

Ds-4

MI DUŠAN V. ĆIRIĆ DIPL. INŽ.

DOKTORSKA DISERTACIJA

NOVI SAD, JUNA 1973.

U N I V E R Z I T E T U N O V O M S A D U

- T E H N O L O Š K I F A K U L T E T -

D O K T O R S K A D I S E R T A C I J A

"P R I L O G P O Z N A V A N J U A R O M A T S K I H M A T E R I J A P A P R I K E"

Mr Dušan Ćirić, dipl. inž.

predavač na Tehnološkom fakultetu
u Novom Sadu

Novi Sad, juna 1973.

Zahvaljujem se prof.Dr. Delimiru Sulcu, na sugestijama i pomoći pri izradi ove teze, kao i doc. Dr.Nestoru Kobilarkovu koji mi pomogao svojim sugestijama i omogućio da ponovim neka ispitivanja na gasnom hromatografu PMF-a.

Zahvaljujem se i svojim saradnicima na predmetu Tehnologija prerade voća i povrća koji su mi također pomogli pri izradi ove disertacije.

S a d r Ź a j

Strana

U V O D

I. OPŠTI DEO	4
I.1. PODACI O SIROVINI	5
I.1.1. Poreklo paprike	5
I.1.2. Sistematska klasifikacija paprike	7
I.1.3. Hemijski sastav i biološka vrednost paprike	9
I.1.4. Bojene materije u paprici	15
I.1.5. Specifične materije u paprici	23
I.2. AROMATSKE MATERIJE VOĆA I POVRĆA	24
I.2.1. Stvaranje aromatskih materija u biljnim plodovima	23
I.2.2. Podela aromatskih jedinjenja voća i povrća	31
I.2.3. Ponašanje aromatskih materija	37
I.3. ODREĐIVANJE AROMATSKIH MATERIJIA	41
I.3.1. Senzorne ocenjivanje arome	41
I.3.2. Analiza arome tankoslojnom hromatografijom	42
I.3.3. Analiza arome kolonskom hromatografijom	43
I.3.4. Analiza arome gasnom hromatografijom	45

II.

II. EKSPERIMENTALNI DEO	72
II.1. IZBOR MATERIJALA I METODIKA RADA	73
II.1.1. Izbor materijala za ispitivanje	73
II.1.2. Priprema materijala za ispitivanje	74
II.1.3. Dearomatizacija kaše od paprike	75
II.1.3.1. Dearomatizacija kaše destilacijom sa vodenom parom	77
II.1.3.2. Dearomatizacija kaše pod vakuumom u inertnom gasu	78
II.1.4. Ekstrakcija aromatskog kondenzata	83
II.1.5. Izdvajanje rastvarača i koncentrisanje aromatskih materija	88
II.1.6. Primenjene analitičke metode	93
II.1.7. Razdvajanje arome paprike po hemijskim grupama	97
II.1.8. Razdvajanje arome na frakcije	99
II.2. PRIKAZ DOBIJENIH REZULTATA	101
II.2.1. Rezultati hemijske analize	101
II.2.2. Ispitivanje aromatskih materija paprike	103
II.2.3. Dearomatizacija pod vakuumom u struji inertnog gasa i parom	105
II.2.4. Dinamika oslobađanja aromatskih materija iz kaše paprike vakuum, dearomatizacijom u inertnom gasu	112
II.2.5. Aromatičnost paprike zavisno od sorte	127

III.

II.2.6. Aromatičnost pojedinih delova ploda paprike	135
II.2.7. Uticaj klimatskih uslova na ukupnu aromu paprike	143
II.2.8. Odredjivanje ukupne arome u paprici	156
II.2.9. Hromatografsko odredjivanje hemijskih grupa u aromi paprike	167
II.2.10. Odredjivanje aromatskih frakcija ukupne arome	202
II.3. SENZORNO ODREDJIVANJE AROMATSKIH MATERIJA PAPRIKE	213
III. DISKUSIJA REZULTATA	216
IV. Z A K L J U Č A K	230
V. SPISAK LITERATURE	249

U V O D

Paprika (*Capsicum annum* L.) je povrće koje se mnogo uzgaja u Jugoslaviji. Površine pod ovom vrstom povrća svake se godine povećavaju zbog toga što, pored velikog značaja u ishrani, paprika ima i veliki značaj u međunarodnoj trgovini.

Površine pod paprikom u 1971. godini iznosile su cca 38.001 ha sa prinosom od 66.500 tona, na teritoriji SFR Jugoslavije.

Značajno mesto u proizvodnji ima industrijska paprika namenjena proizvodnji mlevene začinske paprike. Ukupna godišnja proizvodnja sveže začinske paprike iznosila je u 1972. godini cca 44.090 tona u Jugoslaviji. Kada se ovim količinama doda i proizvodnja ostalih sorti paprika namenjenih preradi i potrošnji u svežem stanju, onda je povećanje po površinama po bruto proizvodnji višestruko.

Ovakvo naglo povećanje površina pod ovom vrstom povrća predstavlja i povećanje neto dohotka koji se dobija po hektaru ove kulture u odnosu na ostalu biljnu proizvodnju.

Vojvodina je takodje značajan proizvođač paprike s obzirom na povoljne klimatske i zemljišne uslove. Izgradnja irigacionog sistema za navodnjavanje neizbežno je dovela do naglog povećanja površina pod povrćem, u prvom redu pod paprikom, zbog izrazito povećane potražnje na domaćem i

stranom tržištu. Površine pod paprikom su u ovoj Pokrajini samo 1972. godine iznosile 7.900 ha, od čega pod povrtarskim 4.400 ha, i začinskom 3.500 ha. Prinosi povrtarske paprike su bili 52.699 tona, od čega je izvezeno na strana tržišta cca 3.200 tona. Od proizvedenih 44.090 tona začinske paprike proizvedeno je u 1972. godini 4.409 tona mlevene paprike, od koje je cca 50% izvezeno na strana tržišta.

Prethodno navedeni podaci dovoljno ilustruju značaj ove vrste povrća u proizvodnji i u ishrani jer se paprika koristi i kao hrana i kao začim tj. salata.

I pored ovako velikog značaja koje paprika ima u nacionalnoj privredi i u međunarodnoj razmeni dobara, ne poklanja se veća pažnja proučavanju i unapredjenju njene proizvodnje i prerade.

Za sada ne postoji ni sistematska klasifikacija paprike kao vrste i sorte. Razni autori su dali različitu sistematsku klasifikaciju vrste, podvrste, sorte i populacije.

Ne postoji nikakva klasifikacija sorti po tehnološkoj nameni, što je od primarnog značaja, nego samo po obliku i izgledu plodova, što nije od značaja za tehnologiju prerade. Neki autori začinsku papriku nazivaju industrijska, što datira iz vremena kada se ona samo industrijski preradjivala. Ostale sorte nazivaju baštenskim jer su se uzgajale samo po baštama, ili povrtarskim jer se njihovo proučavanje obavlja u povrtarstvu. U ovom radu data je takodje jedna proizvoljna podela na sorte za proizvodnju začinske mlevene paprike i

sorte za konzurnu potrošnju i preradu u razne proizvode od paprike. Ova klasifikacija sorti je prema tehnološkoj nameni, pa je sa tog stanovišta i prihvatljiva.

U stručnoj literaturi ima dosta proučavanja hemijskog sastava plodova paprike bez obzira na njihovu namenu. Izučavanja bojenih materija dosta su retka, dok su istraživanja vezana za aromatičnost veoma retka. U pristupačnoj literaturi zabeležena su samo dva rada (46 i 49) koja se odnose na gasnohromatografsko ispitivanje arome cvetne višegodišnje paprike i zelene zvonaste paprike nepoznate sorte.

S obzirom na značaj aromatskih materija u paprici i tehnologiji prerade paprike, kod proizvodnje raznih začina, i kod prerade u razne proizvode i potrošnju u svežem stanju, bilo je važno od naučnog i industrijskog značaja izvršiti istraživanja aromatskih materija u različitim sortama paprika, iz obe grupe tehnološke namene a u stadijumu pune tehnološke zrelosti, kada su plodovi izrazito crvene boje tj. u onom stadijumu zrelosti kada se najviše koriste za preradu.

Cilj ove teze je da prouči mogućnost ispitivanja aromatskih materija u paprici metodom gasne hromatografije i tankoslojne hromatografije i da prilog boljem poznavanju ove za sada dovoljno neproučene problematike.

I. O P Š T I D E O

I.1. PODACI O SIROVINI

I.1.1. Porcklo paprike - Capsicum Annum L.

Do danas ne postoji prihvaćeno mišljenje o poreklu paprike. Po nekim autorima (1) paprika potiče iz Južne Amerike i to iz Brazila i severnih zemalja Južne Amerike. Popova i saradnici (2) smatraju da paprika potiče iz Centralne Amerike, Meksika, Gvatemale i Tihookeanskih ostrva.

Neki istraživači tvrde da je jedino moguće da paprika potiče iz Severne Amerike i to Južnog Meksika, predeo Antila (3).

Postoji izvesna indicija da paprika potiče iz Azije (4) i to iz zapadnog dela Indije. Kao potvrdu takvom tvrdjenju navode da su kod cara Nerona pronađene slike paprike pod nazivom Piper longum i Rotunda, što nedvosmisleno odgovara današnjem nazivu ove vrste povrća na jeziku raznih naroda. Lekar Kolumbo u svojim zapisima pominje začim koji je ljući od bibera.

Prvi opis paprike datira iz 1526. godine. Gonzalo de Ovideo "Sumario de la natural y general historia de las Indias" (5), daje detaljne podatke o ovoj vrsti povrća. Livingstone piše da u Kongu od pamtiveka gaje papriku, ali ne za jelo nego za trovanje vrhova strela (4) što ukazuje na činjenicu da mesto porekla paprike može biti i Afrika.

Otkrićem Amerike paprika je prenetu u Evropu, gde se u XVI veku uzgoj naglo raširio u svim evropskim zemljama.

Paprika je u početku gajena u baštama kao ukrasna biljka (16), zatim kao povrće za jelo i začim.

U Meksiku i na Antilima pronađeni su ostaci iz kojih se vidi da je u ovim krajevima paprika gajena još pre 2000 godina, kao lek protiv tropske malarije "mandron".

Najverovatnije je da je ovo povrće u Jugoslaviju doneto iz Male Azije, preko Turske i Bugarske, odakle je preneto u našu zemlju i tu se uzgoj postepeno širio od istoka prema zapadu.

Paprika se gaji kao jednogodišnja biljka ili višegodišnja kultura, zavisno od klimatskih uslova i regiona. Kod nas je rasprostranjena samo jednogodišnja paprika, jer to klimatski uslovi diktiraju. Uspeva u svim zonama naše zemlje gde su srednje dnevne temperature za vreme vegetacione periode iznad 15°C.

U Jugoslaviji se uzgajaju razni tipovi paprike, kako za proizvodnju začina, tako i za potrošnju u svežem stanju i preradu u razne proizvode od paprike. Prevagu nosi uglavnom slatka paprika, bez obzira na namenu. Učešće ove vrste povrća u nacionalnoj privredi je dosta veliko. Ilustracije radi samo se začinska paprika za proizvodnju mlevene paprike uzgaja na površini od cca 15.000 kat. jutara, što čini jedva deseti deo od ukupne površine pod ovom poljoprivrednom kulturom.

U nacionalnoj privredi zemlje ovo povrće ima veliki značaj, kako za ishranu naroda, tako i u medjunarodnoj trgovini, jer se pored izvoza u svežem stanju izvoze i razni

proizvodi od paprike i začini od paprike, što svakako čini veliki devizni efekat.

I.1.2. Sistematska klasifikacija paprike

Prema različitim istraživačima stvorene su i opisane razne sistematske grupe i podgrupe paprika. Za sve sistematske klasifikacije uzeta je za osnov morfološko-fiziološka osobina ove vrste. Tehnološka svojstva su potpuno zanostavljena mada su od primarnog značaja, s obzirom na upotrebnost ovog povrća.

Za sada još uvek ne postoji usaglašena sistematska klasifikacija pojedinih grupa i podgrupa prema tehnološkoj upotrebljivosti pojedinih sorti paprike. Prema upotrebnoj vrednosti sve uzgajane sorte paprika mogu se uslovno podeliti u dve grupe:

a) Industrijske sorte za proizvodnju mlevene paprike i začina.

b) Sorte paprike namenjene za konzumnu potrošnju i industrijsku preradu u razne proizvode od paprike.

Ovakva podela prema upotrebno-tehnološkoj vrednosti je gruba i neprecizna. Potrebno je sve uzgajane sorte paprike dobro proučiti i na temelju takvog saznanja dati im detaljniju tehnološku klasifikaciju. Najnoviju sistematizaciju za papriku dao je Soo (7), koji je ove povrće svrstao:

- Spermatophyta (biljke sa semenom)
- XIV Odeljak: Angiosperme (skrivenosemenice)
- A. Klasa: Dicotyledones (dva klicina listića)
- 2. Red: Malvales - Tubiflorae
- XIV. Podred: Persontae
- 1. Familija: Solonacea
- Red: Capsicum
- Vrsta: annum
- Varietet: Longum
- Convariete: Longum, macrocarpum, microcarpum i fasciculatum

D. Hristov i A. Naičo (16) izvršili su podelu jednogodišnje paprike prema obliku i krupnoći plodova, na:

- Krupnoplodna paprika (*Capsicum annum* L. subsp. *macrocarpum*)
- Sitnoplodna paprika (*Capsicum annum* L. subsp. *microcarpum*)
- Buketna paprika (*Capsicum annum* L. subsp. *fasciculatum*)

Ovo nije precizna sistematska podela pošto za osnovu uzima oblik i krupnoću plodova ili izgled cveta, tj. raspored plodova na biljci. Ovakva podela ima značaja kada se ceniti upotrebna vrednost ovog povrća, jer se za konzumnu potrošnju i proizvodnju raznih proizvoda i začina koristi uglavnom paprika iz grupe krupnoplodnih sorti paprika. Iz ove grupe uzete su i sorte paprika koje su ispitivane u ovom radu i to:

- Grupa širokih plodova (*Capsicum annuum* L. macrocarpum, var. *grosu*m, sorta Rotunda zelena)

- Grupa dugih plodova (*Capsicum annuum* L. var. *longu*m, sorta Horgoška slatka I.).

I.1.3. Hemijski sastav i biološka vrednost paprike

Plod paprike čini više stotina jedinjenja u dosta promenljivim količinama. Od značaja su ona jedinjenja koja ovoj vrsti povrća daju karakteristične osobine po kojima se razlikuju od ostalih vrsta. Karakteristični sastojci u plodovima paprika u prvom redu su ukus i miris, po kojima se razlikuju od ostalog povrća, zatim boja, ulje, ugljeni hidrati, belančevine, celulozne materije, mineralne materije i organske kiseline kojih ima i kod drugih vrsta.

Radi bolje ilustracije uloge i značaja ove vrste povrća daće se kratak prikaz pojedinih sastojaka u najglavnijim crtama.

Ugljeni hidrati

Od ugljenih hidrata prevažu svakako čine razne vrste šećera iz reda mono i disaharida, koji su značajni sa prehrambene tačke gledišta. Od ukupnog sadržaja monosaharida groždjani šećer čini cca 90-98%, a ostali deo otpada na fruktozu ili saharozu. Ovakav je sastav ugljenih hidrata kod industrijskih sorti paprika namenjenih proizvodnji mlevene začinske

paprike. Kod drugih sorti paprike odnosi su drugačiji, jer prevagu od monosaharida čini fruktoza, zatim glukoza, dok saharoza sazrevanjem skoro iščezava.

Odmah posle šećera po količini monosaharida dolazi celuloza koje ima 10-18% od suve materije sirovine. Uloga joj je da daje mehaničku čvrstoću i učestvuje u izgradnji biljnih ćelija. Kod ishrane ima uglavnom laksativnu ulogu i pomaže pravilno varenje hrane.

Skroba ima veoma malo i to uglavnom u zelenim plodovima. Sazrevanjem skoro iščezava ili ga ima samo u tragovima.

Stalni pratilac celuloze u biljnom materijalu su pektinske materije, kojih ima i u plodovima paprike. Ove materije se nalaze u medjulamenarnom prostoru biljnih ćelija i u ćelijskim membranama. Nastaju razgradnjom celuloznih materija u protopektin, koji hidrolizom prelazi u pektine. Dejstvom enzima protopektinaze, protopektin se hidrolitički cepa i oslobadja u vodi rastvorljive pektinske materije. U hemijskom pogledu pektini su metilni estri poligalakturonske kiseline visokog stepena polimerizacije i esterifikacije. Potpuno deesterifikovani pektini prelaze u pektinsku kiselinu koja je nerastvorljiva u vodi. U vodi rastvorljivi pektini bubre, povećavaju turgor biljnih ćelija koji daje odgovarajuću čvrstoću plodovima. Plodovi paprika sadrže srazmerno malu količinu pektinskih materija, koja se kreće u granicama 0,17 - 0,30% kod sveže sirovine ili 12 - 6% računato na suhu materiju svežih plodova. Pektinske materije u biljnom materijalu imaju ulogu termoregulacije, tj. regulišu vodeni režim u biljnoj ćeliji. Ove

materije imaju značaj i za aromatske materije, zbog čega ih i pominjemo, jer je poznato da one imaju zaštitnu ulogu i pozitivno deluju na održivost aromatskih materija, kako u biljnom materijalu, tako i u preradjevinama od voća i povrća.

Organske kiseline

Plodovi paprika su relativno siromašni u organskim kiselinama. Od ukupnih kiselina prevagu čini jabučna kiselina, zatim dolazi limunska, dok se druge organske kiseline nalaze u tragovima. Zbog izrazito male kiselosti 0,12 - 0,21% kod usitnjavanja plodova dolazi naglo do tamnjenja.

Belančevine (N-materije)

Upoređjena sa drugim vrstama povrća paprika je bogatija u azotnim materijama (belančevine, amino-kiseline, razni peptidi itd.). Seme paprika sadrži najviše azotnih materija, cca 18%, dok mesnati delovi plodova imaju znatno manje azotnih materija, cca 10-15%, računato na suhu materiju.

Azotne materije u paprici sadrže skoro sve amino kiseline neophodne za održavanje životnih uslova, što ovom povrću daje veoma važnu fiziološku vrednost.

Biljna ulja (Lipidi)

Po sadržaju biljnog ulja najbogatije je seme paprike, 20-30%, zatim u perikarpu 4-6%, u žilicama-nervaturi 5-6%, dok su peteljka i zeleni delovi ploda najsiromašniji

biljnim uljima, 0,6 - 0,8%. Ulje iz semena se znatno razlikuje po sastavu masnih kiselina od ulja dobijenog iz perikarpa, jer je zlatno-žute boje, slabije aromatično, sa manje nezasićenih masnih kiselina. Ulje dobijeno iz jestivog dela paprike ima dosta nezasićenih masnih kiselina, 90-95% i veoma malo zasićenih masnih kiselina.

Iz radova (9), vidi se da ulje dobijeno iz plodova ispitivane paprike sadrži sledeće masne kiseline: od 12 razdvojenih kiselina identifikovane su laurinska, palmitinska, palmitoleinska, stearinska, oleinska, linolna, linolinska i arahinska.

Naznačeni masnokiselinski sastav ulja iz paprike dovoljno ilustruje kvalitet ulja ove vrste povrća. Pored značaja u ishrani, ulja u paprici imaju veoma važnu ulogu kao rastvarači bojenih materija, prvenstveno karotina.

Mineralne materije

Mineralni sastav ovog povrća je od velikog značaja, pogotovo zbog toga što se ova vrsta povrća veoma mnogo troši u svežem stanju. Od mineralnih materija po redosledu dolaze: kalijum, natrijum, kalcijum, fosfor, magnezijum, gvoždje, aluminijum, hlor, sumpor i dr. Ovako bogat i raznolik sastav mineralnih materija, pogotovo katjona i nekih anjona, ukazuje na veliku fiziološku vrednost ovog povrća u ishrani naroda.

Po bogatstvu mineralnih materija seme ih ima najviše, zatim dolaze produžeci semene lože, nervatura, pa

placenta. Jestivi delovi plodova sadrže 5-6% mineralnih materija računato na suhu materiju. Od značaja je i to da pojedini elementi ulaze u sastav fermenata koji katalitički deluju na čitav niz hemijskih reakcija u organizmu.

Vitaminske materije

Visok sadržaj beta karotina i kriptoksantina u paprici je dragoceni izvor vitamina A. Pored toga plodovi paprike su izrazito bogati askorbinskom kiselinom (vitamin C), koje ima mnogo više nego u plodovima limuna koji se ubraja u voće bogato vitaminom C. U svežim plodovima paprike ima i do 400 mg/100 g askorbinske kiseline, što nije slučaj ni sa jednom vrstom voća. Pored vitamina C u plodovima paprike se nalaze vitamini B₁, B₂, pantotenska kiselina, vitamin E, niacin, amid nikotinske kiseline, vitamin p i dr. u tragovima.

D.A. Slepah je proučavao raspored vitamina C u pojedinim delovima ploda (10) i konstatovao da ga najviše ima u semenoj loži, zatim u zelenom delu ploda, pa u jestivom delu ploda - placenti. L.V. Milovanova (11) u svojim radovima navodi da za vreme sazrevanja količina vitamina C u plodovima raste, tako da u fiziološkoj zrelosti dostiže maksimum. Prezrevanjem i kraćim stajanjem količina vitamina C sporije opada, što nije slučaj sa drugim vrstama voća i povrća kod kojih je ovaj pad i smanjenje vitamina C naglo. Vitamin P se nalazi u crvenim plodovima. Izvor mu je Rutin, koji ima osobine vitamina P. Po istraživanjima G. Skarbora (12) u crvenim plodovima ima 300-400 mg% vitamina P.

Fiziološko dejstvo Rutina je u regulaciji krvnog pritiska. Kod uzimanja zajedno sa vitaminom C postiže se maksimalan efekat. S obzirom da su plodovi paprike bogati ovim vitaminima, za pravilnu regulaciju krvnog pritiska dovoljno je da odrasla osoba dnevno uzima samo po 12 mg rutina, što se postiže konzumiranjem veoma malih količina sveže paprike (crvene). Veruje se da vitamin P ima ulogu i kod očuvanja prirodnog vitamina C u plodovima paprike, što je verovatno razlog da se količina askorbinske kiseline stajanjem plodova paprike sporije smanjuje u odnosu na druge plodove voća i povrća. Vitamini iz grupe B (aneurin B_1 i riboflavin B_2) po nekim istraživačima (13) nadjeni su u plodovima paprike od 30-60mg%, što je takodje veoma značajno.

Vitamin E - tokoferoli u plodovima paprike direktno su vezani za stepen zrelosti i sortu. Po bogatstvu u tokoferolima sorte začinske paprike su bogatije, 1-8mg%, dok ga u drugim sortama ima manje. Crveni plodovi imaju mnogo više tokoferola od zelenih plodova. Dozrevanjem plodova količina tokoferola se povećava paralelno sa količinom ulja u plodovima. Seme i klicini začeci imaju najviše tokoferola, dok ih u mesnatom jestivom delu ima manje. Rastvorljivi su u ulju, antioksidansi su, zbog čega i postoji izvesna zavisnost između količine tokoferola u stabilnosti ulja.

Ostali vitamini nalaze se u tragovima te nemaju posebnog fiziološkog značaja za ovu vrstu povrća.

I.1.4. Bojene materije paprike

Opšte osobine i biosinteza bojenih materija

Najkarakterističnija osobina zrele paprike je njena intenzivno crvena boja u svetlijim i tamnijim nijansama. Dozrevanjem plodova obojenost se povećava. Najizraženija obojenost je u stadijumu pune zrelosti. Obojene materije u plodovima su u minimalnim količinama, raznovrsnih i veoma složenih hemijskih osobina. Kvalitet mnogih proizvoda od paprike ceni se po stepenu obojenosti.

Prirodno obojene materije koje daju boju plodovima voća i povrća mogu se podeliti na dve grupe:

1. Nerastvorljivi plastidni pigmenti, vezani su na plazmatičnu strukturu ćelija, nalaze se u hloro i hromoplastima, nerastvorljivi su u vodi i ćelijskom soku. U ovu grupu obojenih materija spadaju hlorofil i razni karotinoidi, kojih uglavnom ima najviše u plodovima paprika u toku različitih faza formiranja i zrelosti plodova.

2. Rastvorljivi obojeni biljni pigmenti se nalaze u vakuolama ćelija, dezintegracijom ćelijske strukture prelaze u sok pošto su rastvorljivi u vodi i ćelijskom soku. U ovu grupu pigmenata spadaju flavanoli, flavoni, antocijani i dr. Ovih bojenih pigmenata ima znatno manje u plodovima paprike.

Hlorofil daje razne nijanse zelene boje plodovima. Spada u hromoproteide čiju obojenu komponentu čini porfirinski prsten, sa magnezijumom u centru prstena. Uloga magnezijuma je

da čini vezu sa proteinima. Sazrevanjem plodova paprika hlorofil dejstvom encima hlorofilaze prelazi u bezbojni fitol, što se manifestuje beličasto-žučkastom bojom plodova paprika.

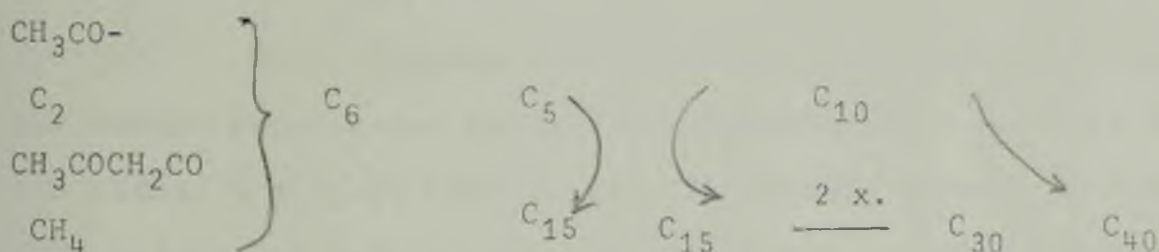
Karotinoidima se nazivaju grupe, u vodi nerastvorljivih žuto-crvenih obojenih pigmenata, koji se nalaze u životinjskom i biljnom svetu. Ova jedinjenja čine izoprenske grupe. Ima ih osam u proseku, s tim što su dve metilne grupe u sredini molekula povezane u položaju 1:6, dok su dve bočne metilne grupe u položaju 1:5, u odnosu na centralne. Prema tome karotinoidi su alifatična jedinjenja, čiji hromoforni sistem sadrži brojne konjugovane duple veze; to su zapravo polien boje. Nazivaju ih još i "likopini" jer se rastvaraju u lipidima i rastvaračima masti.

