenata i etarskih ulja. Tokom 15 dana dozrevanja, ispitan parametri plodova paprika pokazuju da se promene na plodovima nastavljaju i posle ubiranja plodova. U zavisnosti od stepena zrelosti, povećava se sadržaj pigmenta, a menja se i sastav etarskih ulja.

**Datum prihvatanja teme od strane NN veća:** 11. 10. 2005.

DP

**Datum odbrane:**

DO

**Članovi komisije:**

KO

**Predsednik:** dr Neda Mimica-Dukić, redovni profesor, Prirodno-matematički fakultet Novi Sad

**Član (mentor):** dr Ksenija Kuhajda, redovni profesor, Prirodno-matematički fakultet Novi Sad

**Član:** dr Mirjana Popsavin, redovni profesor, Prirodno-matematički fakultet Novi Sad

**Član:** dr Biserka Vujičić, redovni profesor, Tehnološki fakultet Novi Sad

**Član:** dr Milan Popović, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet Novi Sad

**UNIVERSITY OF NOVI SAD  
FACULTY OF SCIENCES  
KEY WORDS DOCUMENTATION**

**Accession number:**

ANO

**Identification number:**

INO

**Document type:** Monograph type

DT

**Type of record:** Printed text

TR

**Contents code:** PhD. Thesis

CC

**Author:** Žarko Kevrešan, MSc

AU

**Mentor:** Dr Ksenija Kuhajda, professor

MN

**Title:** Biochemical Aspects of Spice Paprika (*Capsicum anuumm* L.) Ripening

TL

**Language of text:** Serbian

LT

**Language of abstract:** Serbian / English

LA

**Country of publication:** Serbia

CP

**Locality of publication:** Vojvodina

LP

**Publication year:** 2008

PY

**Publisher:** Author's reprint

PU

**Publ. Place:** Novi Sad, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Trg  
Dositeja Obradovića 2

PP

**Physical description:** chapters (6), pages (140), references (213), figures (71), tables (59),  
scheme (1), additional lists (none)

PD

**Scientific field:** Chemistry / Biochemistry

SF

**Scientific discipline:** Chemistry of Natural Products

SD

**Key words:** ripening, paprika, carotenoids, essential oils

KW

**Universal decimal classification:**

UDC

**Holding data:** The Library of Dept of Chemistry, Faculty of Sciences,  
HD University of Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3, 21000 Novi Sad,  
Serbia

**Note:** None

N

**Abstract:**

AB

The aim of this study was to investigate biochemical changes of paprika fruits during ripening and postharvest treatments. Fruits were collected in different stages of development i.e. when green, brown, red and deep red color. Each of these color-type fruits were ripped after harvest (collection) during next fifteen days with or without light. Thereafter, postharvest treatment fruits were dried and milled.

In samples of fresh paprika fruits the content of water, ash, mono- and oligosaharides, micro and macro nutrient, color of fruits (by visual evaluation and instrumental measuring), ASTA value, chlorophyll and carotenoid content, certain constituents of essential oil were determined and activity of peroxidase and  $\beta$ -glucosidase enzymes, while in dried fruits the color, content of micro and macroelements and composition of essential oils were determined. In seed, the content of water, ash, oil and micro and macroelements were determined.

Based on the results it could be concluded that, during ripening, the biochemical changes are occurring on paprika fruits. The increase in dry matter content is observed along with the changes in pigment and essential oil composition. During the postharvest time, all evaluated parameters indicated that ripening is in progress after the harvest of paprika fruits. Changes in both the pigment and the essential oil content is dependent of a ripening stage.

**Accepted by the Scientific Board on:** Nov. 11<sup>th</sup>, 2005.

ASB

**Defended:**

DE

**Thesis defend board:**

DB

**President:** dr Neda Mimica-Dukić, Full Professor, Faculty of Sciences, Novi Sad

**Member (mentor):** dr Ksenija Kuhajda, Full Professor, Faculty of Sciences, Novi Sad

**Member:** dr Mirjana Popsavin, Full Professor, Faculty of Sciences, Novi Sad

**Member:** dr Biserka Vujičić, Full Professor, Faculty of Technology, Novi Sad

**Member:** dr Milan Popović, Full Professor, Faculty of Agriculture, Novi Sad