U vodi se rastvaraju samo oni karotinoidi koji na svojim kiselinskim grupama (karboksil ili enol) stvaraju u rastvoru vode alkalne soli, koje su u vodi rastvorljive, ili sa šećerima stvaraju etarske veze koje im daju licfilne osobine. Inače su karotinoidi u drugim slučajevima nerastvorljivi u vodi.

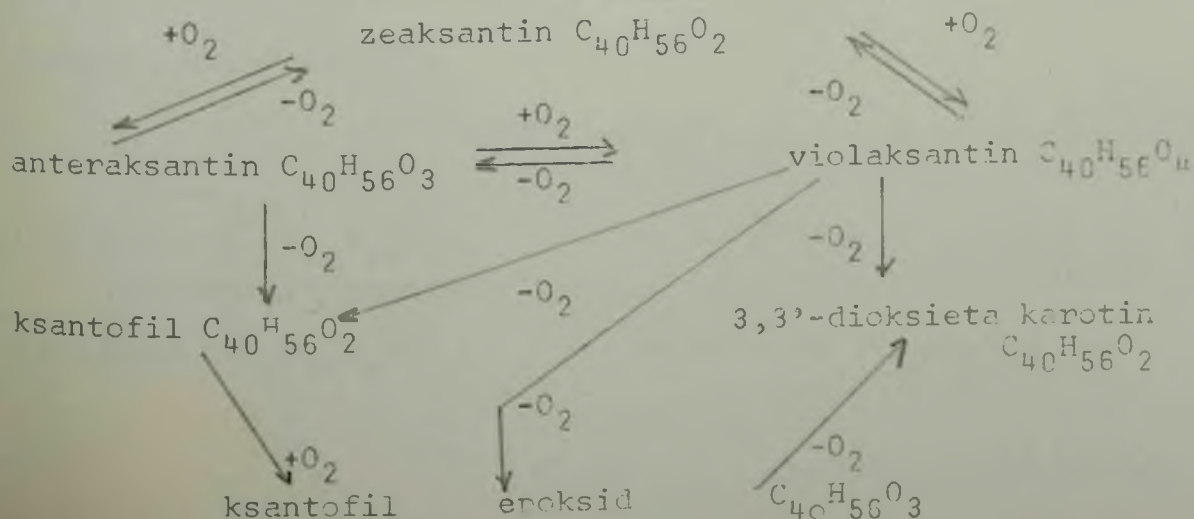
Biljni karotinoidi se nalaze uglavnom u rastvorenom obliku u lipidima ćelija. Životinjski organizmi unesene karotinoide delimično izlučuju, delimično ih deponuju u masnim tkivima i nervima. Jedan deo karotinoida (alfa i beta karotini) kao biološki važne supstance, karotinazom iz jetre pretvaraju u vitamin A.

Ispitivanjem strukture karotinoida ustanovljeno je da su oni sastavljeni od izoprenskih ostataka, kao i terpeni,

seskviterpeni, diterpeni od 2, 3, 4 izoprenska ostatka i 40C-atomni karotinoidi. Izopreni su nezasićena razgranata 5 C-atomska jedinjenja, koja u prirodi ne postoje. Prekursori karotinoida moraju imati pet ugljenikovih atoma, tj. to su jedinjenja sa pet ugljenikovih atoma. Ispitivanjem sa C^{14} , ustanovljeno je (14) da acetate mogu da koriste biljni i životinjski organizmi, pa se pretpostavlja da na sledeći način nastaju jedinjenja sa 5 C-atoma, koja u daljoj transformaciji daju jedinjenja sa 40 C-atoma.



Analizom plodova paprike, zelene i zrele, kao sadržinu karotina, ustanovljeno je da je količina karotinoida u listu za 65 puta veća od količine karotinoida u zelenim plodovima. Na osnovu ovih saznanja Cholnoky i sar. (22) postavili su sledeću: hipotetičnu šemu o ulozi karotinoida kao prenosioca kiseonika.

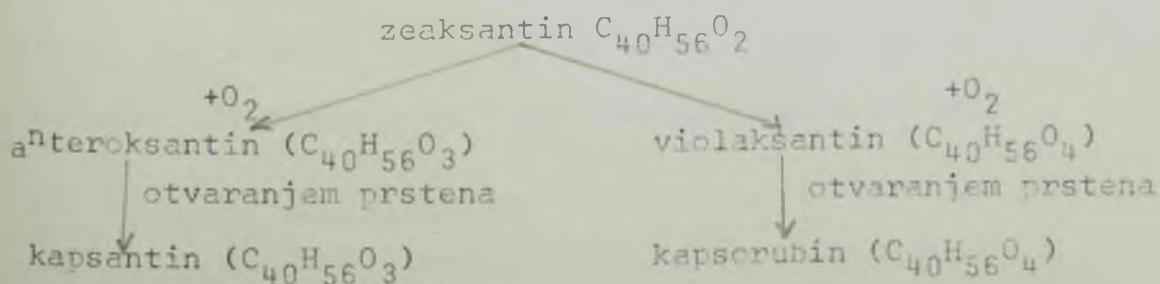


U zelenim plodovima i listu paprike asimilacijom se stvara beta-karotin i zeaksantin, koji prijemom kiseonika prelazi u epokside. Epoksidi zatim predaju kiseonik i prelaze u alfa-karotin i ksantofil. Stvoreni zeaksantin je prenosilac kiseonika, pri čemu se troši i prelazi u anteroksantin koji u daljem prenošenju kiseonika prelazi u ksantofil (15).

Osnovna linija za prenošenje kiseonika je zeaksantin --- anteroksantin --- ksantofil. Ovde je beta-karotin samo rezerva. Prva pomoćna linija za prenos kiseonika je beta-karotin --- beta-karotin-epoksid --- alfa-karotin.

Druga pomoćna linija za prenošenje kiseonika je beta-kriptoksantin --- beta-kriptoksantineroksid --- alfa kriptoksantin. U slučaju bilo kakvih fizioloških poremećaja koji onemogućavaju prenos kiseonika, uspostavlja se prva pomoćna ili druga pomoćna linija prenosa kiseonika.

Sazrevanjem plodova količina karotinoida se naglo povećava što čini glavne kvalitativne promene, tako da u zre- lim plodovima ima samo beta-strukturnih jedinjenja, njihovih epoksida, furanoida i poli-oksiketona. Alfa-strukturnih jedi- njenja ima samo u tragovima. Otvaranjem jonovog prstena dolazi do delimične transformacije u polioksi-ketone (kapsantin, kapsarubin, kriptoksantin i dr.).



U zrelih plodovima paprika ima najviše kapsantina, zatim kapsorubina koji nastaju iz zeaksantina što ukazuje da prenos kiseonika ide glavnom linijom. Onog momenta kada anteroxantin i violaksantin ne mogu više da prenose kiseonik dolazi do otvaranja prstena i sinteze kapsantina i kapsorubina. Crvena boja plodova paprike potiče od kapsantina i kapsorubina, dok ostali karotinoidi samo nijansiraju intenzitet ove crvene boje.

Proučavanja F. Chmelar-a (16) karotinoida u paprici pokazala su da plodovi paprike sadrže: kapsantin, karotina, kapsorubin, kriptoksantin, zeaksantin, ksantofil i dr. u tragovima.

Karotenoidi u paprici

Od svih bojenih materija koje čine plodove u punoj zrelosti crvenim, od posebnog značaja su karotenoidi.

Beta-karoten je sastavljen od dva beta-jononova prstena (sl. 1), kristališe u žute kristale, koji se rastvaraju u benzinu, veoma malo u metanolu. Dejstvom encima karotenaze prelazi u dva molekula vitamina A-akseroftol. Pored toga što je vitamin, on ima ulogu i kod fotosinteze kao apsorber svetlosne energije (područje plave svetlosti) koju predaje hlorofilu, dok kiseonik prenosi na druga jedinjenja. U plodovima paprike od ukupne boje beta-karoten čini 8 do 14%.

Kriptoksantin je derivat beta-karotena, kristališe takodje u žutim kristalima koji se dobro rastvaraju u

hloroformu i benzolu, manje u petroletru i metanolu (sl. 1).
Od ukupne boje kriptoksantin čini 8 do 5%.

Zeaksantin-a ima dosta u zrnu kukuruza. Kristališe u žutim kristalima pločastog oblika. Dobro se rastvara u benzolu, manje u metanolu. Zeaksantin je osnovni prenosnik kiseonika kod fotosinteze. U plodovima paprike od ukupne boje ima ga 8-10% (sl. 1).

Anteraksantin (zeaksantin 2 mono-epoksid) (sl. 1), kristališe u žutim kristalima. Rastvara se u benzolu, slabije u alkoholu.

Violaksantin (zeaksantin-di-epoksid) (sl. 1), kristališe u žutim kristalima. Rastvara se u ugljendisulfidu, hlороformu, benzinu, slabije u petroletru i alkoholu.

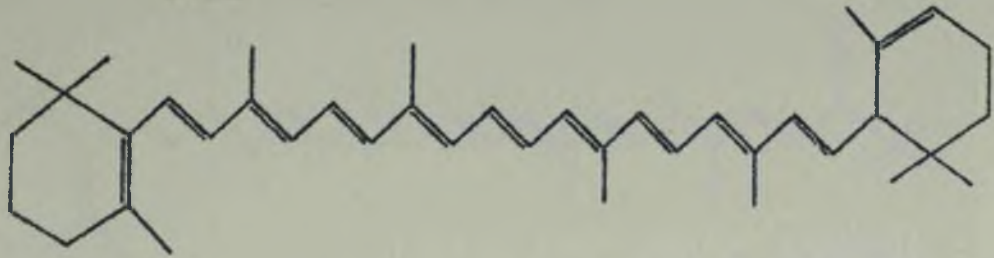
Alfa-karotin kristališe u violetnim kuglicama. Rastvara se u benzinu bolje od beta-karotina, dok je u alkoholima manje rastvorljiv.

Ksantofil (3,3' dihidroksi alfa-karotin) kristališe violetno, metalnog sjaja. Rastvara se u hlороformu, benzolu, acetonu, slabije u metanolu dok je u petroletru nerastvorljiv.

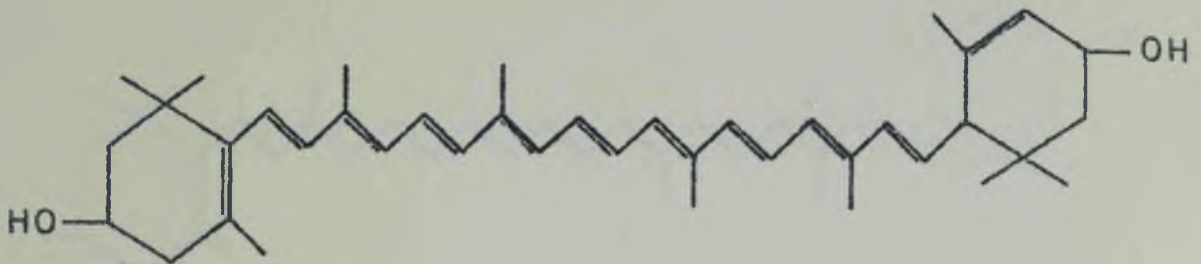
Ksantofilepoksid kristališe violetno-crveno. Rastvara se u benzolu, hlороformu, acetonu, metanolu i alkoholima.

Kapsantin kristališe tamno-crveno. Rastvara se u etru, hlороformu, ne rastvara se u petroletru.

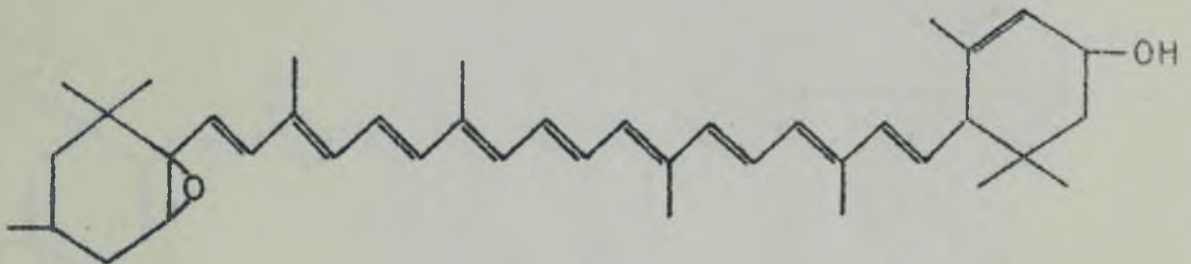
Kapsorubin se rastvara u toplom alkoholu i acetonu, teže se rastvara u etru, benzolu, ugljendisulfidu, dok je u petroletru nerastvorljiv. Naknadnim dozrevanjem plodova paprike količina se naglo povećava.



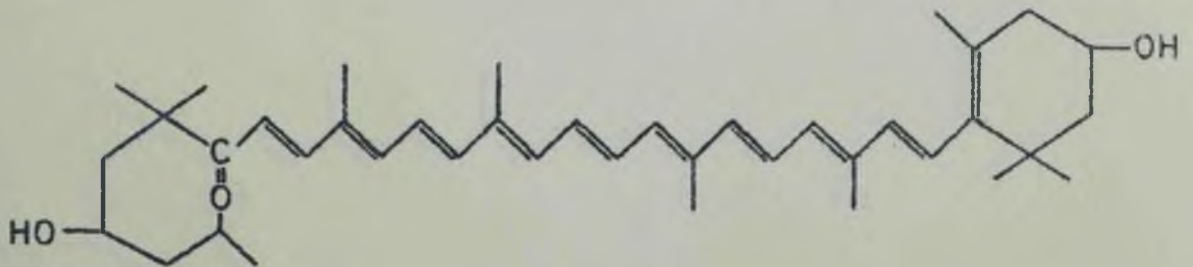
LUTEIN



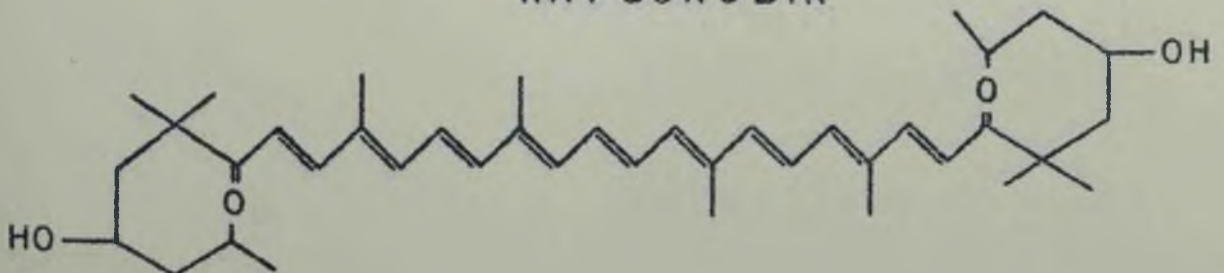
K SANTOFILEPOXID

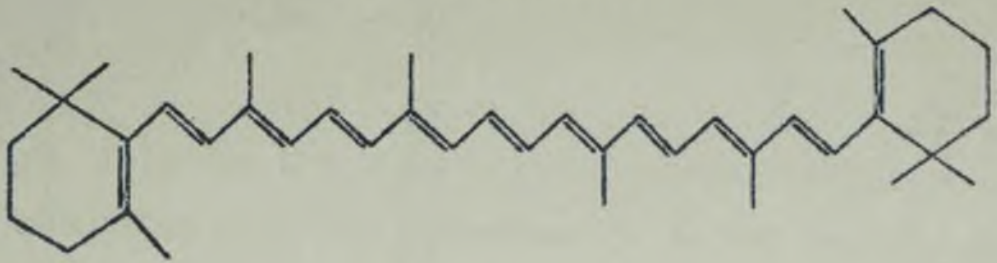


K A P S A N T I N

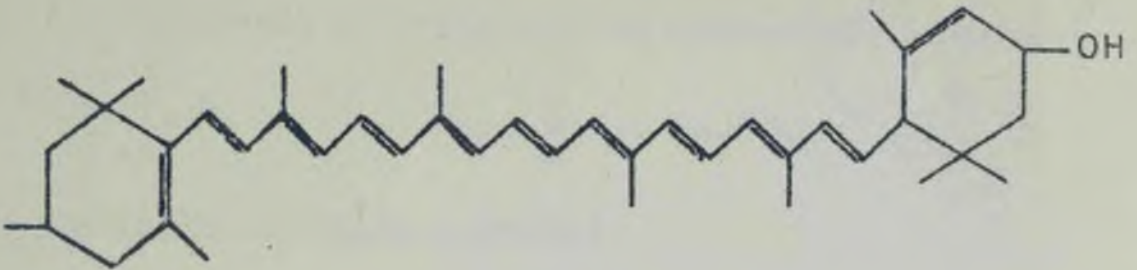


K A P S O R U B I N

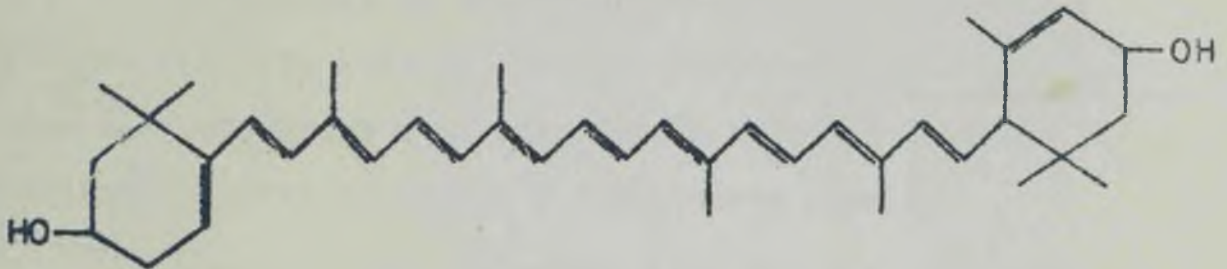




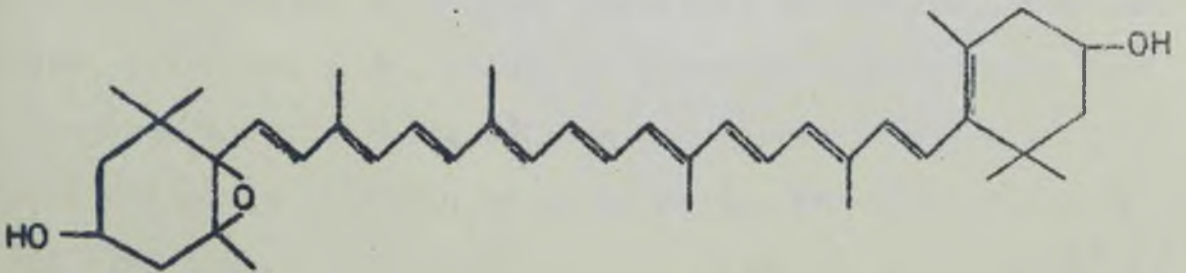
KRIPTOXANTIN



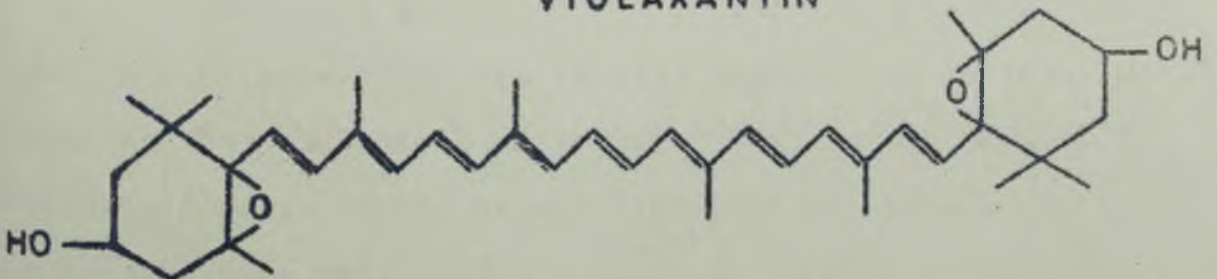
ZEAXANTIN



ANTERAXANTIN



VIOLAXANTIN



Količina karotinoida ima direktnog uticaja na količinu aromatskih materija. Primećeno je da kod zrelijih plodova ima više aromatskih materija, kako u kvalitativnom, tako i u kvantitativnom pogledu. Zbog toga je u ovom radu dat detaljniji opis bojenih materija koje su zastupljene u plodovima paprike.

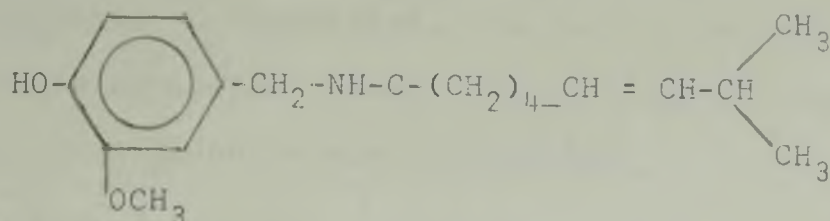
I.1.5. Specifične materije u paprici

Za razliku od drugih vrsta povrća, paprika ima specifičnu materiju koja učestvuje u formiranju ukusa, pa prema tome i arome. Prema ovoj specifičnoj materiji izvršena je klasifikacija sorti na slatke i ljute sorte paprike.

Kapsaicin je specifična materija koja daje ljutinu plodovima paprike. Stacioniran je samo u žilicama koje ovičavaju rubove kojima su plodovi podeljeni na uzdužne polovine, trećine, četvrtine i dr. Nalazi se u specijalnim ćelijama koje su ugrađene između tkiva žilica. Ove ćelije lako prskaju, raspršujući svoju sadržinu po celom plodu, što daje utisak da je ceo plod ljut.

Bucholz i Bracinn (17) su 1816. godine pokušali da dobiju čist kapsaicin, što im nije uspelo. Tek je 1898. godine Micko (18) izdvojio kapsaicin i dao mu brutoformulu. Strukturnu formulu dao je Nelson (19), dok je sintezu kapsaicina prvi izvršio Spät (20).

K a p s a i c i n



Kapsaicin je vinilamid-decilenske kiseline. Kristalna bezbojna materija, tačke topljenja 64-65°C, izrazito ljutog ukusa i kod razredjenja 1:2 000 000. Slabije se rastvara u toploj vodi, dok se u alkalnoj vodi, acetonu, etru i benzolu dobro rastvara. Klinički je ustanovljeno da je štetan kod oštećene sluzokože crevnog trakta. U veoma malim količinama kod zdravih osoba draži sluzokožu creva i pospešava varenje hrane.

U dodiru kapsaicin na koži izaziva osećaj toplote, što podstiče bolju cirkulaciju krvi ispod epitelnog sloja kože. Na osnovu ovoga je Issekute (29) ispitao uticaj kapsaicina na reumatska obolenja, jer on povećava histamin koji čini glavni odbrambeni sistem organizma na reumatska obolenja.

I.2. AROMATIČNE MATERIJE VOĆA I POVRĆA

Aromatične materije u voću i povrću daju informaciju mirisa a pretežno i ukusa raznih vrsta i sorti voća ili povrća. U zajednici sa raznim šećerima, kiselinama i obojenim materijama, aromatične materije su glavni nosioci organoleptičkih osobina voća, povrća i njihovih proizvoda. U voću i povrću

aromatske materije se nalaze u minimalnim količinama. U većini slučajeva lakše su isparljive, i veoma lako međusobno ili sa nekim drugim materijama reaguju, te se i na taj način gube ili prelaze u netipične aromatske materije.

Encimski sistem u plodovima voća i povrća učestvuje u stvaranju i formiranju aromatskih materija, sve dotle dok je dirigovan od živih biljnih ćelija. Oštećenjem ili dezintegracijom biljnih ćelija taj isti sistem počinje forsirano da razgradjuje aromatske materije na pojedinačne komponente, a pri tome važnu ulogu ima kiseonik. Gubitak aromatskih materija je značajan i kod neadekvatne berbe, transporta, skladištenja i prerade voća i povrća. Ako se u tehnološkim operacijama prerade koriste visoke temperature i u prisustvu kiseonika, gubitak aromatskih materija je veliki.

Pojedine vrste, sorte i populacije voća i povrća imaju različiti broj aromatskih komponenti koje formiraju i daju osnovno obeležje arome karakteristične za vrstu i populaciju, često i za uži lokalitet iste sorte. Mnoge vrste voća i povrća imaju preko 100 u vodi ili vodenoj pari lakše ili teže rastvorljivih i isparljivih aromatskih komponenti.

U hemijskom pogledu aroma voća i povrća je smeša raznih alkohola, estara, aldehida, ketona, karbonskih kiselina, eteričnih ulja, smola i voskova. Uljane frakcije voćnih aroma sadrže razne više masne kiseline i terpene. Tako na primer aromatično ulje slačice sadrži razne izocijanate, kao što su: alilni, p-hidroksilbenzilni, benzilni i fenil-etilni-izotiocianatni (21). Ovih aromatskih materija ima i u aromi rena,

uljane repice i drugih vrsta povrća, ali u tragovima, gde sa drugim organskim jedinjenjima koja sadrže sumpor, daju karakterističan miris i ukus. Ova jedinjenja su u većini slučajeva razni tioalkoholi, metilni-propilni-merkaptilni, tioetri (dimetil-dialil, sulfidi i disulfidi). Pored ovih mogu biti i metilalil-sulfidi, metil-propildisulfidi i sl. Sva nabrojana jedinjenja nalaze se i u aromi belog i crnog luka, praziluka, kao i u aromi kupusa, paradajza i paprike, ali samo u tragovima.

Aromatske materije iz voća i povrća deluju i na senzorne organe potrošača pri čemu izazivaju osećaj jakog mirisa, normalnog mirisa, slabog mirisa, ili uopšte ne mirišu. Ovo je verovatno zato što se u raznom voću i povrću pojedine aromatske materije nalaze u različitom međusobnom odnosu koji varira po količinama, isparljivosti ili se uopšte ne isparavaju. Poznato je da sve ove materije tek kao "celina" daju karakterističnu aromu na vrstu i sortu voća i povrća.

Pod pojmom arome podrazumeva se smeša sa vodom, vodenom parom ili inertnim gasom isparena jedinjenja, koja daju nezamenljivu čulnu karakteristiku određene vrste ili sorte voća i povrća. Čulni utisak je rezultat organoleptičke ocene koji ne čini samo miris nego i ukus na što ima uticaja hladnoća ili toplota probanog uzorka. Arome voća ili povrća se ne odlikuju samo specifičnim mirisom i ukusom. One imaju i određenu fiziološku ulogu jer povoljno deluju na apetit povećanjem sekrecije žlezda u probavnom traktu potrošača. U aromatičnim materijama koje sadrže i eterična ulja zapaženo je i

farmakološko delovanje, pošto takve arome deluju baktericidno, bakteriostatski, kao lokalni anestetici kod raznih upala (22).

Opšta karakteristika aromatskih materija u voću i povrću je da se nalaze u nemerljivo malim količinama. Ova činjenica ukazuje na prenaplašenu osetljivost ljudskih čula koja su u stanju da primete i registruju tako male količine raznih hemijskih jedinjenja, koje teško otkrivaju i najsavremeniji aparati, pošto se u jednom kilogramu plodova nalazi od 10 do 100 mg raznih aromatskih materija.

Ispitivanja nekih autora (23), pokazala su da aromatske materije u biljnim plodovima, koji su celi, imaju jači utisak na senzorne organe. Ovo je verovatno zbog toga što su aromatske materije dislocirane na odredjenim mestima u plodu, pa je u tom slučaju koncentracija ovih materija veća. Sitnjenjem plodova aromatske materije prelaze u sok, razređuju se ili encimatski dekomponuju, pa sve to ostavlja utisak smanjene ukupne arome u odnosu na ceo plod. Pojedina aromatska jedinjenja se hidrolizuju ili oksiduju dajući druga nova jedinjenja manje mirišljava, ili bez mirisa, što smanjuje opšti utisak aromatičnosti.

I pored veoma zapaženih istraživanja aromatskih materija u voću i povrću, još uvek kod većine vrsta voća i povrća nisu identifikovane one aromatske materije koje karakterišu i daju obeležje tipične arome za vrstu ili sortu.

Neki istraživači (24) smatraju da karakterističnu aromu ne čine samo pojedine komponente koje intenzivno mirišu,

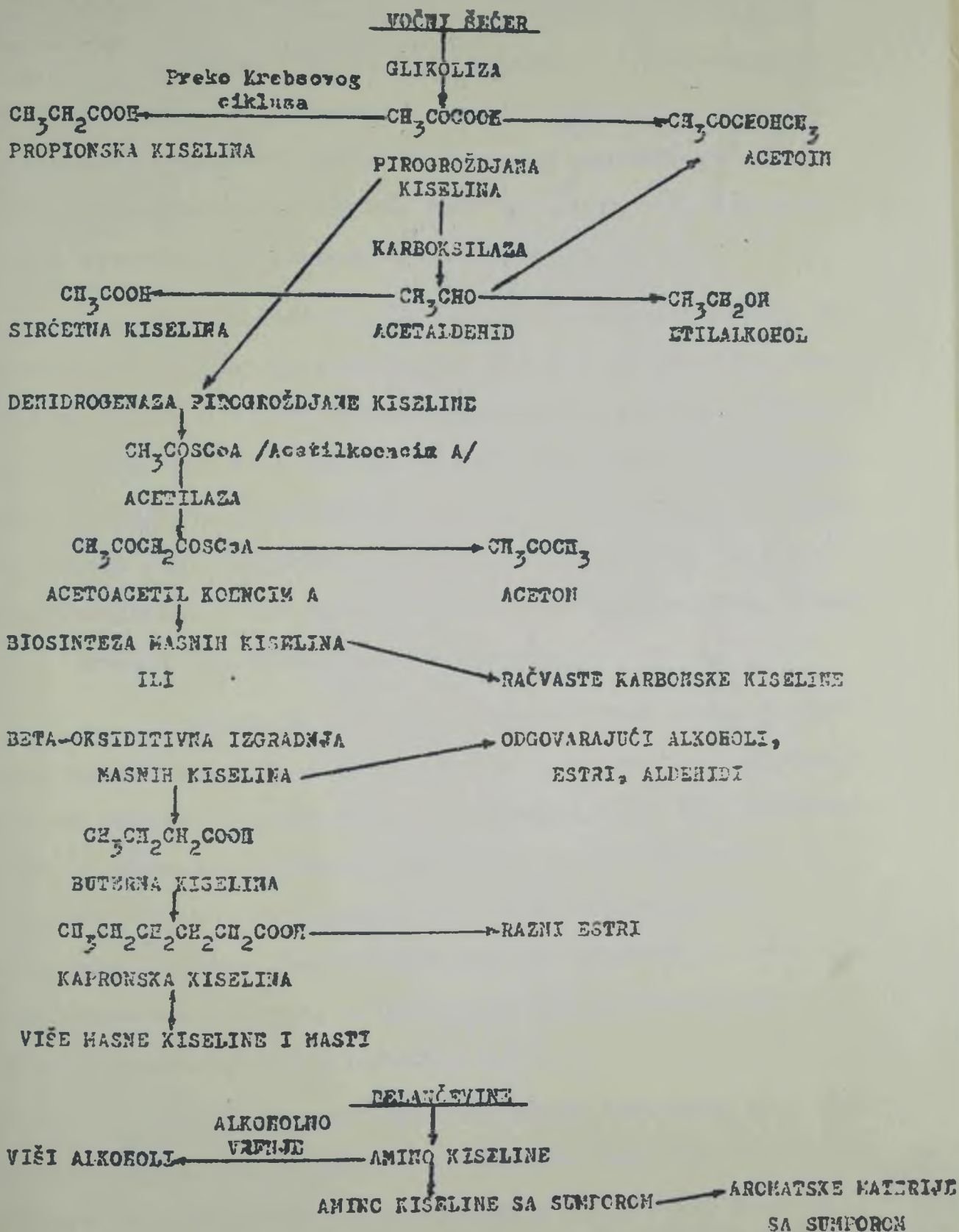
jer sve prirodne arome sadrže približno istu vrstu i broj hemijskih jedinjenja, pa su razlike u čulnom utisku mirisa i ukusa kod pojedinih vrsta voća i povrća posledica različitih koncentracija pojedinačnih komponenti koje formiraju ukupnu aromu.

Istraživanja nekih autora (25) ukazala su da između raznih sorti i vrsta voća i povrća postoji kvalitativna i kvantitativna razlika u aromatskim materijama, kako u senzornom, tako i u instrumentalnom određivanju, te to zapravo karakteriše određenu sortu unutar iste vrste.

1.2.1. Stvaranje aromatskih materija u biljnim plodovima

Kao produkt izmene materija u biljnom svetu stvaraju se razne isparljive i neisparljive aromatske materije: alkoholi, kiseline, karbonilna jedinjenja i jedinjenja sa sumprom. Büchi (26) je na osnovu istraživanja postavio šemu biosinteze aroma koje su nastale međusobnim reakcijama produkata izmene materija u biomaterijalu (šema br. 2). Iz prikazane šeme može se uopšteno reći da aroma nastaje iz tzv. "prekursora-prethodnika arome", posredstvom enzima biljne ćelije. Weurmani (27) je u svojim eksperimentima dodao encimski ekstrakt izdvojen iz plodova zrele maline i plodova potpuno zelene maline, i za kratko vreme došlo je do formiranja arome karakteristične za zrele plodove maline. Na isti način se može poboljšati aroma u koncentratu narandže, ako se doda encimski ekstrakt izdvojen iz pulpe zrele narandže (28).

Sl. 2. Šema biosinteze ⁻²⁹⁻aromatičnih materija po Büshi-u



Za vreme sušenja voća i povrća na povišenim temperaturama izgube se skoro sve isparljive aromatične materije. Ostaju samo prekursori arome. Tretiranjem osušenih plodova određanim encimskim ekstraktom, može se u ovom voću ili povrću ponovo stvoriti aroma karakteristična za vrstu (29).

Kod različitih vrsta voća i povrća prekursori arome su razna sulfonilna jedinjenja, kao što je dimetilpropioetin, koji se nalazi u algama i S-metilmetionin u plodovima paradajza, špangle, kupusa i dr. Ova jedinjenja na visokim temperaturama oslobadjaju mirišljava jedinjenja - dimetilsulfid, neugodnog mirisa (30). Prekursori arome kod belog i crnog luka su cisteinsulfoksidi ili alini koji kuvanjem daju sulfide, disulfide, trisulfide, tioalkohole i tioetre.

Poznato je takodje da nespecifični encimi u plodovima jabuka, krušaka, šljiva, groždja i banana, kod sitnjenja plodova encimskim putem stvaraju heksanal (31). Kod formiranja arome u plodovima jabuka glavnu ulogu imaju karboksilaze i esteraze (32) koje u nezrelim plodovima stvaraju alkohole i karbonske kiseline. Sazrevanjem plodova alkoholi se esterifikuju encimatskim putem, a dužim stajanjem u skladištima može doći do razgradnje na pojedinačne estre.

Za formiranje prirodnih aroma odgovorne su i aminokiseline sa svojim razgradnim produktima. Amino kiseline encimatskom transaminacijom i oksidativnom dezaminacijom iz pojedinih amino kiselina u zajednici sa redukujućim šećerima, keto kiselinama ili sa drugim redukujućim jedinjenjima stvaraju aromatične aldehide odgovarajuće aminokiseline, uz oslobadjanje CO_2 .



Istraživanjima Roth-a (33) dokazano je da se ovim reakcijama iz alanina stvorio acetaldehid, iz valina izobutanol, metionina metional, leucina 3-metilbutanal i dr. Amino kiseline koje sadrže sumpor daju sumpervodonik, metilmerkaptan (H-S-CH_3) i dimetilsulfid ($\text{CH}_3\text{-S-S-CH}_3$), koji se mogu naći kao sastojci arome raznog povrća (34). Terpeni koji se nalaze u citrus plodovima i crnoj ribizli nastaju biosintezom po "izopren pravilu" i to ne putem samog izoprena, nego i iz mevalonske kiseline (35).

Većina aromatskih jedinjenja nastala je dekarboksilacijom karbonskih kiselina sa parnim brojem ugljenikovih jedinjenja, ili sličnim reakcijama zbog čega skoro sva aromatska jedinjenja imaju neparan broj ugljenikovih atoma (35).

I.2.2. Podela aromatskih jedinjenja voća i povrća

Arome raznih vrsta voća i povrća međusobno se razlikuju, i pored toga što imaju veliki broj istih hemijskih jedinjenja (alkohola, kiselina, aldehida, itd.). Zbog toga po ovoj osnovi nije moguće klasifikovati arome različitih vrsta voća i povrća. Pripadanje arome nekom jedinjenju koje ima specifične funkcionalne grupe, karbonilne grupe, ne znači da ta aroma ima odredjen aromatski karakter i da pripada nekoj vrsti voća ili povrća. Postoji mogućnost da jedinjenja sa istim

grupama kao i sličnom hemijskom strukturom pokazuju različita aromatska svojstva, kao i to da materije istih aromatskih svojstava imaju različitu hemijsku strukturu. Jedno isto hemijsko jedinjenje u zavisnosti od koncentracije može imati različiti aromatski karakter, jer jonon u visokoj koncentraciji miriše na kedrovo drvo, a u nižim koncentracijama miriše na ljubičicu.

Klasifikacija aromatskih materija voća i povrća na osnovu senzornih čula nije adekvatna, iako su čula mirisa i ukusa kod čoveka osetljivija od mnogih instrumenata. Podela aromatskih metoda po ovom osnovu je moguća, ali je ona samo orijentaciona. Davies (36) je dao poznatu klasifikaciju koja se zasniva na brzini prodiranja mirisa, "teorija prodiranja mirisa". Amoer i sar. (37) je dao svoju "stereochemijsku teoriju mirisa". Obe ove teorije imaju uglavnom teoretske vrednosti i one daju osnovne principe koje treba imati u vidu kod klasifikacije aromatskih materija u voću i povrću.

Za praktična proučavanja i razmatranja problematike aromatskih materija u voću i povrću najprikladnija je klasifikacija po Gierschneru (38) koji je sva aromatska jedinjenja podelio na aromatske komplekse.

1. Aromatski kompleks specifičan za sortu voća odnosno povrća je uglavnom samo naglašen, ali je do sada veoma malo ispitan. Postoje podaci samo za neke sorte bez uporedjenja kako aromatski kompleks izgleda u nizu sorti iste vrste. Smisao ovoga kompleksa je da se jednom odredjenom hemijskom

jedinjenju daje atribut karakterističnosti za ispitivanu sortu, bilo u kvalitativnom ili u kvantitativnom smislu. Kod sorte groždja "Konkord" izdvojen je iz ukupne arome metilni estar aminobenzojeve kiseline (39), koji nije nadjen kod drugih sorti groždja, pa je uzeto baš to za aromatsko obeležje ove sorte u nizu ostalih sorti.

Kod druge sorte je identifikovan n-butilni estar ftalne kiseline, koji je u ovom slučaju uzet kao aromatski kompleks, karakterističan za ovu sortu groždja (40). Ispitivanja ovog aromatskog kompleksa kod raznih sorti povrća veoma su oskudna i nalaze se u začetku (41).

2. Aromatski kompleks specifičan za vrstu voća ili povrća. Ovaj kompleks čini veći broj hemijskih supstanci koje opredeljuju aromu u prvom redu da li potiče od voća ili povrća, zatim kojoj vrsti voća odnosno povrća aromatski kompleks pripada. Istraživanja arome jabuke (42) pokazala su da je specifična aroma ove vrste voća sastavljena iz raznih karbonilnih jedinjenja i voćnih estara. Na osnovu ovih istraživanja konstatovano je da heksenal i heksanal daju miris na zelene plodove jabuka, dok etilni-estar-2-metil buterne kiseline daje miris na zrelu i prezrelu jabuku.

Radovi nekih autora na aromi krušaka (43) pokazali su da je etilni-estar-trans-2-cis-4-dekadien kiseline specifičan za miris i ukus plodova krušaka. Metilni, etilni, propilni i n-butilni estri daju kruškama miris i ukus na svežinu, dok n-amilni i heksilni estri daju nešto teži miris i ukus na prezrele plodove krušaka.

Specifičnu aromu za ananas daje metil-estar-2-metilmerkapt^opropionska kiselina i 2,5-dimetil-4-hidroksi-3-furanon (44, 45).

O aromama povrća ima manje radova iz kojih se može dati pregled odgovornih aromatskih kompleksa za pojedine vrste povrća. Iz radova (41) konstatovano je da od 38 aromatskih komponenti paradajza obeležje arome za ovu vrstu povrća daje 2-izobutil tiazol, cis-3-heksanal, trans-2-heksanal, linolinska kiselina i geraniol. Wendell i sar. (46) ispitivali su aromu dobijenu destilacijom višegodišnje cvetne paprike i konstatovali da je od 125 identifikovanih aromatskih komponenti za specifičnu aromu za vrstu odgovoran 4-metil-1-pentil-2-metil butirat, 3-metil-1-pentil-3-metil butirat i izohexil-izo kaproat.

Kod raznih vrsta povrća u aromatskom kompleksu učestvuju uglavnom organska jedinjenja sa sumporom kao kod slačice i uljane repice, gde se često mogu naći razni tioalkoholi i tioetri. Mnoga jedinjenja u aromatskom kompleksu povrća slabo ili uopšte ne mirišu, ali daju vidno učešće kod konačnog opredelenja arome karakteristične za povrće, kao što su soli glutaminske kiseline i razni nukleotidi koji nastaju kao medjuprodukti u fotosintezi posredstvom bihemijskih reakcija (47).

Sydow i sar. (48) su u ispitivanju arome karakteristične za vrstu voća ili povrća otišli najdalje. šumsku borovnicu su podvrgli destilaciji pod vakuumom. Dobijenu aromu su rektifikovali - koncentrovali i na njoj su odredili

kvalitativni i kvantitativni odnos aromatskih materija. Sni-
manjem arome metodom gasne hromatografije i identifikacijom
aromatskih komponenti pomoću Rt. IR i MS, zaključili su da je
aroma borovnice ocenjena kao slabo mirišljava, veoma bogata
u hemijskim jedinjenjima koja učestvuju u konačnom formiranju
i stvaranju arome ove vrste šumskog voća. Gasno-hromatografska
ispitivanja pokazala su da aroma borovnice ima 109 isparljivih
komponenti i da se one mogu podeliti na sledeće grupe hemij-
skih jedinjenja: esencijalna ulja, alifatični alkoholi, ali-
fatični aldehidi i ketoni, terpenski derivati i hemijska je-
dinjenja koja nemaju aromatska svojstva sa gledišta mirisa.
Karakteristiku aromatskog kompleksa karakterističnog za ovu
vrstu šumskog voća dali su: fenil-acetaldehid, fenil-propanol,
metilen-geraniol i beta-feniletilbenzoat. Postavili su kao hi-
potezu da je za aromu borovnice veoma važan i etil-izovaleri-
jat, etil-2-metilbutirat, što će kasnija istraživanja dokaza-
ti ili demantovati.

Buttery i sar. (49) za ispitivanje arome paprike
iz klase sitne biber španske paprike, koja je veoma ljuta, ko-
ristili su normalnu i kapilarnu gasnu hromatografiju, MS, IR,
UV- i nuklearno magnetnu spektroskopiju. Ovako široko prime-
njenom instrumentalnom tehnikom autori su identifikovali i
dokazali 24 komponente arome, dok su još 19 komponenti samo
naslutili da postoje. Iz ovog rada vidljivo je svakako da je
aroma ove podvrste paprike dosta oskudna u aromatskim kompo-
nentama, jer su Wendell i sar. (46) primenom gasne hromato-
grafije, IR i MS u višegodišnjoj cvetnoj paprici identifikovali

mnogo više aromatskih komponenti koje čine ukupnu aromu.

3. Opšti aromatski kompleks čine sve one aromatske materije koje daju opšti čulni utisak na voće ili povrće, bez obzira kojoj vrsti pripada. Opšta osobina aromatskih materija ovoga kompleksa da su slabo isparljive i da u većini slučajeva ostaju i posle prerade voća ili povrća u pojedine proizvode.

Polazeći od postavke da se sva aromatična jedinjenja koja grade aromu voća ili povrća nalaze u praktično nepromenljivih količinama, mora se pretpostaviti da je ovaj aromatski kompleks, koji daje opšti utisak, zapravo samo nosač ostalih aromatskih materija, koje su na neki način specifične. Ovaj kompleks čine uglavnom lipidi, pa je u njima koncentracija aromatskih materija verovatno najveća.

Ovde takodje spadaju i pektinske materije, celulozne i dr. materije, koje igraju ulogu aromofornih materija, pa bi se za ovaj kompleks moglo reći da je "aromoforni kompleks". Ovaj kompleks svakako upotpunjava i prisustvo nekih alkohola, metilni i etilni alkohol, koji se u aromatskim materijama iz voća ili povrća javljaju u prvom redu kao rastvarači aromata.

4. Nepoželjni aromatski kompleks nastaje nepoželjnim encimatskim ili mikrobiološkim procesima za vreme čuvanja ili prerade voća odnosno povrća. U ovaj aromatski kompleks mogu se ubrojati diacetil, aceton, sirćetna kiselina, metil i etil alkohol, koji nastaju nepoželjnim mikrobiološkim reakcijama. Ukus na kuvano koji čine više hemijskih supstanci

posledica je primenjenih visokih temperatura. Ukus na kuvano može nastati iz glutamina koji se razlaže i stvara 1-pirolidonkarbonsku kiselinu, kao što taj ukus mogu dati i produkti Maillardove reakcije (50 i 51).

I.2.3. Ponašanje aromatskih materija

Pored dosada opisane podele aromatskih materija iz voća ili povrća, od značaja je za ovaj rad i ponašanje aromatskih materija na raznim temperaturama. Istraživanja Heis-a (1961) pokazala su da aromatske materije iz voća ne stvaraju idealne rastvore, kao i to da su u vodi teže rastvorljive, pa i pored toga s obzirom na male količine različito isparavaju, jer postoji mogućnost da stvaraju azeotropске smeše. Slična istraživanja u pogledu ravnotežnih stanja isparavanja ispitali su mnogi autori (52, 53, 54).

Pilnik (56) je u svojim proučavanjima voćnih aroma kod sušenog voća u prahu sve aromatske materije podelio na lako isparljive, kao što su npr. arome jabuke, i teže isparljive - azeotropске smeše koje se nalaze u plodovima jagode i maline.

Šulc i sar. (56, 57, 58), ispitivali su ponašanja aroma voća i povrća kod različitog stepena uparenja soka i primenjenih temperatura, te su na osnovu svojih radova sve aromatske materije u voću i povrću podelili na grupe:

1. Lako isparljive komponente arome su sve one komponente koje se relativno brzo kvantitativno izdvoje kod

dearomatizacije soka, ili kaše do cca 20% od sirovine. U ovaj tip aroma ponekad spadaju i kompletne arome pojedinih vrsta i sorti voća i povrća. Istraživanja Šulca i sar. (59) pokazala su da u ovaj tip lako isparljivih aroma spada aroma od jabuka koja se kod uparenja soka cca 20% skoro kvantitativno izdvoji i predje u kondenzat. To je zbog sastava ove arome, koja se sastoji uglavnom od lakoisparljivih hemijskih jedinjenja, nižih alkohola, nižih aldehida i ketona sa glavnim nosiocem arome heksanalom i heksanolom. Sva ova hemijska jedinjenja ključaju pri srazmerno niskim temperaturama, pogotovu ako je koncentrovanje sokova pod vakuumom. Sok od kruške, iako spada u istu botaničku vrstu, ima teže isparljive arome iz grupe viših alkohola, aldehida, ketona i dr. gde pojedini karbonili imaju od C_8 do C_{16} atoma. Karakterističan obeleživač arome ove vrste voća je metilni ester - 2 - cis - 4 - dekadenske kiseline sa drugim estrima, metilnim, etilnim, butilnim, propilnim i amilnim estrom sirćetne kiseline. Po istom pravilu ponašaju se i aromatske materije iz dunje, mada sve ove arome možemo ubrajati u lako isparljive. Neka prethodna istraživanja pokazala su da se slično ponaša i aroma iz paradajza, mada kod ove arome ima nekoliko izrazito teško isparljivih komponenta koje se zadržavaju i kod dosta rigoroznih temperatura kod prerade paradajza.

2. Teže isparljive aromatske komponente sporije se isparavaju od prethodnih. U ovu grupu aromatskih materija spadaju sve one komponente koje se ispare preko 50% kod isparenja soka cca 40 do 60% od početnog volumena. Tu spadaju

aromatske materije od koštičavog voća sa izuzetkom arome iz šljive požegače. Teže isparavaju aromatske materije iz soka kajsije i breskve (59), jer sadrže teže frakcije arome. Aroma kajsije sadrži razna ulja, mircen, limonen, terpinolen, linalol, geraniol, i dr. Tang i sar. (61) ispitali su laktonska jedinjenja koja učestvuju u formiranju ukupne arome u plodovima kajsije i zaključili na osnovu gasno-hromatografskih razdvajanja i identifikacije infracrvenom spektroskopijom da od laktonskih jedinjenja u aromi kajsije ima benzilalkohola, kapronske kiseline, γ -kaprolakton, β -dekalakton, γ -dodekalakton i δ -dekalakton. Aroma breskve sadrži teže isparljive aromatske komponente, benzaldehid, gama-kaprolaktan, gama-heptolaktan, benzil-acetat, alfa-piran i dr. Svaka od ovih frakcija teže isparava i izdvaja se kod dearomatizacije ili uparavanja soka.

3. Teško isparljive aromatske materije. U ovu grupu spadaju one aromatske materije koje se kvantitativno izdvajaju tek kod 80% isparenja ishodnog soka, ili se uopšte ne isparavaju kvantitativno nego manji deo ostaje u koncentratu. U ovu grupu dolaze arome bobičastog i jagodastog voća, jagoda, malina, kupina i crna ribizla. Aroma paprike po ovoj podeli veoma se čudno ponaša, jer ona ima sve tri vrste aromatskih materija te čini jedan prelaz između ove tri grupe.

Aroma jagode i maline, koje spadaju u ovu grupu, ima uglavnom niže alkohole, karbonilna jedinjenja, karbonske kiseline i njihove estre. Glavni nosilac arome karakteristične za malinu je himber-keton tj. 4-hidroksi-fenil-2-butan, zatim

alfa-jonon, koji je teško isparljiv i d-3-mentanon. Sva ova jedinjenja teže isparavaju zbog čega arome ovih vrsta voća spadaju u teško isparljive. Teško isparljiva aroma voća i povrća gradi tipične azeotropne smeše aromatičnih materija te se shodno tome i ponaša kod dearomatizacije ili ugušćivanja voća. Kod ovih vrsta voća ili povrća aromatske materije nisu sastavljene samo od teško isparljivih materija, nego one poseduju sva tri tipa - lakoisparljive aromatske komponente, koje se oslobadaju kod malog stepena isparenja cca 10%, teže isparljive koje se oslobadaju kod 50% isparenja soka i teško isparljive komponente koje se delimično ili potpuno izdvajaju tek kod stepena isparenja preko 85% i aromatske materije koje se praktično za vreme ugušćivanja soka ne isparavaju, već ostaju u koncentratu.

Aromatske materije u plodovima paprika veoma su kompleksne, malo su izučavane te njihove osobine i ponašanje kod gasnohromatografskog razdvajanja nisu za sada poznate. Iz istraživanja (62) može se uopšteno reći da paprika ima sve tri vrste aromatskih materija. Kod gasnohromatografskih analiza arome paprike često se javljaju teškoće kod razdvajanja na koloni. Komponente su veoma sličnih retencionih vremena i temperature isparavanja, pa se međusobno sustižu kod izlaska na detektoru.

I.3. ODREĐJIVANJE AROMATSKIH MATERIJA

Za analizu aromatskih materija, koje grade ukupnu aromu karakterističnu za vrstu ili sortu voća i povrća koriste se razne metode analiza, kao što su: senzorna analiza, analiza na tankom sloju ili papiru-tankoslojna hromatografija, hromatografija na koloni i gasnohromatografska analiza koja spada u egzaktnije instrumentalne metode određivanja aromatskih materija.

I.3.1. Senzorno ocenjivanje

Ova metoda određivanja aromatskih materija voća i povrća je istorijski najstarija metoda. Pojavom savremenijih metoda, ovaj način određivanja aromatskih materija je zapostavljen. Iskustva su pokazala da i najsuptilnije instrumentalne metode nisu u stanju da pruže informaciju analitičaru na šta neka aroma ili komponenta, koja čini ukupnu aromu, miriše. Primenom savremenih instrumentalnih metoda dobija se sigurna i tačna informacija o količini i kvantitativnim svojstvima neke aromatske komponente, dok se njeno bliže obeležje može okarakterisati opisno preko jedinjenja kome pripada. Zbog svega ovoga se u savremenoj analitici aromatskih materija sve više kombinuju instrumentalne i senzorne analize i na taj način se dobija puna informacija, kako u kvantitativno-kvalitativnom pogledu, tako i u senzornom smislu. Iskustva su takođe pokazala da je čulo mirisa i ukusa kod čoveka osetljivije od bilo kakvog instrumenta. Senzorno određivanje aroma

primenjuje se samo kod određivanja aromatskog kompleksa, karakterističnog za vrstu voća ili povrća, ili u ređem slučaju za sortu. U kombinaciji sa gasnohromatografskom metodom moguće je senzorno, pomoću čula, dati informaciju na šta neka komponenta, koja čini ukurnu aromu pri izlasku iz kolone ili termokonduktivnog detektora, miriše. Ova informacija je svakako od velikog značaja za identifikaciju komponenti, ali se može smatrati kao uslovna. Ocenjivanje aroma voća i povrća senzornom metodom nije predmet ovog rada, te se napominje samo kao dopuna drugih metoda.

I.3.2. Analiza aroma tankoslojnom hromatografijom

Ova metoda određivanja aromatskih materija u voću i povrću može se primeniti pod uslovom da se iz aroma izdvoje pojedine hemijske grupe koje čine ukupnu aromu: aldehidi, ketoni, fanilna jedinjenja, kiseline i sl. Tako razdvojene supstance se posle purifikovanja određuju metodom tankoslojne hromatografije uz uporedjenje sa čistim supstancama.

Ova metoda se više koristi za kvalitativno određivanje pojedinih komponenti koje čine ukupnu aromu. Podestnom tehnikom pripreme ova metoda se može koristiti i za kvantitativno određivanje (63).

Ova metoda uopšteno rečeno spada u separacione metode i zasniva se na različitim brzinama kretanja hromatografisanih supstanci (64), u sistemu dve faze, jedne pokretne i nepokretne faze. Kretanje i širenje hromatografisane supstance karakteriše zbir konvektivnog narušavanja ravnoteže,

usled čega dolazi do podele hromatografisane supstance između dve faze i izravnavanje nastalog deficita difuzijom.

Konvektivnom transportu podležu jedino molekuli hromatografisane supstance koja se pojavljuje u pokretnoj fazi. Tu je brzina kretanja hromatografske zone proporcionalna verovatnoći pojavljivanja odgovarajućeg molekula u pokretnoj zoni. Iz toga proizilazi da je različita brzina kretanja zona hromatografisanih supstanci posledica različitih ravnotežnih konstanti (podeonih i apsorpcionih koeficijenata). Razlike ravnotežnih konstanti, konvekcije i difuzije, su neodvojivi faktori hromatografskog procesa. Nehomogenost hromatografskog sloja i razlike hidrodinamičnih uslova kretanja pokretne faze dovode do nejednakih brzina pojedinih tokova i stvaranja brzinskog profila. Sve ovo ukazuje da je hromatografsko razdvajanje moguće, jer udaljenost između zona raste linearno sa putem, dok veličina i širenje zone raste samo sa drugim korenom puta. Hromatografsko odvajanje je utoliko efikasnije ukoliko su razlike ravnotežnih konstanti hromatografisanih supstanci veće, što je zapravo slučaj i kod voćnih aroma.

Ova hromatografska metoda za određivanje aromatskih materija nije primenjivana u ovom radu, te se daje samo u kratkom pregledu kao moguća za određivanje aromatskih materija koje nisu isparljive, ili se pogodnom tehnikom mogu prevesti u neisparljive oblike.

I.3.3. Analiza aroma kolonskom hromatografijom

U kolonskoj hromatografiji stacionarna tečna faza

je naneta na odgovarajući inertni nosač, napunjena u staklenju cev, koja je pri dnu nazubljena ili ima porcelanski porozni disk. Za regulisanje brzine protoka eluata koristi se prekidna slavina na izlivu cevi. Veća visina cevi i manji prečnik kod datih nosača imaju bolji efekat razdvajanja, ali manju brzinu protoka eluata. Kolona se puni sa prethodno natopljenom stacionarnom tečnom fazom, ili suvim materijalom. Osnovni materijal kojim se puni kolona treba da je inertan prema supstancama koje se ispituju.

Zavisno od tipova razdvajanja raznih jedinjenja, kao punilo za kolonu koriste se razni materijali, silicijumova kiselina, diatomajska zemlja, celuloza, škrob, magnezijum i aluminijum oksid. Pre dodatka rastvora koji se razdvaja, kolona se napuni solventom za razdvajanje i uravnoteži sa stacionarnom fazom. Hromatogram se na koloni postepeno razvija dodavanjem solventa za razdvajanje i supstance koja se želi razdvojiti. Kolona mora da bude uvek puna solventa. Hromatografsko razdvajanje komponenata odvija se diferencijalnom raspodelom komponenata između stacionarne i tečne faze (65). Komponente arame, koje su rastvorljive u pokretnoj fazi, prolaze niz kolonu i stvaraju slojeve koji se lako uočavaju ako su obojeni. Obojenost se može postići dodatkom pogodnog indikatora ili se komponente mogu uočiti pod ultraljubičastom lampom. Razdvojene zone ili grupe hemijskih jedinjenja, mogu se eluirati selektivnim rastvaračima. U slučaju da se razdvajanje na koloni ne može detektovati, koristi se frakcioni kolektor. Kolona se takodje može izvaditi iz staklene cevi i

odgovarajućom tehnikom iseći na zone, koje se zatim rastvaraju u raznim rastvaračima i ispituju drugim metodama.

Kolona punjena silikagelom ili silicijumovom kiselinom koristi se za razdvajanje alifatičnih i drugih alkohola. Kolona punjena skrobom koristi se za razdvajanje aminokiselina. Za razdvajanje mogu poslužiti i jonoizmenjivačke smole. Za frakcionisanje proteina koriste se karboksimetilceluloza i fosfoceluloza kao katjonski izmenjivači i dietilaminoceluloza kao anjonski izmenjivač, sa relativno velikim jonoizmenjivačkim kapacitetom.

Hromatografijom na koloni mogu se odredjivati slobodna karbonilna jedinjenja pod uslovom da se prevedu u neisparljivo stanje. Najstarija hromatografska metoda za odredjivanje i razdvajanje smeše aldehida i ketona, jeste hromatografija 2,4-dinitrofenilhidrazona (66). Ova metoda je zamenjena hromatografijom na tankom sloju i gasnom hromatografijom. Za odredjivanje aromatskih materija u radu nije korišćena hromatografija na koloni, te se neće detaljnije opisivati.

I.3.4. Analiza arome gasnom hromatografijom

Ova metoda je upotrebljena za ispitivanje aromatskih materija u paprici, pa će se ovde izneti i opisati opširnije od prethodnih metoda, koje nisu korišćene u ovom radu.

Gasna hromatografija je našla punu primenu kod ispitivanja aromatskih materija u raznim proizvodima. Većina aromatskih materija pripada lakše isparljivim jedinjenjima ili se

podesnim postupkom mogu pretvoriti u isparljive materije, što je uslov da se primeni gasna hromatografija.

Ova metoda spada u grupu fizičko-hemijskih metoda za razdvajanje (67). Zasniva se na razdvajanju smeše isparljivih materija podesnom hromatografskom kolonom. Princip razdvajanja se zasniva na naizmeničnoj adsorpciji i desorpciji lakše isparljive komponente na hromatografskoj koloni p sredstvom gasa nosača. Stacionarna faza je čvrst adsorbens ili tečnost nanescna na neki čvrst nosač. S obzirom na ovu okolnost da se kao stacionarna faza koristi čvrst aktivni adsorbens ili tečnost nanescna na čvrst inertni nosač, gasna hromatografija se deli na: adsorpcionu i podesnu gasnu hromatografiju.

Osnovne odlike ove instrumentalne analitičke metode su osetljivost, brzina, tačnost i jednostavnost metoda za razdvajanje, identifikacija i određivanje isparljivih materija u veoma malim količinama. Gasna hromatografija se koristi za identifikacije i određivanje svakog materijala koji ima napon pare (od 1-1000 mm), kod radne temperature kolone (-70°C do $+400^{\circ}\text{C}$), dok se neke čvrste materije mogu analizirati prema karakterističnim razgradnim produktima nastalim pirolizom. Metodom gasne hromatografije mogu se odrediti mnoga fizička svojstva materija kao što su aktivnost površine, adsorpcione izoterme, toplotna provodljivost, toplota topljenja, koeficijenti aktiviteta, koeficijenti raspodele, molekulska težina i napon para.

S obzirom na gasovito agregatno stanje pokretne faze i uzorka gasna hromatografija ima velike prednosti nad ostalim metodama, jer ima veću efikasnost razdvajanja i veću osetljivost.

Do razdvajanja sastojaka iz smeše dolazi na dva načina:

- diferencijalnom adsorpcijom na adsorbensu - gasna adsorbciona hromatografija

- diferencijalnim razdvajanjem ili rastvaranjem u odgovarajućoj selektivnoj tečnosti nanetoj na inertni nosač velike površine (gasovito tečna podeona hromatografija).

Eluiranje ili ispiranje je glavna tehnika u gasnoj hromatografiji, jer se kolona kontinualno regeneriše inertnim gasom-nosačem. Sve komponente se mogu potpuno odvojiti i ako su pomešane u inertnom gasu, što olakšava njihovo kvantitativno odredjivanje. Odredjene količina uzorka uvodi se u struju gasa nosača koji prolazi hromatografskom kolonom. Pro-laskom kroz kolonu smeša uzorka se razdvoji na osnovne komponente i razdeli izmedju nepokretne faze i struje gasa nosača (pokretne faze). Kod dovoljno velike razlike u sorbciji izmedju smeše komponenata koje čine analizirani uzorak, brzina putovanja kroz kolonu je toliko različita, da se stvaraju odvojeni slojevi u koloni. Gas nosač eluira-ispira iz kolone pojedine frakcije odeljene zonama čistog gasa nosača, jer su sastojci pomešani u inertnom gasu nosaču, pa je kvantitativno i kvalitativno odredjivanje komponenata moguće. Kolona se stalno regeneriše eluiranjem svežeg gasa za vreme samog postupka

analize tako da je završetkom analize koja je relativno kratka, kolona potpuno regenerisana i spremna za narednu analizu, što nije slučaj kod drugih metoda. Kod komponenti koje sporo eluiraju i dugo se zadržavaju u koloni, jaka sorbcija se može ukloniti-skratiti programiranjem temperature, čime se skraćuje sorbcija a povećava desorbcija.

a) Gasni hromatograf

Uređaj za gasnohromatografske analize sastoji se iz:

- kolone za razdvajanje komponenti ispitivane smeše,
- detektora koji otkriva razdvojene supstance kod izlaska iz kolone za razdvajanje,
- elektronskog uređaja za kvantitativno i kvalitativno registrovanje pojedinačnih komponenti koje čine analizirani uzorak.

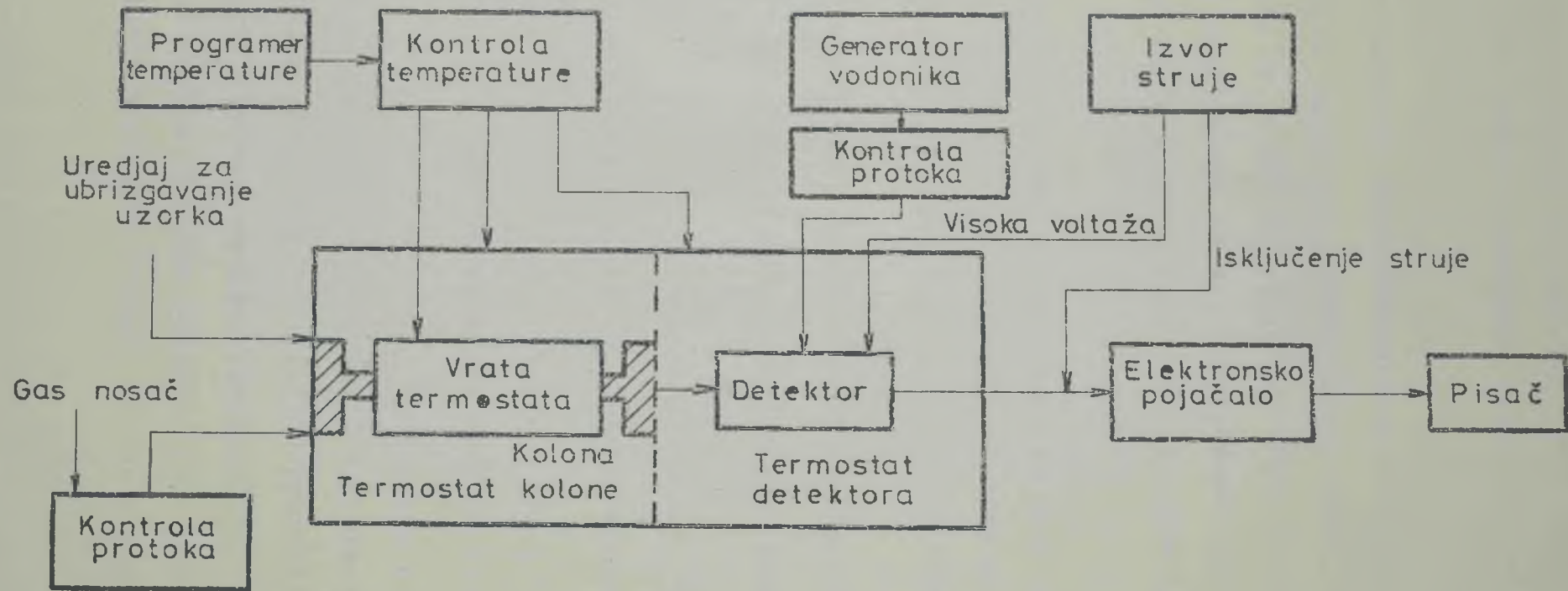
Šematski prikaz gasnog hromatografa dat je na slici 3.

1. Kolona za razdvajanje i materijal za punjenje

Najbitniji deo uređaja za gasnu hromatografiju je svakako kolona za razdvajanje komponenti analiziranog uzorka. Od izbora kolone, vrste punjenja i režima rada zavisi uspeh rada sa gasnim hromatografom.

Kolona za razdvajanje je od različitog materijala, u obliku spirale (staklo, hromnikl čelik, bakar aluminijum i sl.), različitih dužina i prečnika. Izbor materijala za kolonu,

434



Sl. 3. ŠEMA GASNOG HROMATOGRAFA TIPA: „PACKARD”

dužina kolone i prečnik kolone određuju efikasnost razdvajanja. Kod adsorpcijske hromatografije punjenje kolone za razdvajanje sastoji se od površinski aktivne materije (aktivni ugljen, kiselgur, aluminijum oksid ili molekulske sito). Kod adsorpcijske hromatografije primenjuju se permanentni gasovi, zavisno od punjenja kolone:

- kolona punjena aktivnim ugljem =
= O_2 + N_2 ; CO ; CH_4 ; CO_2
- kolona punjena molekulskim sitima =
= O_2 ; N_2 ; CH_4 ; CO
- kolona punjena kiselgurom ili Al_2O_3 =
= O_2 ; N_2 ; CH_4 ; C_2H_6 ; C_2H_4 ; C_3H_8 ; C_3H_6 .

Punjenja kolona za razdvajanje kod gas-tečne hromatografije sastoje se od inertnog nosača (zeoliti, Chromosorb, kiselgur i sl.) na koji se nanosi tečna faza sa niskom temperaturom ključanja.

Razdvajanje na ovim kolonama se zasniva na različitoj rastvorljivosti materijala. Efekat razdvajanja ovih kolona zavisi od izbora tečne faze koja se nanosi na inertni nosač. Kolone koje služe za razdvajanje alkohola, ketona i estara pune se najčešće dioksilsebacinskom i polietilenglikolom.

Redosled eluiranja komponenti u mnogome je zavisian od osobina stacionarne faze. Kod nepolarne stacionarne faze redosled eluiranja pojedinačnih komponenti zavistan je od

tački ključanja. Kod polarnih stacionarnih faza, koje se koriste kao punila za kolone, redosled eluiranja pojedinačnih komponenti iz analizirane smeše uslovljen je hemijskom strukturom ispitivane supstance.

Selektivno razdvajanje supstanci zasniva se na različitim funkcionalnim grupama kod različitih materija. Tako se benzol, tačke ključanja 80°C , pojavljuje kod izlaska iz kolone tek posle n-dekanola, koji ima tačku ključanja 175°C . Ovu pojavu su uslovile funkcionalne grupe benzola.

Kod razdvajanja nepolarnih supstanci na koloni ovaj faktor ne dolazi toliko do izražaja kao kod polarnih. Mala adsorbciona moć nosača dovodi do nesimetričnosti pikova, zbog čega se mora posvetiti posebna pažnja kod izbora nosača za stacionarnu fazu.

Površina materijala koji služi kao inertni nosač treba da je od 1 do $4\text{ m}^2/\text{g}$. Za otklanjanje preostalih adsorbcionih aktiviteta, nosač treba tretirati jakim mineralnim kiselinama, posle čega se impregnira heksametilsilanom ili dimetildihlorsilanom. Kod ispitivanja aromatskih materija koje imaju bazični karakter inertni nosač treba tretirati kalijum hidroksidom, koji omogućuje da pikovi eluiranih komponenti budu simetrični, a vreme eluiranja kraće.

2. Gas nosač i gasovi

Izbor gasa nosača uslovljen je izborom detektora. Kod gasnih hromatografa koji imaju detektor zasnovan na toplotnoj provodljivosti najčešće se kao gas nosač koristi

vodonik koji ima veliki koeficijent toplotne provodljivosti. Kod primene vodonika kao gasa nosača treba uzeti u obzir da supstance sa višestrukim vezama u molekulu mogu reagovati sa vodonikom, što se ne dešava ako se za gas nosač koristi helijum, koji kod katarometara pokazuje istu osetljivost kao i vodonik.

Azot i argon zbog niskog koeficijenta toplotne provodljivosti nisu pogodni kao gas nosač kod gasnih hromatografa sa TC-detektorima.

Gasni hromatografi koji imaju plameno-ionizacione detektore kao gas nosač koriste helijum, argon ili azot. S obzirom da gas nosač praktično transportuje supstancu kroz kolonu za razdvajanje, potrebno je pre analize prethodno odrediti količinu tj. brzinu protoka gasa nosača kroz kolonu. Određjena količina gasa nosača mora ostati konstantna za vreme razdvajanja ispitivanog uzorka. Od količine gasa nosača koji prolazi za vreme analize kroz kolonu zavisi položaj i izgled razdvojenih pikova koji simbolišu pojedinačne komponente analizirane smeše.

3. Unošenje probe-uvodjenje uzorka u kolonu

Za unošenje uzorka u kolonu za razdvajanje postoji nekoliko sistema, zavisno od agregatnog stanja analiziranog uzorka. Kod uvodjenja uzorka u kolonu moraju se poštovati sledeći uslovi:

- malu količinu uzorka treba brzo uneti u kolonu za razdvajanje, po mogućnosti u parnom-gasovitom stanju,

- ravnotežno stanje kolone ne sme se unošenjem uzorka poremetiti,

- dozirana količina probe mora biti tolika da se može višestruko reprodukovati.

Kod laganog, neravnomernog unošenja uzorka dolazi do neravnomernog isparavanja na nižoj temperaturi, usled čega dolazi do nesimetričnih pikova koji predstavljaju pojedinačne komponente analizirane smeše. Ova pojava se otklanja brzim unošenjem probe za analizu. Za doziranje gasova u koloni za razdvajanje, postoje specijalni ventili. Tečne supstance se doziraju u injekcioni blok specijalnim špricевima. Injekcioni blok je pretkomora ispred kolone za razdvajanje koja se greje termostatom i čini vezu sa kolonom, sa jedne strane, i mesta za unošenje analizirane supstance, s druge strane. Ulaz gasa nosača podešen je tako da on stalno protiče kroz injekcioni blok i unosi uzorak u kolonu za razdvajanje. Toplota injekcionog bloka treba da bude tako podešena da uneta supstanca za kratko vreme predje u gasno stanje. U praksi se toplota injekcionog bloka podesi tako da je veća od toplote kolone, da bi sve supstance uzorka prešle u kolonu.

Količina unetog uzorka zavisna je od kapaciteta kolone za razdvajanje. Da se znatnije ne smanji efikasnost razdvajanja na koloni, količina unetog uzorka ne sme preći više od 1% dužine kolone. S obzirom na mogućnost izbora detektora sa velikom osetljivošću količina uzorka je mala, 0,5 - 5 μ l.

2. Detektori - sistem za detekciju

Uloga detektora je da otkrije pojedinačne komponente koje su razdvojene iz uzorka na koloni za razdvajanje. Za detektore u gasnoj hromatografiji koriste se svi uređjaji koji na osnovu nekog fizičkog ili hemijskog svojstva ukazuje na prisustvo eluirane supstance u gasu nosaču. Detekcija može biti zasnovana na merenju toplotne provodljivosti, uporedjenjem toplote koju daje gas nosač, s jedne strane, i toplote uzorka koji se ispituje (termokonduktivni detektori). Ovim sistemom detektora se mogu dokazati koncentracije supstanci u ispitivanom uzorku od 10-50 ppm iz količine unetog uzorka za ispitivanje od 5 do 10 nl.

Plamenojonizacioni detektori (FID) su veće osetljivosti i mogu detektovati znatno manje koncentracije supstanci od 0,9 do 10 ppm. Rad ovih detektora zasniva se na jonizaciji supstance u plamenu vodonika. Parne elektrode primaju napon, pa zbog izazivanja jonizacije kroz visokoomski otpornik teče struja zavisno od pada napona otpornika. Naponski signal kroz pojačivač odlazi na pisač koji registruje promene nastale jonizacijom. Ovim detektorima se odredjuju samo supstance koje sagorevanjem daju CO_2 . Plemeniti gasovi, jedinjenja silicijuma koja ne sadrže ugljenik, kao ni H_2O , H_2S , CO , CO_2 , CS_2 , H_2 i O_2 ovim detektorima se ne mogu dokazati.

Zahvaljujući činjenici da se sa plamenojonizacionim detektorima ne može odredjivati količina vode kod analize organskih supstanci mogu se ponekad upotrebiti i vodeni rastvori. Voda kod detektovanja ne smeta ni kod jedinjenja koja imaju ista retenciona vremena kao i voda.

Osetljivost detektora se može izračunati iz hromatografskih podataka sledećim izrazom:

$$S(\text{ml}_x \text{mV/mg}) = \frac{A \cdot C_1 \cdot C_2 \cdot C_3}{W} \quad (1)$$

A = površina pika u cm^2

C_1 = osetljivost pisača u mV po cm papira

C_2 = brzina kretanja papira u min/cm

C_3 = brzina protoka gasa na izlazu iz kolone ml/min
korigovana na temperaturu kolone

W = količina unetog uzorka u kolonu za razdvajanje.

Osetljivost detektora se izražava minimalnom količinom uzorka koju detektor može da registruje pri odredjenim radnim uslovima. Veoma osetljivi jonizacioni detektori imaju osetljivost 10^{-7} mikrograma, dok TC-detektori imaju osetljivost samo 2 mikrograma.

5. Uredjaj za registraciju

Signal sa detektora prenosi se preko elektronskog pojačala na pisač. Brzina pokreta papira na pisaču direktna je mera za vreme izlaska pojedinih komponenti iz kolone za razdvajanje. Da tačnost dobijenih rezultata bude u granicama $\pm 0,2\%$, pisač mora posedovati visoku reproduktivnost otklona pera pisača, linearnu skalu i tačno kontrolisan pokret pera pisača i papira što ispunjava elektronski elektrograf-kompenzograf. Dobri su oni pisači koji imaju puni otklon skale koji odgovara 0-1 mV.

6. Radna temperatura

Za dobar uspeh gasnehromatografskih ispitivanja - analiza od značaja je radna temperatura kolone stuba za razdvajanje komponenti iz ispitivane smeše. Za svaku vrstu aromatskog materijala postoji jedna optimalna temperatura kolone za razdvajanje koja omogućava koloni da relativno brzo razdvoji smešu nekog jedinjenja na spojeve. Porastom temperature efekat razdvajanja slabi, vreme isparavanja i prolaska komponenti kroz kolonu je kraće. Eksperimentalno je dokazano da se retenciona zapremina V_g eksponencijalno smanjuje sa porastom temperature T , te za takav slučaj važi izraz

$$\log V_g \sim \frac{1}{T} \quad (2)$$

Na osnovu termodinamičkog razmatranja dolazi se do jednačine

$$\log V_g = \frac{H_s}{2,3 \cdot R \cdot T} + C \quad (3)$$

V_g = specifična retenciona zapremina

H_s = parcijalna molarna toplota isparavanja ispitivane materije u rastvoru

R = gasna konstanta = 1,987 cal/gram, mol

T = temperatura kolone u °K

C = konstanta

Kod nekih slučajeva radna temperatura kolone može biti za 50 do 100°C ispod tačke ključanja supstance, pod pretpostavkom da je napon para supstance na toj temperaturi dovoljno visok, da su male količine uzorka koje kod FID detektora lakše isparavaju.

Kod kvalitativnih i kvantitativnih analiza potrebno je da temperatura bude konstantna ili programirana po strogo odredjenom programu. Zbog toga većina gasnih hromatografa ima vazdušni termostat koji omogućava brzo zagrevanje kolone za razdvajanje. Programirana temperatura primenjuje se kod analize takvih supstanci čije komponente isparavaju u intervalu velikih temperaturnih granica, što omogućava skraćenje vremena potrebnog za izvodjenje analize.

Optimalna temperatura kod izotermnog rada u gasnoj hromatografiji odgovara programiranoj gasnoj hromatografiji prema sledećem izrazu:

$$H = \frac{dT}{dt} \quad (\text{°C/min}) \quad (4)$$

Kod linearno programirane temperature u gasnoj hromatografiji za ukupnu retencionu zapreminu važi izraz:

$$V_{dr}^{P,T} = \int_0^t F_0 \cdot dt \quad (5)$$

Za optimalne uslove rada kod programiranja temperature zavisnost grejanja i brzine protoka gasa nosača može se predstaviti izrazom:

$$\frac{H}{F} = \int_{T_0}^{T_r} \frac{1}{V_{dr}} \cdot dT \quad (6)$$

T_0 = početna temperatura

T_r = retencionna temperatura.

7. Kvantitativni odnosi i teorijske definicije

Za korišćenje gasnehromatografske metode kod ispitivanja aromatskih materija potrebno je razjasniti kvantitativne

odnose između provedljivosti kolone za razdvajanje i nekih parametara koji su u direktnoj zavisnosti od efikasnosti razdvajanja na koloni, kao što su:

t_{dr} = je vreme ukupnog zadržavanja supstance (x) u koloni za razdvajanje, koje se zove "ukupno retenciono vreme"

Ukupno retenciono vreme čini:

t_d = vreme koje provodi supstanca u gasnoj fazi tj. čisto vreme putovanja supstance kroz zapremine gasa u koloni i put smeše koja se ispituje.

t_r = čisto vreme boravka supstance (x) u tečnosti za razdvajanje ili na površini adsorbensa.

Ukupno retenciono vreme može se dobiti izrazom:

$$t_{dr} = t_d + t_r \quad (7)$$

Ako brzinu fluida označimo sa F, onda je zapremina proboja supstance

$$V_d = F \cdot t_d$$

ukupna retenciona zapremina

$$V_{dr} = F \cdot t_{dr}$$

retenciona zapremina

$$V_r = F \cdot t_r$$

Zbog kompresibilnosti gasova i uticaja gasnih zakonika gornje izraze treba korigovati i preračunati na definisane uslove.

Korekcionni faktor pritiska = f izražava se sledećim izrazom:

$$f = \frac{3}{2} \frac{\left(\left(\frac{P_i}{P_o} \right)^2 - 1 \right)}{\left(\left(\frac{P_i}{P_o} \right)^3 - 1 \right)} \quad (8)$$

P_i = pritisak na ulazu u kolonu

P_o = pritisak na izlazu iz kolone

Podaci o pritisacima treba da budu apsolutni i izraženi u (ata) ili Torima.

Temperatura korekcije protoka gasa na temperaturu kolone za razdvajanje izražena je obrascem:

$$F_s = F_m \cdot \frac{T_s}{T_m} \quad (9)$$

F_s = brzina strujanja gasa nosača kroz kolonu

F_m = protok gasa na temperaturi u momentu merenja

T_s = temperatura kolone u momentu merenja

T_m = temperatura gasa nosača

Potpuno korišćovana formula za izračunavanje retencione zapremine data je izrazom:

$$V_{dr}^{(P,T)} = t_{dr} \cdot f \cdot F_m \cdot \frac{T_s}{T_m} \quad (10)$$

Zapremina gasa u koloni data je izrazom:

$$V_r^{(P,T)} = V_G \quad (11)$$

pa je prema tome korigovana zapremina lata izrazom:

$$V_r^{(P,T)} = t_{dr} \cdot f \cdot F_m \cdot \frac{T_s}{T_m} \quad (12)$$

Korigovana retenciona zapremina zavisi i od količine tečnosti za razdvajanje kao i količine adsorbensa. Da se ove promenljive učine konstantnim izračunava se specifična retenciona zapremina na 1 gr stacionarne faze kod 273°K, koji je dat izrazom:

$$V_r = \frac{V_r^{(P,T)} \cdot 273}{W_2 \cdot T_s} \quad (\text{ml/h}) \quad (13)$$

W_2 = količina stacionarne faze

Koeficijent raspodele je odnos po kome se supstance raspoređuju između tečne faze za razdvajanje i gasa nosača i dat je izrazom:

$$K = \frac{\text{gram materije u 1 ml tečnosti za razdvajanje}}{\text{gram materije u 1 ml gasa nosača}} \quad (14)$$

Između retencione zapremine i koeficijenta raspodele supstance postoji određena zavisnost koja je data izrazom:

$$V_r^{(P,T)} = K \cdot V_L(T_s) \quad (15)$$

$$V_1 = \frac{W_L}{L(T_s)}$$

$L(T_s)$ = gustina stacionarne faze data je izrazom:

$$L(T_s) = (293) \{1 + (T_s - 273) \cdot 10^{-3}\} \quad (16)$$

Martin i Synge (72) su uveli pojam teoretskog stepena razdvajanja, definišući time sposobnost kolone za razdvajanje. Broj teoretskih stepeni razdvajanja izračunava se izrazom:

$$n = 8 \cdot \ln 2 \cdot \left(\frac{t_{dr}}{b_{1/2}} \right)^2 \quad (17)$$

Odavde se dobija:

$$n = 5,54 \cdot \left(\frac{t_{dr}}{b_{1/2}} \right)^2 \quad (18)$$

U literaturi se može naći i drugi izraz za izračunavanje broja teorijskog stepena razdvajanja

$$n = 16 \left(\frac{t_{dr}}{W} \right)^2 \quad (19)$$

W = širina Gausove krive, nastala iz tačke preseka obe prethodne tangente

Rešenjem ove jednačine i zamenom konstanti dobija se konačno rešenje jednačine 19, jednačina 20 za broj teorijskih stepena razdvajanja. Visina teorijskog stepena razdvajanja je odnos proširenja pika za retencijsko vreme prema dužini kolone za razdvajanje koji je dat izrazom:

$$HTS = 180,5 \left(\frac{b_{1/2}}{t_{dr}} \right)^2 \cdot L \text{ (mm)} \quad (20)$$

gde je L izraženo u m.

Visina teorijskog stepena odvajanja može primenom podesnih obrazaca da se izračuna i ona zavisi od vrste i finocće punila, od čega zapravo zavisi homogenost pakovanja

stacionarne faze u koloni za razdvajanje. U praksi se pokazalo pogodnim da se radi sa kolonom koja je punjena stacionarnom inertnom fazom veličine zrna 0,2 do 0,3 mm. Ovo je zbog toga što grubi materijal ima veću permeabilnost (propustljivost). Permeabilnost je otpornost koje punjenje čini strujanje gasa nosača i supstanci u gasnom stanju, jer zajedno sa viskozitetom nosača deluje na pad pritiska u koloni za razdvajanje. Porast koeficijenta difuzije gasa smanjuje maksimalan uticaj kolone za razdvajanje, a preko njega raste i visina teorijskog stepena razdvajanja (HTS). Veliku moć difuzije u koloni imaju H_2 i He , dok N_2 i CO_2 imaju malu moć difuzije. Ove razlike u difuziji pojavljuju se samo kod malih protoka gasa nosača. Kako je difuzija obrnuto proporcionalna pritisku gasa nosača, preporučljivo je raditi sa većom brzinom protoka gasa nosača, tj. sa većim pritiskom gasa. Moć razdvajanja kolone opada polako sa porastom protoka gasa.

Uticaj temperature na sposobnost kolone za razdvajanje je u velikoj zavisnosti koja se može predstaviti izrazom

$$k' = k \cdot \frac{V_1}{V_g} \quad \text{gde je } k = \frac{v_r^{P,T}}{V_1}$$

$$k' = \frac{v_r^{P,T}}{V_1} \cdot \frac{V_1}{V_g} = \frac{v_r^{P,T}}{V_g} = \frac{t_r}{t_d} \quad (21)$$

Ako je $k' = 1$ faktor $k'/(1+k')^2$ ima maksimalnu vrednost 0,25. Normalna vrednost k' je veća od 1 i opada porastom temperature, tako da $k'/(1+k')^2$ raste i utiče na kapacitet kolone za

razdvajanje. S druge strane raste difuzioni koeficijent sa porastom temperature D_{fC} usled čega dolazi do smanjenja viskozi-teta tečnosti. Kod analitičkih kolona broj teoretskih stepeni može da dostigne 2000 do 5000, a u specijalnim slučajevima i do 50.000 teoretskih stepeni.

Kod optimalne brzine protoka gasa nosača postiže se optimalna moć razdvajanja komponenti na koloni. Zato je potrebno eksperimentalno odrediti brzinu protoka gasa nosača pod drugim konstantnim uslovima koji će dati najbolji efekat razdvajanja na koloni.

8. Prikaz rezultata gasne hromatografije

a) Kvantitativne analize

Kod kvantitativnog ocenjivanja gasnog hromatograma polazi se od činjenice da površina jednog maksimuma (pika), predstavlja meru koncentracije te supstance. Kod nekih slučajeva može se koristiti visina pika kao kvantitativna mera za određivanu supstancu kada je potrebno orijentaciono brzo određivanje. Ovaj način je moguć samo u slučajevima kada su pikovi simetrični i radni uslovi konstantni (temperatura, protok gasa, ista kolona i punjenje i ista količina unetog uzorka).

Površina pika opisuje ukupan proces eluiranja supstance, dok visina označava specifičnu tačku eluiranja tj. maksimum koncentracije supstance koja izlazi iz kolone. Zato je bolji način kvantitativnog određivanja integracija krive koja čini pik, a može se izvršiti na više načina:

- planimetriranjem
- množenjem visine pika širinom na polovini visine pika, što se češće koristi
- elektronskim integratorom

Kvantitativno određivanje se može izvesti i pomoću indirektnih metoda.

Direktne metode ocenjivanja hromatograma izvode se pomoću kalibracione krive koja se napravi od supstanci poznate koncentracije i eluira pod istim uslovima pod kojima će se eluirati i nepoznata supstanca. Dobijene vrednosti iz testa hromatograma se grafički predstavljaju u zavisnosti od koncentracije test supstanci. Test supstance moraju biti u istom agregatnom stanju u kome će biti i uzorci koji se analiziraju.

Baždarna kriva tečnih i čvrstih supstanci priprema se tako da se supstanca izmeri na preciznoj vagi, pa se iz odvage direktno izračuna koncentracija test smeše u procentualnim odnosima. Test supstance se rastvore u pogodnom rastvaraču i za hromatografisanje se uzima uvek ista količina kao i nepoznate supstance koja se ispituje, što će dati kvantitativni i kvalitativni odgovor za analiziranu supstancu, ako je ima u nepoznatoj supstanci.

Kod izrade baždarne krive površine pikova se daju u funkciji koncentracije test supstance u težinskim procentima.

Indirektne metode ocenjivanja hromatograma

Metoda površine. Najpodesnija je za kvantitativno određivanje. Upoređenjem dobijene površine pikova dobija se

dobar medjusobni odnos razdvojenih supstanci iz analiziranog uzorka. Ova metoda polazi od pretpostavke da iste količine ispitivane supstance daju istu površinu pikova, kod istih osjetljivosti detektora. Pojedinačne površine se uporede sa ukupnom površinom svih pikova i tako dobiju relativni odnosi za svaki pik-komponentu. Ovi površinski procenti približno odgovaraju težinskim procentima uz izvesnu korekciju. Egzaktno se može uzeti samo u slučaju kada se ispituju materije koje pripadaju istom homologom redu. Heterogene smeše moraju se prethodno proveriti sa čistim supstancama da se eksperimentalno proveriti da li površinski procenti odgovaraju težinskim procentima.

Specifični korekcionni faktori kod ove metode izračunavanja površina, kod analize heterogene smeše ne daju dobre rezultate. U ovom slučaju bolje je odrediti pogodne korekcijske faktore. Polazi se od test supstance poznate koncentracije, gde je čistoća svake supstance koja učestvuje u test supstanci prethodno određena. Korekcionni faktori se izračunavaju kada se od vaga pomnoži sa čistoćom supstance i dobije korigovana od vaga, pa se tek onda izračunaju težinski procenti. Posle snimljenog hromatograma za svaku supstancu se izračuna površina i pretvori u težinski procenat.

Koeficijent za korekciju se dobija deljenjem težinskih procenata sa površinskim procentima za svaku supstancu i označi kao (q). Množenjem dobijenih površina za svaku test supstancu sa koeficijentom dobija se korigovana površina u %.

Korekcionni faktor dobija se uvrščavanjem dobijenih vrednosti u izraz:

$$\text{Korekcionni faktor (f)} = \frac{\text{težinski \%}}{\text{površinski \%} \cdot o} \quad (22)$$

Kod svakvog načina izražavanja tačnost je povećana ako u test supstanci ima više komponenti.

Metod unutrašnjeg standarda

Koristi se kod indirektnih metoda kvantitativnih analiza gasnom hromatografijom, tako što se u nepoznatu smešu supstanci doda strogo određena količina poznate supstance, pa se na osnovu nje odredi odnos nepoznatih supstanci u kvantitativnom pogledu. Osetljivost aparata treba da bude konstantna ili se računskim putem koriguje na konstantnu osetljivost. Po- desno je napraviti i baždarnu krivu u koju se unosi koeficijent markirane supstance u zavisnosti od koncentracije.

b) Kvalitativne analize

Identifikovanje nepoznatih supstanci u gasnoj hromatografiji. Izvodi se iz gasnog hromatograma koji čine pikovi analiziranih supstanci. Analizirani uzorak ima onoliko pikova, na hromatogramu, kod određene osetljivosti aparata i moći razdvajanja primenjene kolone koliko ih gradi ispitivanu smešu. Ni- je isključeno da jedan pik ne čini samo jedna supstanca, pik može biti sastavljen i iz više supstanci sličnih fizičko-hemijskih osobina. Ovakav pik se naziva adiran i uvek je asimetričan.

Da li jedan pik predstavlja samo jednu supstancu može se proveriti kada se hod sumnjivog pika na poluširini

uporedi sa vrednošću poluširine koja se dobija iz ukupnog retencionog vremena i broja teorijskih podova. Ovo uporedjenje se izvodi po izrazu:

$$b_{1/2} \approx t_{dr} \frac{5,54}{n} \quad (23)$$

Kada je pik nesimetričan i širi od računate vrednosti, $b_{1/2}$ onda taj pik sadrži više od jedne supstance. Ova činjenica se može proveriti i na taj način da se predstavi poluvreme kao funkcija retencionog vremena, grafički dato izrazom:

$$b_{1/2} = f(t_r) \quad (24)$$

Ova funkcija predstavlja pravu gde poluvreme jednog pika, koji se sastoji iz više komponenti, leži izvan prave.

Direktna metoda identifikacije

Ova metoda je mnogo sigurnija, izvodi se hvatanjem i kondenzovanjem pojedinačnih komponenti koje su se razdvojile na koloni. Komponente se hvataju na neku inertnu supstancu duboko hladjenu u cilju brže i potpunije kondenzacije. Uhvaćena komponenta se identifikuje primenom infracrvene spektrofotometrije, masene spektrografije, određivanjem indeksa prelamanja ili tačke ključanja. Izdvojena komponenta može se identifikovati i elementarnom analizom na osnovu odnosa C.O.N.H.

Identifikacija pomoću gasnohromatografskog spektra

Franc i Mihajlova (78) razradili su posebnu metodu za identifikaciju supstanci gasnom hromatografijom. Ovo određivanje sastoji se u tome da se supstance šalju kroz četiri paralelno vezane kolone napunjene stacionarnim fazama različite polarnosti (3,5-dinitrobenzil ester trimetilen glikol butirata, polietilen glikol adipata, silikon elastomer E 301 i metilfenil-silikonske ulje). Dobijeni hromatogrami iz ovih kolona čine snop gasnohromatografskih linija, koje autori zovu "hromatografski spektar". Maksimumi pojedinih pikova na ovom spektru su jedan do drugoga na različitom rastojanju. Upoređenjem ovih spektara sa spektrima test supstanci identifikuju se nepoznate komponente.

Eksperimentalno je dokazano da ne postoje supstance čiji bi hromatografski spektri bili identični, pa je zamenjivanje supstanci ovim načinom identifikacije isključeno.

Identifikacija poredjenjem gasnohromatografskih spektara moguća je samo kod gasnih hromatografa koji rade dvokanalskom tehnikom, vezivanjem analitičke kolone preko trokrake slavine sa četiri paralelno postavljene kolone.

Identifikovanje tankoslojnom hromatografijom

Janak i Keiser (79, 80) su opisali kombinaciju gasne hromatografije i tankoslojne hromatografije za identifikaciju aromatskih komponenti. Kod ovakvog načina identifikacije na izlazu iz kolone, jedan deo gasne faze sa supstancama se

pomoću podesnog "splittera" (razdvajača) u obliku slova T nanosi na ploču tankoslojnog hromatograma. Samo manji deo gasne faze, cca 10% vodi se na detektore.

Gasna faza koja izlazi iz kolone nanosi se na tanki sloj u vidu tačke. Kretanjem ploče za nanošenje može se upravljati kontaktom na pisачu. Pokretanjem ploče sa tankim slojem za svaki pik na hromatogramu dobije se odgovarajuća mrlja na tankom sloju. Ploča sa nanetim supstancama se na uobičajen način razvija.

Uporedjivanjem tankoslojnog hromatograma i gasnog hromatograma može se potvrditi da li su supstance iz gasnehromatografske analize na tankoslojnom hromatogramu na koji su pored ispitivanih supstanci uporedo nanete i test supstance za koje se sumnja da se nalaze u uzorku koji se ispituje.

Kvalitativna hemijska analiza na izlazu iz kolone gasnog hromatografa

Walsh i Marrit (81, 82), su za identifikacije primenili specifične bojene reakcije. Na izlazu iz kolone priključen je splitter koji gas uvodi u više staklenih posuda sa različitim hemijskim reagensima koji reaguju kao indikatori sa pojedinim supstancama. Za alkohole indikator je 0,5 ml 1,5 n HNO_3 + 1 kap 1% $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Ako u ispitivanoj supstanci ima više od 20 gama alkohola rastvor se oboji plavo.

Za aldehide reagens je 10 kapi sveže pripremljenog Schiffovog reagensa. Koncentracija od 50 gama aldehida rastvor

oboji purpurno. Ketoni i aldehidi se određuju reagensom, 10 kapi rastvora 2,4-di-nitrofenilhidarzina. Ako izdvojena komponenta ima više od 20 gama aldehida, rastvor požuti. Estri se identifikuju reagensom: 10 kapi 1n NH_2OH , HCl rastvor u metanolu 3-4 kapi 2n alkoholnog rastvora KOH (dok rastvor ne postane plav). Posle apsorpcije gasa iz kolone u reagens se doda 2-6 kapi 2n HCl, dok rastvor ne postane bistar i bezbojan, kada se doda 1-2 kapi 10% rastvora FeCl_3 u vodi. Komponenta koja ima više od 20 gama estra rastvor oboji crveno. Alkil halogenidi reaguju sa 10 kapi 2% alkoholnog rastvora AgNO_3 , dajući beo talog, ako je koncentracija alkilhalogenida veća od 20 gama.

Diferencijalne metode identifikacije

Ova metoda identifikacije zahteva stalno ponavljanje snimanja hromatograma iste supstance uz sukcesivno eliminisanje pojedinih hemijskih grupa koje grade aromu uzorka. Odsustvo pojedinih pikova kod ponovljene analize siguran je znak da izostali pikovi pripadaju hemijskoj grupi koja je prethodno eliminisana iz arome. Ovaj metod se zove "metod sistematske eliminacije". Pojedine hemijske grupe se pogodnom tehnikom frakcionisanja izdvoje iz uzorka, pa se uzorak posle eliminacije snimi ili se snimi izdvojena hemijska grupa. Ovaj metod identifikacije korišćen je u ovom radu usled tehničkih nemogućnosti da se primeni savremeniji.

Ovom tehnikom se mogu razdvojiti ugljovodonici pravih lanaca od ugljovodonika koji imaju bočne lance.

oboji purpurno. Ketoni i aldehidi se odredjuju reagensom, 10 kapi rastvora 2,4-di-nitrofenilhidarzina. Ako izdvojena komponenta ima više od 20 gama aldehida, rastvor požuti. Estri se identifikuju reagensom: 10 kapi 1n NH_2OH , HCl rastvor u metanolu 3-4 kapi 2n alkoholnog rastvora KOH (dok rastvor ne postane plav). Posle apsorpcije gasa iz kolone u reagens se doda 2-6 kapi 2n HCl, dok rastvor ne postane bistar i bezbojan, kada se doda 1-2 kapi 10% rastvora FeCl_3 u vodi. Komponenta koja ima više od 20 gama estra rastvor oboji crveno. Alkil halogenidi reaguju sa 10 kapi 2% alkoholnog rastvora AgNO_3 , dajući beo talog, ako je koncentracija alkil-halogenida veća od 20 gama.

Diferencijalne metode identifikacije

Ova metoda identifikacije zahteva stalno ponavljanje snimanja hromatograma iste supstance uz sukcesivno eliminisanje pojedinih hemijskih grupa koje grade aromu uzorka. Odsustvo pojedinih pikova kod ponovljene analize siguran je znak da izostali pikovi pripadaju hemijskoj grupi koja je prethodno eliminisana iz arome. Ovaj metod se zove "metod sistematske eliminacije". Pojedine hemijske grupe se pogodnom tehnikom frakcionisanja izdvoje iz uzorka, pa se uzorak posle eliminacije snimi ili se snimi izdvojena hemijska grupa. Ovaj metod identifikacije korišćen je u ovom radu usled tehničkih nemogućnosti da se primeni savremeniji.

Ovom tehnikom se mogu razdvojiti ugljovodonici pravih lanaca od ugljovodonika koji imaju bočne lance.

Ugljovodonici pravih lanaca se propuštanjem kroz kolonu vežu na molekularno sito, posebno snime, a posebno razgranati ugljovodonici.

Identifikovanje komponenti pomoću retencioni- vremena

Osnovni uslovi za ovakvu identifikaciju su apsolutno isti uslovi rada gasnog hromatografa. Uporedjenjem apsolutnih i relativnih retencioni- vremena nepoznate i poznate supstance donosi se sud o nepoznatoj supstanci - kom hemijskom jedinjenju pripada.

Na sličan način kvalitativna identifikacija se može izvršiti i pomoću retencioni- zapremine gasa nosača koji se iskoristi za eluiranje pojedinačnih komponenti. Merenjem količina gasa nosača preciznim rotametrom dobijaju se retencio- ne zapremine gasa nosača. Uporedjenjem retencioni- zapremine poznatih test supstanci i analiziranog uzorka donosi se sud o određenoj komponenti.

U ovom radu za kvalitativno određivanje je korišćena metoda retencioni- vremena poznatih i ispitivanih kom- ponenti.

II. EKSPERIMENTALNI DEO

II.1. IZBOR MATERIJALA I METODIKA RADA

II.1.1. Izbor materijala za ispitivanje

Za ispitivanje aromatskih materija paprike uzeto je pet sorti paprika: Horgoška slatka I., Rotunda zelena, Čudo Kalifornije, Kurtovska kapja i Pazardžiska kapja.

Rotunda zelena i Čudo Kalifornije spadaju u grupu krupnoplodnih paprika, sa prosečnom težinom plodova cca 100 g. Oblik plodova je kod Rotunde zelene kolačarast, dok je kod sorte Čudo Kalifornije izrazita babura. Boja plodova zavisi od stepena zrelosti i kreće se od zatvoreno zelene preko žućkaste do zatvoreno crvene u stadijumu pune tehnološke zrelosti. Placenta je izrazito debela, slatkog ukusa, karakterističnog za papriku.

Kurtovska i Pazardžiska kapja su takodje krupnoplodne sorte. Oblik plodova je izdužen, zbog čega se ubrajaju u dugoplodne sorte. Na vrhu su malo povijeni u obliku specijalnog noža "kapje". Boja plodova zavisi od stepena zrelosti, i kreće se od zelene do zatvoreno crvene u punoj tehnološkoj zrelosti. Placenta je tanja u poredjenju sa prethodnim, slatkog je ukusa, karakterističnog za papriku.

Navedene četiri sorte imaju veoma veliku primenu. Pored potrošnje u svežem stanju, u industriji za preradu voća i povrća preradjuju se u razne proizvode (biološki kišeljena i marinirana paprika, ajvar, koncentrat i pire, polugotova i gotova jela i sl.).

Horgoška slatka I je stvorena selekcijom i spada u grupu sitnoplodnih paprika. Prosečna težina plodova je 16-20 grama. Osnovna tehnološka namena ove sorte je proizvodnja mlevene sitne paprike i obojenog aromatskog ekstrakta u šta se jedino i preradjuje. Placenta je izrazito tanka, pokrižica gruba, pergamentirana. Plodovi su u punoj tehnološkoj zrelosti zatvoreno crvene, skoro bordo boje. Slatkog je ukusa i sasvim specifičnog mirisa, koji se dosta razlikuje od drugih sorti paprika.

Plodovi su ubrani u punoj tehnološkoj zrelosti, kada su bili crvene boje, sa većeg broja biljaka, da se dobije prosečan uzorak sorte. Kod uzorkovanja je vodjeno računa da materijal potiče sa istog terena i mikroklimata, jer i ovi činioci utiču na kvalitet plodova, pa prema tome i na aromatičnost. Sorta Horgoška slatka I je uzeta sa terena Futog, dok su druge četiri sorte uzete sa terena Srbobran.

II.1.2. Priprema materijala za ispitivanje

Od svake sorte je uzorkovano cca 100 kg. Istog dana, posle 2-3 sata od berbe, pripremani su za dalja ispitivanja, da se smanji naknadno dozrevanje plodova i biološke promene na plodovima.

Probrani i oprani plodovi su na dezintegratoru pretvoreni u kašu koja je odmah zagrejana na 85°C. Zagrevanjem je izvršena inaktivacija prirodnih enzima, i smanjen inicijalni broj mikroorganizama na sirovini.

Kod ispitivanja aromatičnosti pojedinih delova plodova čišćenjem su odstranjeni oni delovi ploda čiju aromatičnost nije trebalo odredjivati. Očišćeni delovi plodova su na gore opisan način pretvoreni u kašu i toplotno tretirani.

Topla kaša od paprika punjena je u oprane i lakom zaštićene limenke od 5 kg neto težine. Limenke su odmah zatvorene i sterilisane u autoklavu na 118°C u toku 30 minuta aktivne sterilizacije. Na ovaj način pripremljena kaša imala je u svim slučajevima iste promene, koje su posledica načina pripreme sirovine.

Do ispitivanja uzorci su čuvani na 12°C, u kondicioniranim uslovima, te su i promene aromatskih materija, nastale tokom čuvanja, verovatno iste kod svih uzoraka.

II.1.3. Dearomatizacija kaše od paprike

Kaša paprike, pripremljena na prethodno opisan način, bila je homogena i viskozna. Usled prisustva bojenih materija, šećera, pektina i ostalih sastojaka kaše, nije bilo moguće direktno ekstrahovati aromatske materije nego je bilo potrebno primeniti takvu metodu izdvajanja kod koje bi se izvojile ukupne aromatske materije paprike, sa zanemarujućim gubicima. Teoretski je nemoguće postići kvantitativno izolovanje i odredjivanje aromatskih materija paprike, pošto plodovi, odmah posle napuštanja matične biljke, počinju naglo da dišu, usled čega dolazi do velikih fizioloških promena svih sastojaka, pa i arome. Za vreme pripreme materijala za dearomatizaciju

i pripreme arome za ispitivanje. neminovno dolazi do izvesnih gubitaka aromatskih materija. Zbog svega toga je potrebno da se metoda dearomatizacije i priprema arome tako podesi da se gubici svedu na najmanju meru.

Wendel i sar. (46) su plodove paprike, koja je transportovana avionom, odmah zamrzavali i liofilizirali. Pare oslobođene liofilizacijom su hvatali i kondenzovali, a kondenzat na pogodan način pripremali za gasnohromatografska ispitivanja. Ovu najsavremeniju metodu iz tehničkih razloga u ovom radu nismo mogli primeniti. Međjutim, Wendel i saradnici se u diskusiji svojih istraživanja ne osvrću da li je i koliko došlo do gubitaka aromatskih materija na relaciji od mesta berbe do zamrzavanja, te i ovako savremena metoda za sada ne daje mogućnost potpune kvalitativne i kvantitativne izolacije, pripreme i određivanja aromatskih materija u plodovima biljaka.

Buttery i sar. (49) su plodove, uzete sa tržnice, pretvarali u kašu koju su dearomatizovali pod vakuumom i na normalnom pritisku sa vodenom parom, a aromatske pare su kondenzovali i dalje analizirali. I ovde je, svakako, došlo do gubitaka aromatskih materija, kako za vreme protokle od berbe do iznošenja na tržnicu, tako i za vreme pripreme i dearomatizacije.

U ovom radu je priprema materijala za dearomatizaciju izvršena na prethodno opisan način (II.1.2.) a dearomatizacija je izvršena na dva načina, bez obzira što su preliminarna ispitivanja pokazala da i kod ovakvog načina dearomatizacije dolazi do neminovnih gubitaka. Prednosti ova dva načina

dearomatizacije biće detaljnije proučeni i opisani u ovom radu.

II.1.3.1. Dearomatizacija kaše destilacijom sa vodenom parom

Ovaj način izdvajanja aromatskih materija iz biogenog materijala dosta se koristi. Nedostatak ovakvog postupka dearomatizacije je u mogućnosti međusobnog reagovanja pojedinih aromatskih komponenti na temperaturi destilacije, pri čemu dolazi do stvaranja novih jedinjenja koja nisu specifična za aromu sveže sirovine - paprike. Zagrevanjem kaše od paprike dolazi do stvaranja furfurola iz šećera, što je dokazano pojavom pika furfurola u aromi paprike. Ovu pretpostavku su potvrdila i ispitivanja Buttery-a (49), koji je prisustvo furfurola kao aromatske komponente u aromi paprike identifikovao primenom masene spektroskopije.

Dearomatizacijom kaše od paprika, destilacijom vodenom parom, usled primene visoke temperature cca 100°C i dužeg vremena delovanja, neminovno dolazi do stvaranja novih komponenti arome. Novonastale komponente daju dearomatizovanoj kaši ukus i miris na kuvano, što nije karakteristično za svežu papriku. Dokaz ovoj pretpostavci je povećanje broja pikova u ukupnoj aromi, što je u ovom radu i potvrđeno. Ovakav način dearomatizacije se može koristiti kod ispitivanja aromatskih materija u svežem materijalu. U onim slučajevima, gde se eksperimentalni materijal mora prethodno pripremiti primenom duže pasterizacije ili sterilizacije, ovakav način dearomatizacije se primenjuje, pošto se polazi od pretpostavke da je do

promena aromatskih materija već došlo.

Dearomatizacija kaše od paprike pomoću destilacije sa vodenom parom, izvedena je na laboratorijskom uređaju, prikazanom na slici br. 4.

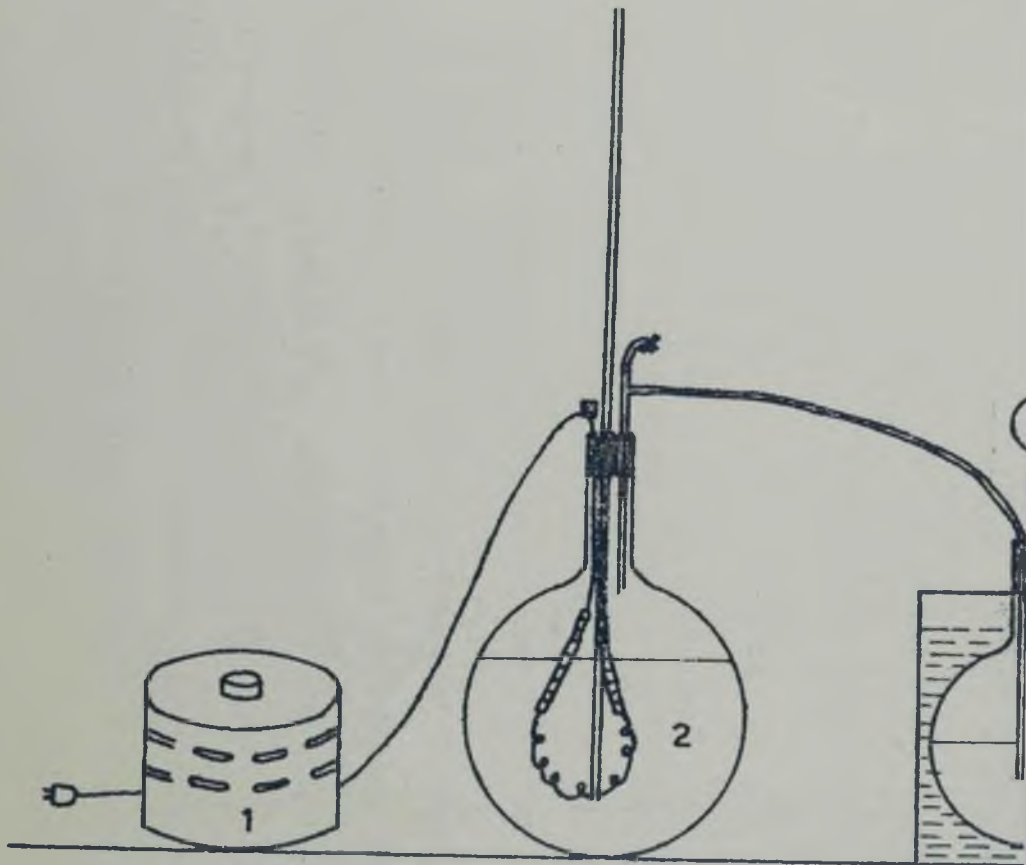
Prethodno pripremljena kaša paprike stavi se u posudu od 5 litara (2). Posuda ima dva grla. U jedno grlo se uvodi vodena para iz parerazvijača sa varijatorom (1), a drugo grlo je izlazno, kroz koje oslobodjene aromatske materije sa vodenom parom odlaze u hladnjak (3). Aromatski kondenzat prihvata se u balon (4) sa dva grla. Posuda sa vodenim aromatskim kondenzatom je hladjena do -30°C u termostatu sa alkoholom (5). Na drugom grlu posude za kondenzat nalazi se rektifikaciona kolona (6), koja vraća nekondenzovane aromatske materije u balon sa kondenzatom arome. Rektifikaciona kolona je spojena sa drugim stepenom za hladjenje (7), koji se hladi alkoholom do -35°C . Na ovaj stepen se nastavlja treći stepen hladjenja (8), koji se hladi tečnim azotom na -196°C . Ovim načinom hladjenja su gubici isparljivih materija, koje teško kondenzuju, svedeni na minimum. Dobijeni aromatski kondenzat se pogodnim postupkom priprema za dalja ispitivanja.

II.1.3.2. Dearomatizacija kaše pod vakuumom u inertnom gasu

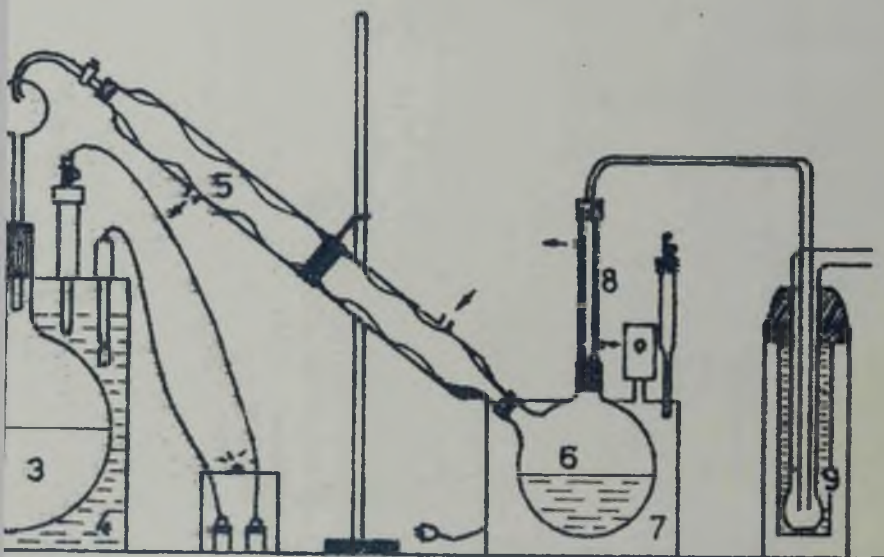
Da bi se izbegli nedostaci prethodne metode i sprečile promene aromatskih materija usled delovanja visokih temperatura i atmosferskog kiseonika, u ovom radu je takodje primenjena dearomatizacija kaše paprike metodom vakuum destilacije arome u atmosferi inertnog gasa azota.

Ovim postupkom je dobijena aroma sa manjim brojem pojedinačnih pikova, o čemu će biti izvešteno kasnije. Promene aromatskih materija su ovakvim načinom destilacije svedene na minimum. Destilacija aromatskih materija pod vakuumom, u atmosferi azota, podesna je za ispitivanje svežeg materijala, polufabrikata i gotovih proizvoda koji u postupku proizvodnje

Slika br.4 LABORATORIJSKI UREĐAJ
VODENOM



ZA DESTILACIJU AROME PAROM



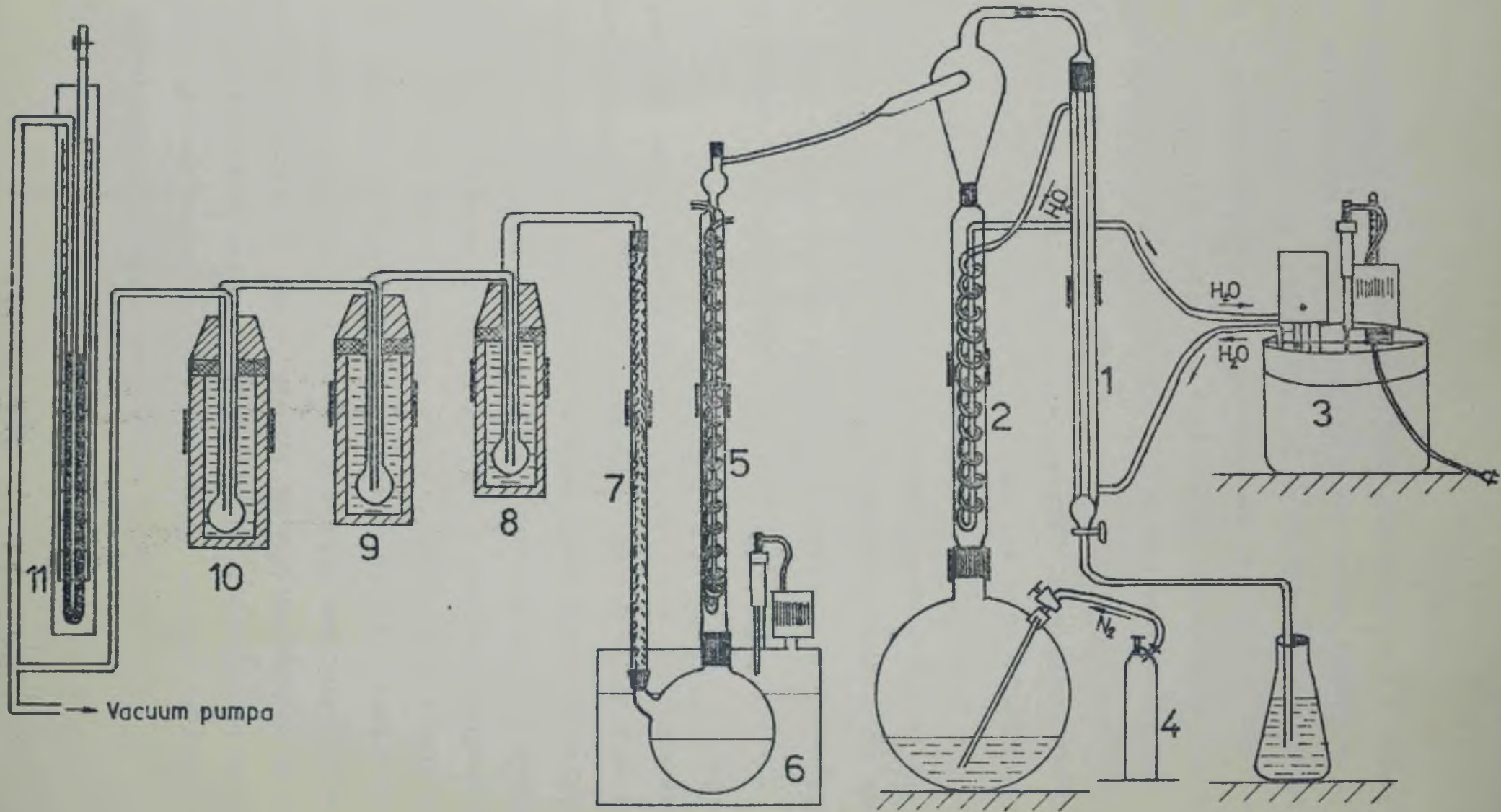
nisu duže termički tretirani. Najveći nedostatak ove metode je delimičan gubitak aromatskih materija usled primene sniženog pritiska i inertnog gasa azota. Iz radova Herz-a (76) vidi se da je autor za dearomatizaciju koristio laboratorijski uređaj sa višestepenim hladjenjem, ali u radu ne izveštava kakvi su efekti dearomatizacije postignuti.

Za destilaciju aromatskih materija iz kaše paprike konstruisan je laboratorijski uređaj za destilaciju arome pod vakuumom u atmosferi inertnog gasa, koji je prikazan na slici br. 5.

Prethodno pripremljena i na koloidnom mlinu, na hladno, homogenizovana kaša paprike, zagreva se u cevnom izmenjivaču toplote od stakla (1). Kaša zagrejana na 60°C se pod vakuumom ekspanduje u ekspanderu (2) i u formi tankog mlaza pada kroz stakleni filmski isparivač (3), koji se greje kao i cevni izmenjivač, pomoću odgovarajućeg termostata, opremljenog uređajem za termoregulaciju (4). Oslobodjene bridove pare odlaze u struji azota, koji protiče u suprotnom smeru od radajućeg filma, na kondenzaciju. Delimično dearomatizovana kaša pada u prijemni balon od 5 litara, u koji se uvodi azot iz čelične boce (5).

Struja azota se tako podesi da gas izaziva stalno barbotiranje kaše, što ubrzava dearomatizaciju. Oslobodjena aroma sa azotom na svom putu kroz uparivač obogaćuje se aromom direktno oslobodjenom primenom toplote. Oslobodjene aromatske pare odlaze u vodeni hladnjak na kondenzaciju (6), a odatle se vodeni kondenzat prihvata u dvogrli okrugli balon, koji se hladi u termostatu za hladjenje sa etanolom, do -30°C . U posudi za prijem vodenog kondenzata arome, veći deo arome sa vodom se odmah zamrzne. Nekondenzovani inertni gas sa manjim delom arome provodi se kroz odgovarajuću kolonu (7), koja sprečava gubitak eventualno nekondenzovanih aromatskih materija. Rektifikaciona kolona je direktno spojena sa drugim stepenom hladjenja (8), koji se hladi alkoholom na -35°C zatim sa trećim stepenom hladjenja (9), koji se hladi alkoholom i tečnim azotom do -90°C i, na kraju, sa četvrtim stepenom hladjenja (10) koji se hladi tečnim azotom na -196°C . Nekondenzovani azot sa manjim delom vlage provodi se kroz apsorpcioni stub od fosforpentoksida, da bi se odstranila vlaga i na taj način izbeglo razredjenje ulja u vakuum pumpi (11). Pritisak se kontroliše živinim manometrom (12).

Slika br.5 LABORATORIJSKI UREĐAJ ZA VACUUMSKU DESTILACIJU AROME



Medjutim, i kod ovakvog načina dearomatizacije postavlja se problem dobijanja kondenzata aroma bez gubitaka. I pored svih nastojanja da se ovim uređjajem izbegnu gubici, mora se konstatovati da se oni samo svode na razumnu meru. Pored ostalih činilaca koji utiču na gubitak aromatskih materija tokom procesa dearomatizacije, u ovom slučaju je gubitak zavisio od visine primenjenog vakuuma. Ukoliko je negativan pritisak u uređjaju bio veći i gubici aromatskih materija bili su veći. Usled toga je, kod destilacije arome u struji azota, bilo dovoljno primeniti manji vakuum, koji je kod dearomatizacije kaše od paprike iznosio 20-30 mmHg, a on je obezbeđivao potreban negativan gradijent i ubrzavao vreme i efekat dearomatizacije.

Za destilaciju je u svim slučajevima uzimano po 2 kg kaše, a destilacija je vršena sve dok se nije dobio 1 litar aromatskog kondenzata. Izuzetak je predstavljao uzorak pri ispitivanju dinamike separiranja aromatskih materija paprike, gde je uzimano po 3 kg kaše paprike. Efikasnost uređjaja za destilaciju arome pod vakuumom u struji azota, kontrolisana je organoleptički, tj. mirisanjem nekondenzovanih azotnih para pre ulaska u vakuum pumpu. Pri tome je konstatovano da i pored ovako rigoroznog hladjenja, u parama azota može da se oseti miris, koji potiče od paprike, ali nije i specifičan na papriku. Ovo je dovoljan dokaz da su neke aromatske materije ipak izgubljene. Razume se da je ovaj gubitak u odnosu na dosada primenjivane načine destilacije (u vakuumu bez dovoljno hladjenja i bez azota ili destilacija vodenom parom) mnogo manji.

U poslednjem stepenu hladjenja kondenzovan je veoma mali deo arome. Ova aroma je snimljena na gasnom hromatografu VARIAN 1800.

Uslovi ispitivanja su bili:

- kolona metalna 4,6 m x 2 mm napunjena 10%-nim CARBOWAX -om 20 M na CHROMOSORB-u W.A.W.DMCS.

- temperatura kolone izotermno na 220°C

- temperatura injektora 250°C

- temperatura detektora 230°C

- gas nosač azot 20 ml/min

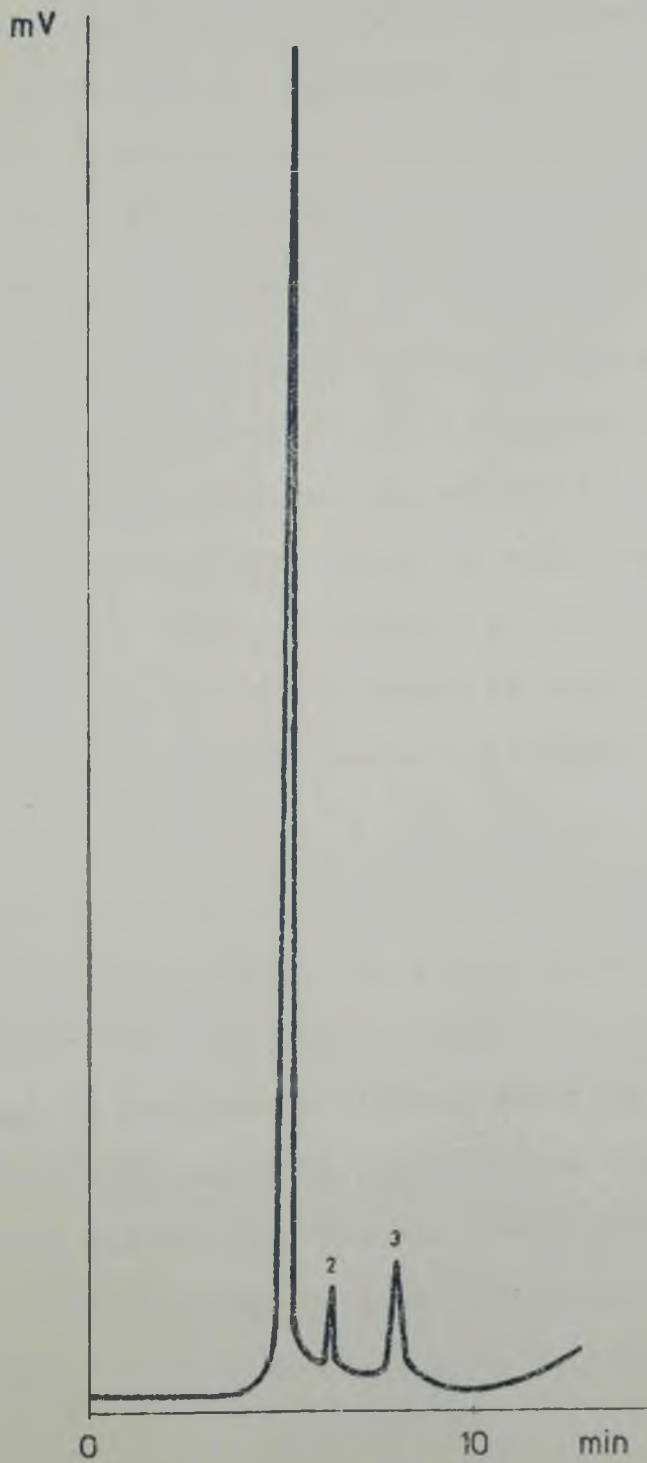
- količina uzorka 1 µl

Rezultati dobijeni ovim ispitivanjem prikazani su na hromatogramu 1. Iz podataka u hromatogramu vidi se da su se u poslednjem stepenu hladjenja (-196°C) kondenzovale tri isparljive komponente, od kojih je jedna u manjoj količini i dve u tragovima, kod maksimalne osetljivosti rada aparata. Ovo je dokaz da su ove isparljive komponente ostale nekondenzovane u prethodnim stepenima hladjenja (-35 do -90°C) i da su se kondenzovale tek kod temperature oca -195°C, što takodje znači da u isparljivim materijama arome paprike ima teško kondenzabilnih materija.

II.1.4. Ekstrakcija aromatskog kondenzata

Aromatski kondenzat je jako razredjen i sadrži uglavnom vodu sa aromatskim materijama koje izrazito mirišu na papriku. Koncentracija aromatskih materija u kondenzatu je

BR.1-HROMATOGRAM FRAKCIJE AROME PAPRIKE KONDENZOVANE NA -196°C



veoma mala i nepodesna za direktno ispitivanje na gasnom hromatografu. U cilju dobijanja odgovarajućih rezultata i nesmetanog razdvajanja na koloni aromatske materije se moraju izdvojiti iz vodenog kondenzata i u koncentrovanom stanju koristiti za ispitivanje na gasnom hromatografu. Aromatske materije se iz kondenzata izdvajaju ekstrakcijom po metodi tečno-tečno, sa raznim organskim rastvaračima. U ovom radu su od organskih rastvarača korišćeni: etiletar, petroletar, n-pentan, i dihlormetan, zavisno od metode ispitivanja.

Ekstrakcija mućkanjem u levku za odvajanje se u preliminarnim istraživanjima pokazala nepodesnom, pošto se za vreme mućkanja rastvarač otparavao na sobnoj temperaturi i zbog povećanja pritiska u levku morao se višak para povremeno ispuštati kroz slavinu levka. Primećeno je da sa parama ekstrakcionog sredstva odlazi i deo aromatskih materija, jer je atmosfera u sobi za ekstrakciju posle ispuštanja para rastvarača mirisala na papriku.

Zbog toga je u ovom radu ekstrakcija tečno-tečno izvršena u boci od jednog litra, sa ravnim dnom, uz stalno mešanje magnetnom mešalicom. Gubitak rastvarača i aromatskih materija izbegnut je dodatkom Allinovog hladnjaka na bocu, čime je postignuto kondenzovanje oslobodjenih para rastvarača. Kod ovakvog načina ekstrakcije nisu se приметili nikakvi mirisi na rastvarač niti na aromu paprike, te je tako verovatno gubitak rastvarača i arome tokom ekstrakcije sveden na minimum.

Svi uzorci su ekstrahovani tri puta i to tako da je prva ekstrakcija trajala dva sata, a ostale po jedan sat. Količina rastvarača je tako podešavana da je na svakih 100 ml vodenog kondenzata arome korišćeno po 50 ml rastvarača. Ukoliko je radjeno sa smešom rastvarača (etiletar:petroletar ili etiletar:n-pentan) onda je uvek korišćen odnos 2:1, tj. dva dela etiletra, jedan deo drugog rastvarača.

Kraj ekstrakcije je kontrolisan pomoću trake filter hartije. Kada se na filter papiru, posle optapanja u vodeni sloj i otparavanja rastvarača, nije više osetio nikakav miris rastvarača, ekstrakcija je prekidana.

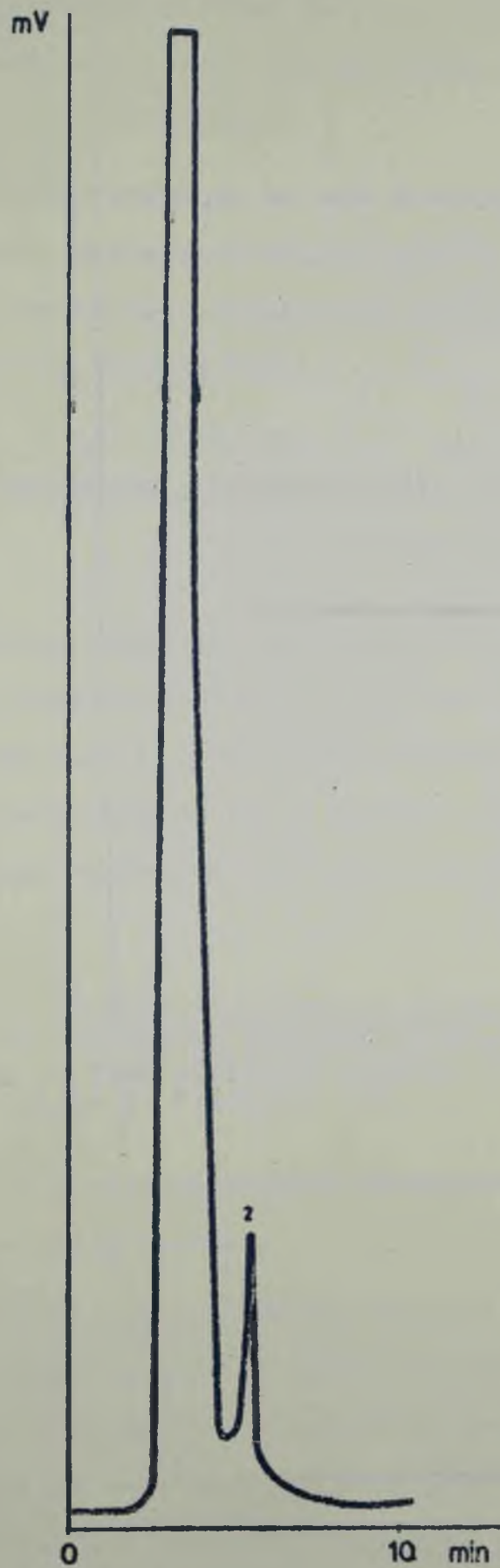
Efekat ekstrakcije proveren je ispitivanjem vodenog ostatka, posle ekstrakcije arome na gasnom hromatografu VARIAN 1800 uz primenu sledećih uslova rada aparata:

- kolona metalna 4,6 m x 2 mm napunjena 10% CARBOWAX-om 20 M na CHROMOSORB-u W.A.W.DMCS 60/72 mesha
- temperatura kolone izotermno na 220°C
- temperatura injektora 250°C
- temperatura detektora 230°C
- gas nosač azot 20 ml/min
- količina uzorka 10 µl

Rezultati dobijeni ovim ispitivanjem prikazani su na hromatogramu broj 2.

Iz prikazanog hromatograma se vidi da je pored rastvarača u vodenom ostatku posle ekstrakcije arome zaostalo samo jedan pik koji je veoma mali kod maksimalne osetljivosti.

2 - HROMATOGRAM EFIKASNOSTI EKSTRAKCIJE



rada aparata. Ovo je svakako potvrda da je prethodno izvedena ekstrakcija aromatskih materija po sistemu tečno-tečno ekstrakcije bila sasvim zadovoljavajuća.

I pod pretpostavkom da su neke komponente i zasotale u vodenom ostatku, posle ekstrakcije njihova koncentracija je zanemarujuća, jer se nisu detektovale ni kod maksimalne osetljivosti rada gasnog hromatografa.

II.1.5. Izdvajanje rastvarača i koncentrisanje aromatskih materija

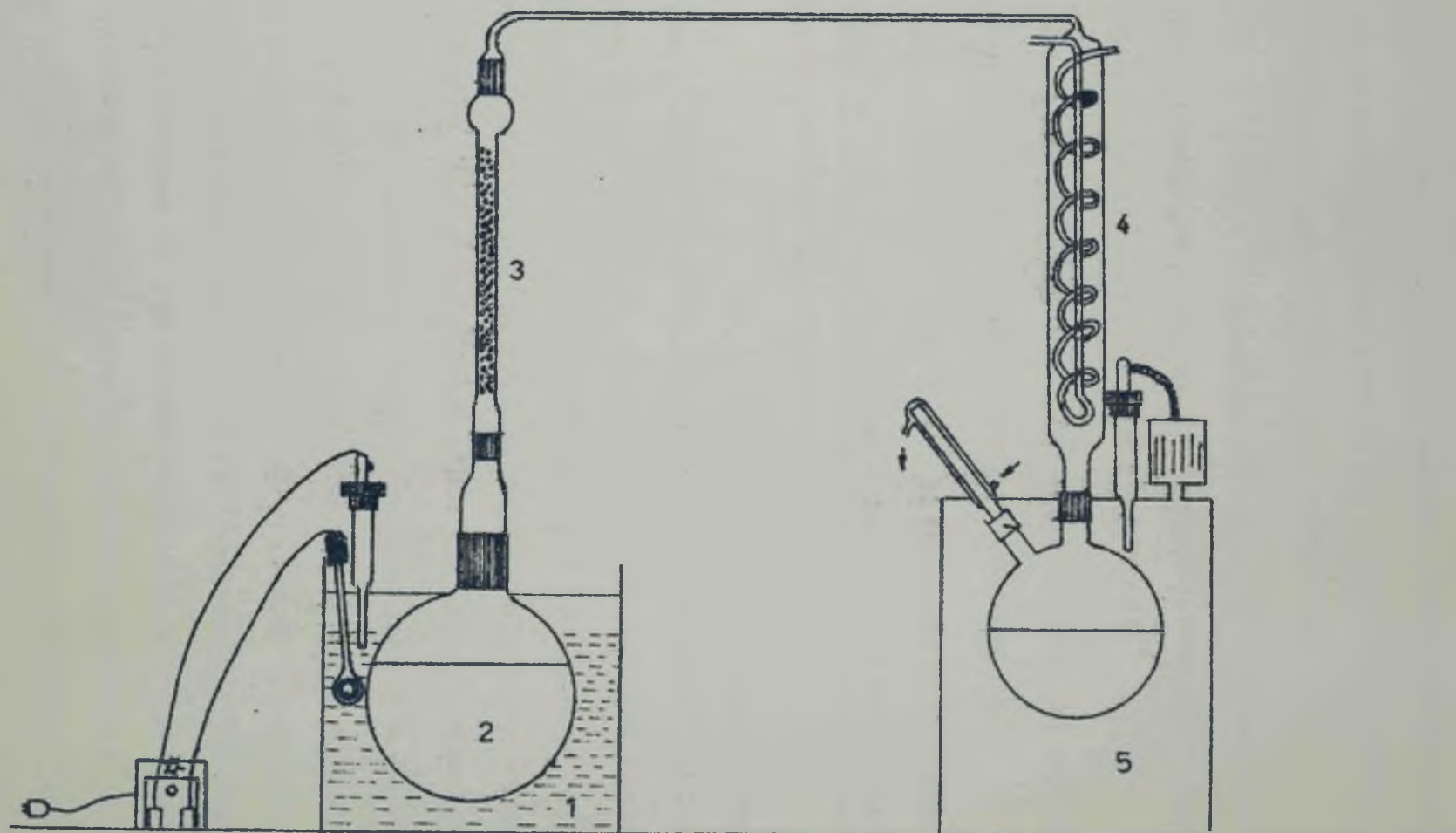
Ekstrakcijom arome iz vodenog kondenzata dobije se "miscela" rastvarača, eteričnih ulja i aromatskih materija, sa manjim količinama vode. Voda iz miscele je odvojena dodatkom uvek istih količina bezvodnog natrijum sulfata. Osušena miscela je zatim oslobođjena rastvarača na laboratorijskom uređjaju, prikazanom na sl. 6.

Uređjaj se sastoji iz posude za zagrevanje sa termostatom (1), staklenog balona sa okruglim dnom od 100 ml (2), rektifikacione kolone punjene staklenim perlama (3), vodenog kondenzatora (4) i sistema za hladjenje (5).

Cilj oslobadjanja rastvarača iz miscele je koncentrisanje aromatskih materija paprike.

Ekstrakt arome sa rastvaračem zagreva se do temperature ključanja rastvarača, koja se podešava termostatom. Pare rastvarača nose sa sobom i deo aromatskih materija koje se kondenzuju u koloni za rektifikaciju i sa delom rastvarača vraćaju u prijemni sud. Čist rastvarač iz kolone prelazi u

SL. BR. 6 LABORATORIJSKI UREDJAJ ZA
DESTILACIJU RASTVARAČA IZ AROME



vodeni hladnjak, kondenzuje se i naknadno hladi u termostatu sa ohladjenim alkoholom. Na ovaj način se izbegava gubitak rastvarača. Otparavanje rastvarača je vodjeno postepenim povećanjem temperature, sa porastom koncentracije aromatskog koncentrata. Pri tome je vodjeno računa da se za vreme rektifikacije rastvarača kolona ne zasiti i propusti aromatske materije u kondenzat rastvarača. Kolona ne sme biti saturirana rastvaračem više od jedne polovine, inače bi propuštala aromatske materije. Dužina kolone se mora eksperimentalno odrediti, a za dobru rektifikaciju rastvarača od aromatskih materija paprike bila je dovoljna rektifikaciona kolona dužine 30 cm, napunjena staklenim cevčicama, dužine 3 mm, prečnika 2 mm. Prečnik kolone je bio 10 mm.

Efikasnost rektifikacione kolone je kontrolisana povremenim potapanjem trake filter hartije u kondenzovani rastvarač i mirisanjem posle otparavanja na sobnoj temperaturi.

Ovakav način povremene kontrole rektifikacije rastvarača iz arome paprike, pokazao se sasvim efikasan.

Sigurniji dokaz efikasnosti rektifikacije rastvarača na primenjenoj koloni dobijen je snimanjem otparenog rastvarača na gasnom hromatografu.

Snimljeni su svi korišćeni rastvarači nakon rektifikacije rastvarača iz arome paprike. Za snimanje je korišćen gasni hromatograf VARIAN 1800, a za snimanje je uvek uzimano po 0,1 μ l rastvarača. Uslovi rada i punjenja kolone su bili isti kao i u prethodnom slučaju, kod kontrole vodenog kondenzata. Rezultati provere efikasnosti rektifikacije rastvarača

iz arome paprike prikazani su na hromatogramu br. 3.

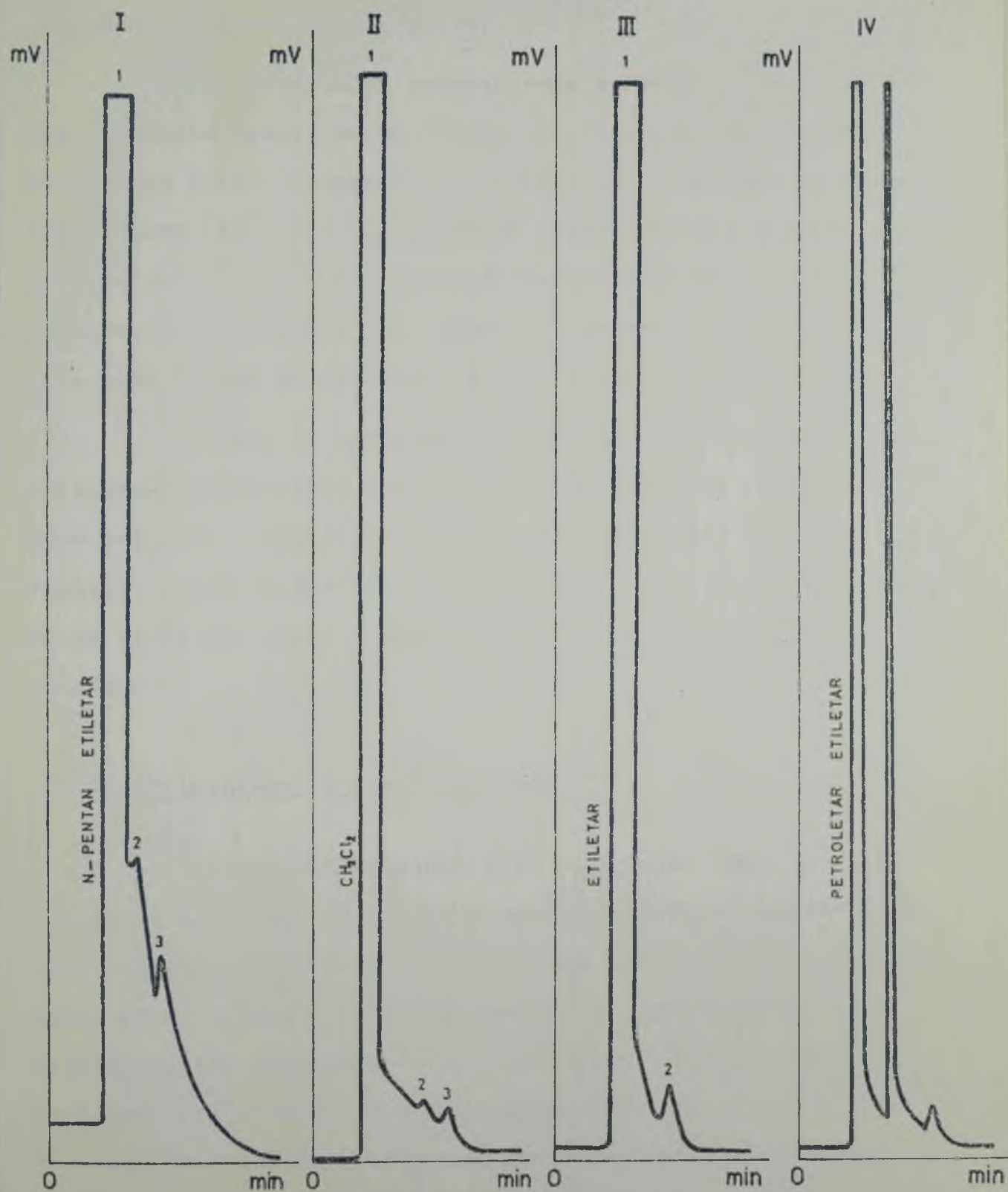
Iz rezultata prikazanih u hromatogramu vidi se da je u svim slučajevima rektifikaciona kolona efikasno razdvojila aromatske materije od upotrebljenih organskih rastvarača.

Kod ekstrakcije arome sa smešom etiletar:n-pentan, pored zajedničkog pika oba rastvarača, dobijena su još dva pika kod maksimalne osetljivosti rada aparata. Naknadnom proverom sa čistom smešom rastvarača ustanovljeno je da pik 2 i 3 potiče od etiletra. Isti je slučaj i sa dihlormetanom kod koga se, pored osnovnog pika, javljaju još dva pika u tragovima koji verovatno potiču od rastvarača. Kod ekstrakcije sa etil- etrom, dobijena su dva pika. Oba potiču od rastvarača, što je potvrđeno naknadnim snimanjem etiletra. Dobar efekat rektifikacije rastvarača je dobijen i kod korišćenja smeše petrol- etra i etiletra, jer je hromatogram pokazao da u rastvaračima nije nadjena ni jedna aromatska supstanca, jer sva tri pika potiču od rastvarača.

Rastvarač i aroma su lako isparljivi i kod bilo kakve manipulacije dolazi do oslobađanja para rastvarača, koji sa sobom nosi i aromatske materije. Eksperimentalno je dokazano da koncentrat arome iznet iz komore za zamrzavanje (-18°C) kod otvaranja na sobnoj temperaturi odaje miris na rastvarač i aromatske materije koje su specifične za papriku.

Dokaz većeg gubitka aromatskih materija može se dobiti ako se snimanje izvrši uzorkom dobijenim bez otvaranja posude sa aromom na sobnoj temperaturi i hvatanjem gasne faze iznad uzorka arome. Gasnohromatografsko određivanje je

Br. 3 - HROMATOGRAM EFIKASNOSTI ODVAJANJE RASTVARAČA IZ AROME PAPRIKE



tako izvršeno na aparatu VARIAN 1800 na koloni i pod radnim uslovima koji su prethodno opisani (II.1.5.). Rezultati su prikazani na hromatogramu br. 4.

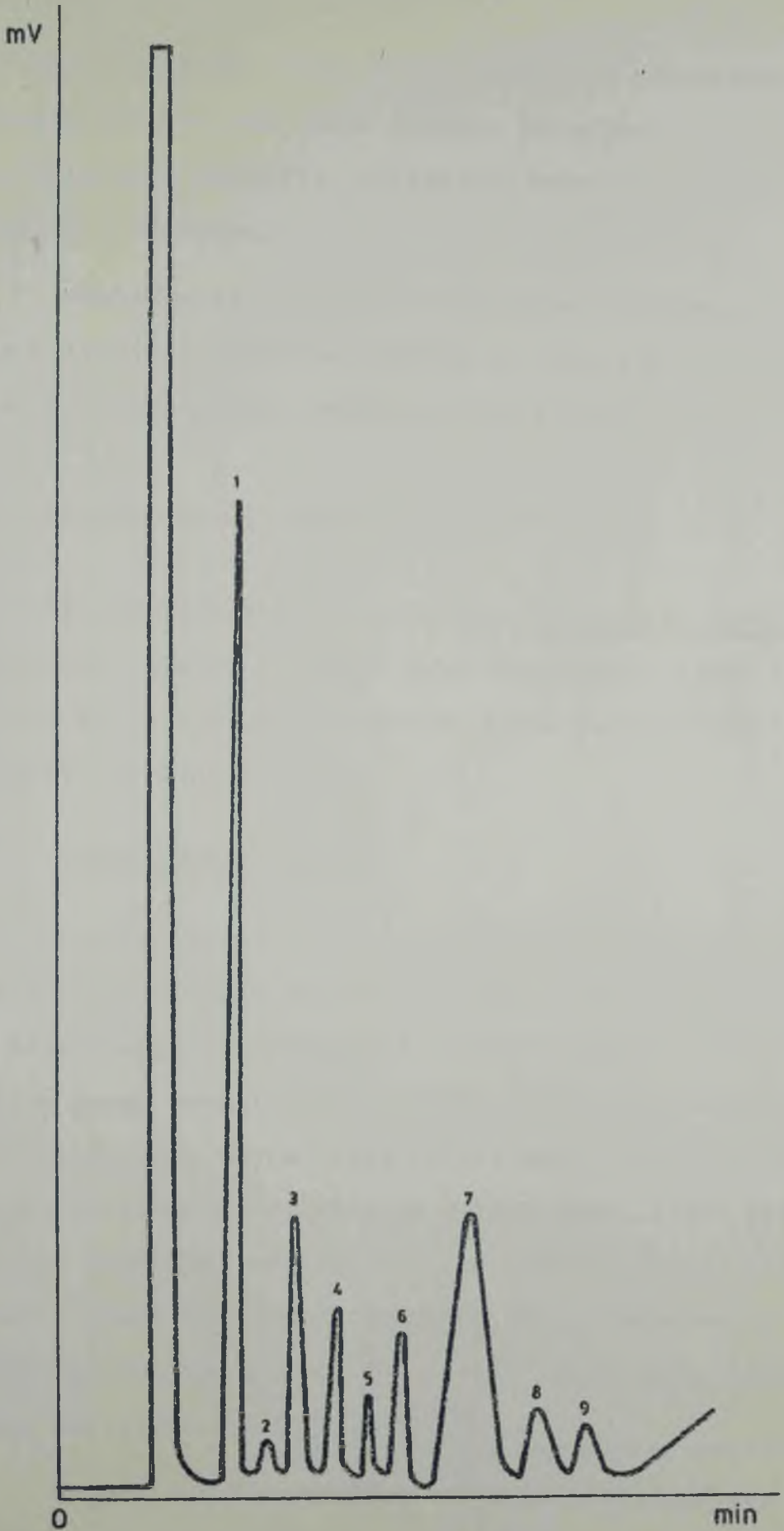
Iz prikazanog hromatograma se vidi da se kod svakog otvaranja uzorka arome od paprike, ili uzimanja uzorka špricom na sobnoj temperaturi, delimično ili potpuno iz arome izgubi devet komponenti. Delimično smanjenje ovog gubitka moguće je ako se aroma pakuje u odgovarajuće posude, koje se mogu direktno uzorkovati kroz zaptivku, čuvati na ledu i uzorkovati podhladjene za snimanje, što je u ovom radu i uradjeno.

Aroma je pakovana u specijalne bočice od 1 ml i zatvorena aluminijskim zatvaračem sa silikonskom zaptivkom, kroz koju lako prolazi igla šprica za doziranje. Ovakve pripremljena aroma je čuvana na ledu, u frižideru. Za vreme snimanja aroma je čuvana u izolovanoj boci koja je prethodno ohladjena.

II.1.6. Primenjene analitičke metode

U eksperimentalnom delu ovog rada, pored poznatih klasičnih hemijskih analiza koje su korišćene za analizu odabranih uzoraka, korišćene su i instrumentalne analitičke metode: gasna hromatografija i hromatografija na tankom sloju. Za hemijske analize eksperimentalnih uzoraka korišćene su klasične hemijske metode (65), uz odgovarajuću adaptaciju i modifikaciju, koje su uslovljene prirodom eksperimentalnog materijala. Hemijskim analizama obuhvaćeno je određivanje hemijskog

B.4-HROMATOGRAM GASNE FAZE IZNAD EKSTRAKTA AROME PAPRIKE
-94-



sastava plodova paprike, koji je od značaja za aromatičnost i tehnologiju prerade ove vrste povrća. Određeni su: suva materija, mineralne materije, ugljeni hidrati, kiselost, azotne materije i lipidi.

Analizom eksperimentalnih uzoraka dobijena je informacija o kvalitetu uzoraka paprike na osnovu koje se može steći utisak o tehnološkim osobinama ispitivanih sorti paprike.

II.1.6.1. Instrumentalne analitičke metode

Za određivanje aromatičnosti pojedinih sorti paprike i pojedinih hemijskih grupa koje čine ukupnu aromu paprike korišćena je instrumentalna metoda gasna hromatografija i hromatografija na tankom sloju.

Gasna hromatografija

Osnovni princip gasne hromatografije i klasifikacija gasnohromatografskih metoda dati su u opštem delu ovog rada. Za ispitivanje aromatičnosti odabranih sorti paprika korišćeni su gasni hromatografi BECKMAN GC-M sa plamenojonizacionim detektorima, zatim gasni hromatograf VARIAN AEROGRAF, serija 1520, sa plamenojonizacionim detektorima, gasni hromatograf VARIAN AEROGRAF, serija 1800, sa plamenojonizacionim detektorima i gasni hromatograf PACKARD 409, sa plamenojonizacionim detektorima. Svi su oni posedovali elektronske pisace promenljive osetljivosti.

Za gasnohromatografska snimanja korišćene su

metalne kolone različitih punjenja, izuzev kod analiza na gasnom hromatografu VARIAN AEROGRAF, serija 1520, gde su kolone bile staklene. Uslovi rada su se razlikovali kod pojedinih uzoraka i test supstanci i biće navedeni kod opisivanja pojedinih analiza.

Za analize arome paprike korišćeno je više gasnih hromatografa usled prirode eksperimentalnog materijala, dužine vremena eksperimentisanja, parcijalne opremljenosti pojedinih aparata i granice osetljivosti pojedinih gasnih hromatografa, s obzirom na serije i godine proizvodnje aparata.

Za identifikaciju pojedinačnih komponenti arome nije bilo moguće primeniti infracrvenu spektrofotometriju ili masenu spektroskopiju, jer takvom opremom nismo raspolagali. Zato je identifikacija pojedinih hemijskih grupa i jedinjenja unutar grupa izvršena poredjenjem eksperimentalnih hromatograma sa hromatogramima test supstanci proizvodnja "FLUKA A.G.", snimljenih na istom aparatu, na istoj koloni i pod istim uslovima gasnog hromatografa.

Hromatografija na tankom sloju

Za identifikaciju aldehida u obliku hidrazona korišćena je hromatografija na tankom sloju. Emulzija pirinčanog skroba i silikogela G., 21:9, rastvorena je u 52 ml 0,1 mH_3PO_4 i nanesena na staklene ploče, 20x20 cm aplikatorom DESAGA HEIDELBERG, debljine 2 mm. Ploče su osušene na vazduhu, a zatim su aktivirane 30 minuta u sušnici na 140°C .

Hromatogram se razvijao trostrukim ponavljanjem, jednodimenzionalnom tehnikom, na sobnoj temperaturi, u rastvaraču benzol:petroleter (4:1), uz dodatak jedne kapi vode, u staklenoj kadi za uzlaznu hromatografiju. Uzorci su naneti staklenom kapilarom u visini cca 15 mm (start). Svaka mljica ispitivane supstance naneta je 20 puta, da bi se dobila veća koncentracija uzorka. Razvijanje je završeno kada je rastvarač dostigao visinu od cca 15 mm od gornje ivice ploče (front).

Posle razvijanja ploče su izvadjene i osušene na sobnoj temperaturi, prskane sa florescentnim indikatorom i obeležene pomoću UV-čitača. Identifikacija aldehida je izvršena komparativnim nanošenjem test supstanci, kvalitativno, a za identifikaciju su korišćene Rf vrednosti.

Priprema i izolacija hidrazona aldehida biće kasnije izneta kod opisa gasnohromatografskog odredjivanja.

II.1.7. Razdvajanje arome paprike po hemijskim grupama

U ovom radu je sa ciljem da se olakša razdvajanje isparljivih materija iz arome paprike na koloni i punjenju korišćenom za ispitivanje aromatskih materija, metodom gasne hromatografije aromatski kondenzat odvojen po hemijskim grupama po Bruchfeld-u (77) na sledeće hemijske grupe:

Odvajanje karbonskih kiselina iz arome paprike

Etarski rastvor arome ekstrahovan je tri puta sa po 50 ml 3% Na₂CO₃ uz primenu elekromagnetske mešalice i povratnog hladila. Kiseline su ekstrakcijom tečno-tečno prešle u vodeni rastvor koji je razdvojen na levku za odvajanje faza.

Vodeni ekstrakt sa kiselinama slabo se zakiseli dodatkom par kapi koncentrovane sumporne kiseline, uz lakmus papir. Kiseline se iz vodene faze ponovo ekstrahuju tri puta sa po 50 ml etiletra, na prethodno opisan način i odvoje od vode pomoću levka za odvajanje. Zaostala voda u etarskom rastvoru ukloni se dodatkom bezvodnog natrijum sulfata, a aroma je na uređjaju za rektifikaciju rastvarača (slika 6) pripremljena za gasnohromatografska ispitivanja, kako je ranije opisano.

Odvajanje fenola iz arome

Za odvajanje fenola, po metodi Naves-a (78) poslužio je etarski ekstrakt arome paprike, iz kojeg su prethodno izdvojene kiseline. Ekstrakcija, na sobnoj temperaturi uz primenu elektromagnetske mešalice i povratnog hladnjaka, izvršena je tri puta sa po 50 ml 5% rastvora NaOH, a potom jedanput sa još 50 ml 1% rastvora NaOH. Oba ekstrakta su sastavljena i zakiseljena sa 20% rastvorom H_3PO_4 , uz indikator Kongo crveno. Vodeni sloj fenola, sipan je u levak za odvajanje, a fenoli su ekstrahovani mućkanjem tri puta sa po 50 ml etiletra uz primenu elektromagnetske mešalice sa povratnim hladnjakom. Fenoli u etarskom sloju su odvojeni u levku za razdvajanje, sušeni sa bezvodnim natrijum sulfatom i dalje gasnohromatografski određivani.

Odvajanje aldehida i ketona iz arome

Aldehidi su izdvojeni iz aromatskog kondenzata paprike razblaživanjem etarskog ekstrakta arome (iz kojeg su prethodnim postupcima odvojene kiseline i fenoli) destilovanom vodom u odnosu 1:1 i u tom rastvoru taloženi aldehidi i ketoni pomoću 2,4-dinitrofenil hidrazina sve dok se stvarao crveni talog, po metodi Vogel-a (80). Ekstrakt arome, sa talogom hidrazona je ostavljen da stoji preko noći, a zatim filtriranjem odvojen od vodenog etarskog ekstrakta. Talog je ispiran 96%-nim etanolom, uz stalno prekrystalisavanje iz etanola. Za hromatografisanje aldehida i ketona iz hidrazona napravljen je 0,3%-ni rastvor u tetrahidro furanu i on je hromatografisan na odgovarajućoj koloni.

Rastvor 2,4-dinitro fenil hidrazina napravljen je rastvaranjem 5 g kristalnog 2,4-DNFH u 60 ml 85% H_3PO_4 , zagrevanjem na vodenom kupatilu i razblaživanjem dodatkom 40 ml etanola. Za taloženje aldehida dodaje se cca 25 ml ovog rastvora na svakih 2 ml aldehida ili ketona, zapravo sve dok se stvara crveni talog.

Odvajanje alkohola iz arome

Prethodnim frakcionisanjem iz arome paprike su izdvojeni kiseline, fenoli, aldehidi i ketoni. U zaostalom etarskom ekstraktu alkoholi su po metodi Sterett-a (79) odvojeni i pripremljeni za hromatografska ispitivanja. Na svaki očekivani mol alkohola u ekstraktu arome dodat (u slabom višku) je jedan mol

prethodno osušenog piridina, zajedno sa jednim molom bezvodnog benzoil hlorida. Posle kraćeg refluksovanja, rastvor je ohlađen i dodata mu je destilovana voda. Istaloženi benzoil estri su odvojeni uz višestruko ispiranje sa 3%-nim rastvorom NaOH i destilovanom vodom. Benzoil estri alkohola su nekoliko puta prekristalisani iz rastvora petroletra. Pripremljeni estri su kristali bele boje koji se tope na sobnoj temperaturi, a čim se oslobode rastvarača petroletra kristališu, te ih je zbog toga nemoguće aplicirati u gasni hromatograf. Zbog toga su prečišćeni kristali benzoil estra alkohola ponovo deesterifikovani, tj. saponifikacijom vraćeni u alkohole da bi se mogli hromatografisati. Saponifikacija je izvršena zagrevanjem benzoil estera sa koncentrovanom sumpornom kiselinom, uz stalan refluks. Iz rastvora sumporne kiseline alkoholi su izdvojeni ekstrakcijom sa etiletom na prethodno opisan način.

II.1.8. Razdvajanje arome paprike na frakcije

Aroma paprike je po svom sastavu veoma heterogena, o čemu će biti govora kasnije, i zbog toga se javljaju velike teškoće kod gasnohromatografskog odredjivanja. Za sada ne postoji jedno univerzalno punjenje kolone koje bi uspešno razdvojilo heterogena hemijska jedinjenja koja učestvuju u izgradnji arome paprike. Wendell (46) je u svom radu kod odredjivanja aromatskih materija specijalne vrste višegodišnje cvetne paprike primenio mikrokapilarne kolone kod gasnohromatografskih odredjivanja arome. Za identifikaciju pojedinih komponenti primenio je infracrvenu spektrofotometriju i masenu spektroskopiju. Praag (81) je ukupnu aromu paprike podelio na tri frakcije i tako olakšao gasnohromatografsko odredjivanje arome.

Koristeći se metodom frakcionisanja po Praag-u, ukupna aroma sorte Rotunda zelena je frakcionisana na tri frakcije - neutralnu, bazičnu i kislu. Jedan litar arome paprike, dobijen destilacijom pod vakuumom u inertnom gasu od 2 kg kaše na prethodno opisan način, podeljen je na dva

jednaka dela. Iz prvih 500 ml aromatskog kondenzata izdvojene su bazna i neutralna frakcija, dok je drugih 500 ml poslužilo za izdvajanje kisele frakcije.

Bazna frakcija arome

Vodeni kondenzat arome paprike (500 ml) tretiran je sa 50 g NaCl, da bi se dobilo bolje razdvajanje slojeva. Zatim je kiselost aromatskog kondenzata podešena na pH 0,7 koncentrovanom sonom kiselinom. Ovako zakišeljjen kondenzat je ekstrahovan dihlor metanom, tri puta po 50 ml, uz primenu elektromagnetske mešalice i povratnog hladnjaka jedan sat. Ekstrakt arome u dihlormetanu odvojen je u levku za odvajanje, a vodeni sloj je podešen na pH 8,3 dodatkom NaOH i ekstrahovan tri puta sa po 50 ml dihlormetana, na prethodno opisan način. Ekstrakt arome izdvojen u levku za odvajanje, osušen bezvodnim natrijum sulfatom. U ovom ekstraktu su bazne frakcije arome koje se zatim oslobode viška rastvarača na laboratorijskom uredjaju (slika 6), do zapremine od 1 ml. Iz ovog koncentrata arome određene su bazne komponente arome paprike Rotunda zelena, metodom gasne hromatografije.

Neutralna frakcija arome

Neutralna frakcija arome nalazi se u prvom dihlormetanskom ekstraktu, dobijenom izdvajanjem bazne frakcije. Na cca 150 ml dihlormetanskog ekstrakta arome dodato je dva puta po 50 ml rastvora Na_2CO_3 i ekstrahovano na prethodno opisan način. Ovim postupkom kisele frakcije arome prelaze u vodeni rastvor natrijum karbonata, dok u dihlormetanskom sloju ostaju neutralne frakcije arome. Dihlormetanski sloj se upari na laboratorijskom uredjaju (slika 6), uz prethodno sušenje bezvodnim natrijum sulfatom, do cca 1 ml.

Kisela frakcija arome

Da bi bila veća sigurnost da za vreme višestepene ekstrakcije ne dolazi do gubitka u kiseloj frakciji arome paprike, drugih 500 ml vodenog kondenzata arome paprike korišćeno je za izdvajanje kisele i neutralne frakcije arome, uz kombinaciju dva rastvarača koji služe za veću sigurnost izdvajanja kiselih frakcija arome paprike.

Vodenom ekstraktu arome dodato je 50 g NaCl i kiselost podešena na pH 13, dodatkom 20 grama NaOH. Alkalni rastvor arome ekstrahovan je tri puta sa po 50 ml smeše etiletar-pentan u odnosu 1:1. Ekstrakcija je izvedena u ckrugloj tikvici sa ravnim dnom uz primenu elektromagnetske mešalice i povratnog hladnjaka u vremenu od po jedan sat. U levku za odvajanje razdvojen je etar-pentanski sloj, u kome se nalaze neutralne komponente arome paprike, dok je u vodenom sloju ostala

kisela frakcija. Vodeni ekstrakt sa kiselim komponentama arome zakišeljjen je koncentrovanom HCl do pH 1,0 a u njemu su prisutne kiseline i fenoli ekstrahovani na prethodno opisan način, tri puta sa po 50 ml etiletra, u vremenu od po jedan sat. Etarski ekstrakt sa kiselim i fenolnim frakcijama odvojen je u leviku za razdvajanje od vodenog sloja i uparen na laboratorijskom uređjaju (slika 6), do cca 1 ml, uz prethodno sušenje bezvodnim natrijum sulfatom. Metodom gasne hromatografije u ovoj aromi određene su kisele komponente arome paprike.

II.2. PRIKAZ DOBIJENIH REZULTATA

II.2.1. Rezultati hemijske analize

Osnovna predstava o kvalitetu ispitivanih sorti paprike dobijena je na osnovu hemijskih analiza bitnih i tehnološki važnih sastojaka, koji karakterišu kvalitet ove vrste povrća.

Rezultati hemijskih analiza ispitivanih sorti prikazani su na tabeli broj 1.

Tabela 1. Hemijski sastav ispitivanih plodova paprike.

Red. broj	S a s t o j c i	Ukupan sadržaj u % na ishodnu sir.				
		I	II	III	IV	V
1.	Suva materija sušenjem	13,13	10,42	11,45	11,21	13,00
2.	Suva materija refraktometrom	11,20	9,00	9,40	10,00	10,00
3.	Mineralne materije	1,17	0,52	0,60	0,73	0,61
4.	Ukupan invert	6,68	7,05	7,63	6,88	6,58
5.	Prirodan invert	6,25	6,88	7,13	6,59	6,33
6.	Saharoza	0,41	0,16	0,22	0,28	0,24
7.	Ukupna kiselost (jabučna)	0,24	0,18	0,18	0,21	0,12
8.	Pektinske materije (Ca-pektat)	0,18	0,24	0,16	0,27	0,17
9.	Sirova celuloza	2,33	0,88	0,99	1,34	1,05

(nastavak tabele 1.)

Red. broj	S a s t o j c i	Ukupan sadržaj u % na ishodnu sir.				
		I	II	III	IV	V
10.	Azotne materije (proteini)	1,94	0,63	0,62	0,58	0,69
11.	Askorbinska kiselina mg/100 g	97,27	91,86	97,87	81,06	86,46

Oznake:

I	sorta Horgoška slatka I
II	sorta Rotunda zelena
III	sorta Čudo Kalifornije
IV	sorta Pazardžijska kapja
V	sorta Kurtovska kapja

Iz prikazanih rezultata dobijenih hemijskim analizama ispitivanih sorti vidi se da su za ispitivanje uzete zdrave i kvalitetne sirovine. Prosečan hemijski sastav je svojstven za ovu vrstu povrća.

Neznatne razlike u hemijskom sastavu ispitivanih sorti su normalne i u prvom redu su samo sortno zavisne, jer su sorte (2, 3, 4, 5) uzgajane na istom terenu uz primenu i delovanje istih agroekoloških faktora.

Od hemijskih sastojaka značajan je sadržaj askorbinske kiseline, koji je u ovoj vrsti povrća veoma veliki u odnosu na drugo povrće. Ako se uzme u obzir da pored askorbinske kiseline, plodovi paprike sadrže i dosta drugih vitamina, nameće se zaključak da je paprika veoma pogodna za podmirenje organizma vitaminskim materijama. Prema tome, paprika pored hranljive vrednosti ima i veliku vitaminsku odnosno fiziološku vrednost. Količina sirovih proteina i lipida, iskazana u

tabeli 1, ukazuje da ovo povrće i u tom pogledu veoma odgovara za ishranu, bilo da se koristi kao hrana ili kao salata.

Aminokiselinski sastav i sastav masnih kiselina je izrazito povoljan (9).

Hemijska analiza je takodje uradjena sa ciljem da se proveru da li i u kojoj meri osnovne hemijske komponente utiču na sastav arome ispitivanih sorti. Gasnohromatografsko odredjivanje je pokazalo da hemijski sastav nije od primarnog značaja kako za kvantitativni tako i za kvalitativni sastav arome ovog povrća. Sve ove sorte se inače mnogo koriste za preradu, bilo u mlevenu začinsku papriku (Horgoška slatka I), bilo za druge proizvode ili za potrošnju u svežem stanju (Čudo Kalifornije, Rotunda zelena, Kurtovska i Pazardžijska kapja), jer su dovoljno aromatične i kvalitetne, pa je hemijski sastav ispitivanih sorti od značaja više za kvalitet gotovih proizvoda.

Aromatičnost je prema tome u prvom redu sortna osobina, o čemu će biti govora kasnije, dok na ukupnu aromu više utiču razni faktori. U prvom redu to je primenjena agrotehnika, klimatski uslovi koji vladaju u uzgojnom periodu, prvenstveno u doba sazrevanja plodova. U tom stadijumu zrelosti formira se aroma karakteristična za vrstu i sortu.

II.2.2. Ispitivanje aromatskih materija paprike

U pregledanoj stručnoj literaturi koja nam je bila na raspolaganju, nije pronađen veći broj radova iz problematike aromatskih materija paprike.

Buttery i sar. (49) su ispitivali aromatičnost zvonaste zelene paprike pomoću standardne kapilarne GLC, a identifikovali su komponente korišćenjem masene spektroskopije, infracrvene i ultraljubičaste spektrofotometrije. Destilacija aromatskih materija vršena je u vakuumu i pomoću vodene pare pod atmosferskim pritiskom. Autori ovog rada navode da se kod vakuumske destilacije dobija veći broj komponenti.

Wendell i sar. (46) su kod ispitivanja višegodišnje cvetne paprike dearomatizaciju vršili liofilizacijom. Uzorke paprike su zamrzli primenom tečnog azota, defrostirali, samleli u pire koji su naglo zamrzli i liofilizirali, a pare liofilizacije kondenzovali u ohladjenom etanolu. Drugu varijantu dearomatizacije uzoraka izveli su destilacijom vodenom parom. Pripremljene koncentrate arome snimili su primenom klasične GLC na kapilarnim kolonama. Autori ovog rada ne komentarišu prednosti i nedostatke ova dva načina dearomatizacije.

Kako u ovom radu nije bilo moguće primeniti navedene tehnike i uređja za dearomatizaciju, postavljen je jedan hronološki red ispitivanja aromatskih materija u raznim sortama paprike, koji treba da da odgovor na:

- podobnost dearomatizacije uzoraka pod vakuumom u struji inertnog gasa pod normalnim pritiskom, destilacijom vodenom parom,

- dinamiku oslobadjanja aromatskih materija iz kaše paprike,

- zavisnost aromatičnosti od sorte,

- zavisnost aromatičnosti od vegetacionih uslova,
- raspodelu aromatskih materija u pojedinim delovima ploda,
- mogućnost kvantitativnog određivanja aromatskih materija u paprici, i
- identifikaciju aromatskih materija po komponentama koje čine ukupnu aromu ispitivane sorte.

Komparativni podaci koji se međusobno mogu upoređivati dobijeni su tako što je u radu uzimana uvek ista količina polazne sirovine, ista tehnika pripreme arome i isti uslovi snimanja na gasnom hromatografu.

II.2.3. Dearomatizacija pod vakuumom u struji inertnog gasa i vodenom parom

Oba ova načina primenjuju se za dearomatizaciju uzoraka voća i povrća. Međutim, retki su radovi koji daju prednost bilo kojoj od ove dve metode.

Zbog toga je u ovom radu izvršena dearomatizacija 2 kg kaše od paprike pod vakuumom od 60-20 mm Hg, u struji azota, a ista količina kaše destilovana je takodje vodenom parom na normalnom pritisku. Vodeni kondenzati arome su pripremljeni u oba slučaja na isti način, kako je to ranije opisano. Koncentrati arome su hromatografisani na gasnom hromatografu BECKMAN GC-M.

Uslovi rada gasnog hromatografa bili su:

- kolona metalna 3,5 m x 4 mm napunjena 10% CARBOWAX-om 1500 na CHROMOSORB-u W.80/100 mesna

- temperatura kolone programirana 2°C/min od 50 - 150°C

- temperatura injektora 250°C

- temperatura detektora 250°C

- gas nosač helijum 45 ml/min.

- količina uzetog uzorka 5 nl

Dearomatizacija kaše destilacijom vodenom parom

je brža i može se primeniti u svim slučajevima kada se uzorak ispituje na ukupnu aromatičnost. Ovakav način dearomatizacije se može koristiti i kod ispitivanja aromatičnosti proizvoda od paprike pošto su oni u prethodnim tehnološkim postupcima već tretirani povišenim temperaturama.

Dearomatizacija kaše paprike pod vakuumom u struji inertnog gasa je savremeniji metod koji omogućuje dobijanje realnijih podataka o stvarnoj aromatičnosti ispitivanog uzorka, pošto je izbegnut uticaj povišenih temperatura i stvaranje nepoželjnih artefakata. Ovom metodom se treba služiti u svim slučajevima gde se dearomatizacija vrši neposredno posle branja, što je praktično moguće kod manjeg broja i količine uzoraka.

Dearomatizacija vodenom parom je u ovom radu vršena samo kod komparativnih ispitivanja oba načina dearomatizacije, a u svim ostalim slučajevima destilacija arome je izvodjena pod vakuumom u struji inertnog gasa.

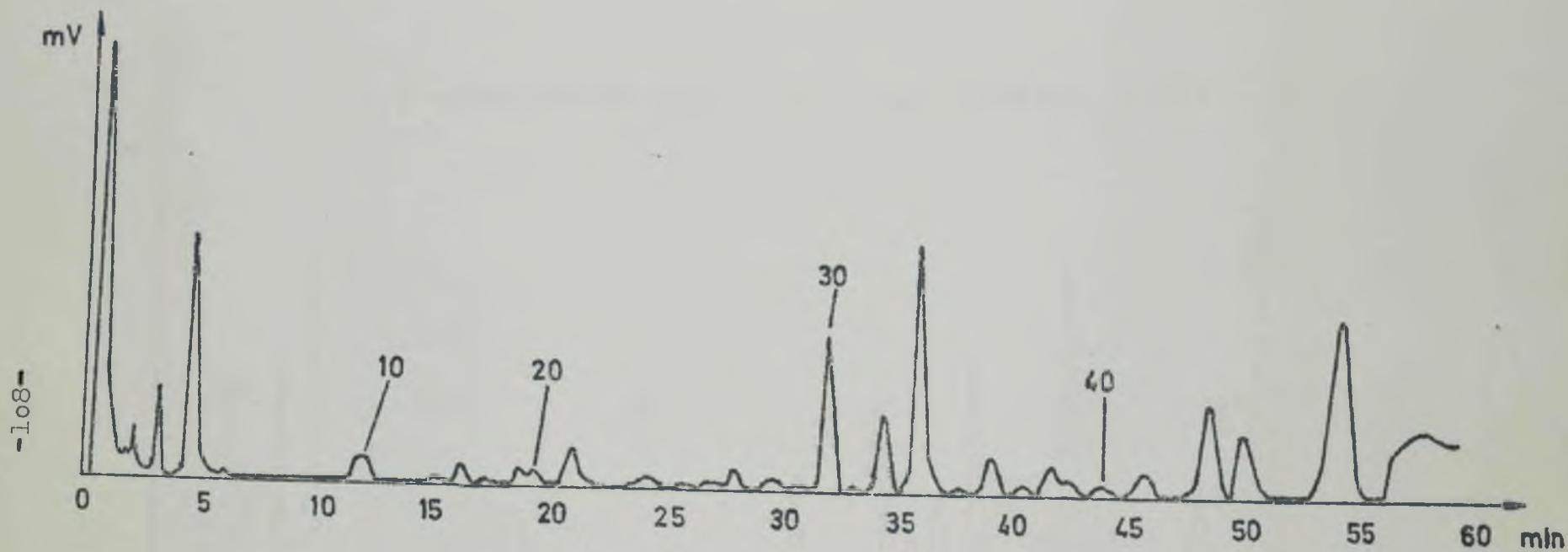
Rezultati dobijeni ispitivanjem ova dva načina

dearomatizacije kaše od paprike prikazani su na hromatogramima 5 (za dearomatizaciju kaše pod vakuumom u inertnom gasu), i 6 (za dearomatizaciju kaše paprike vodenom parom na normalnom pritisku). Površine pojedinih komponenti i ukupna površina (količina) arome, dobijene na ova dva načina dearomatizacije, prikazani su u tabeli broj 2.

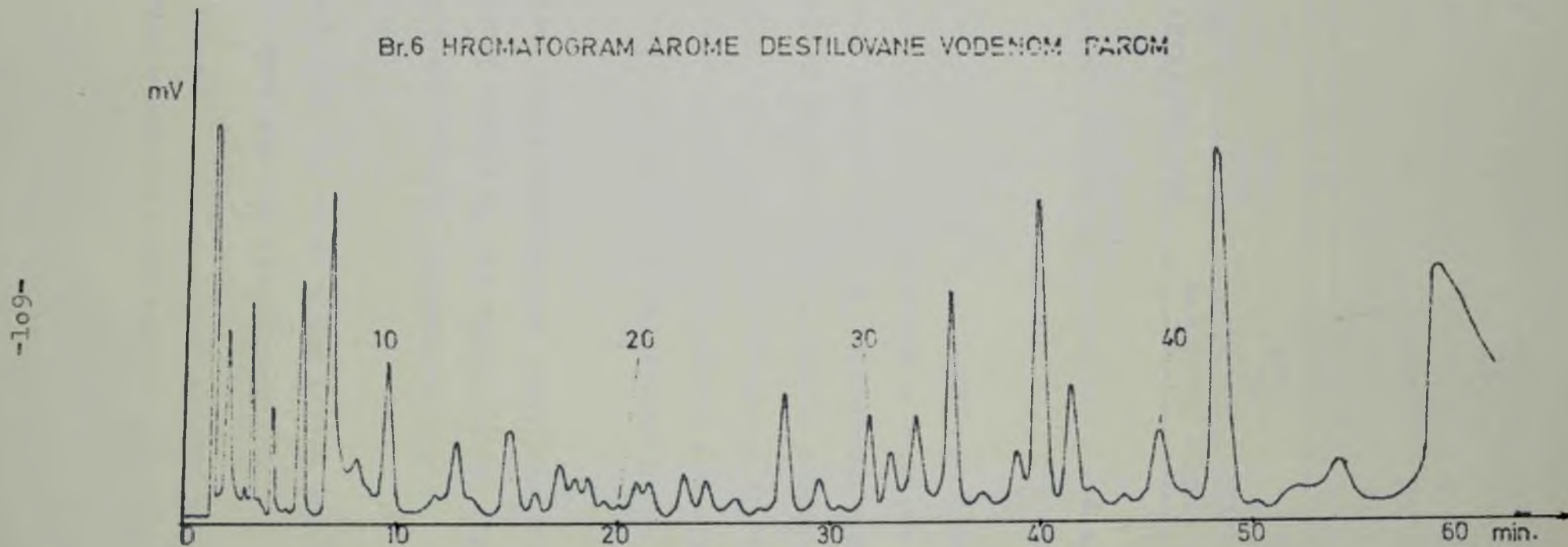
Iz dobijenih i prikazanih rezultata se vidi da je dearomatizacijom ispitivanog materijala metodom destilacije vodenom parom, dobijeno više aromatskih materija.

Dearomatizacija pod vakuumom je rezultovala u oslobadjanju ukupno 32 komponente, dok je destilacijom vodenom parom dobijeno ukupno 45 komponenti. Razlika od 13 komponenti koje se nisu izdvojile tokom dearomatizacije pod vakuumom, nastala je ili usled toga što se te komponente nisu uspelo izdvojile kod primene ove tehnike, ili su se izdvojile u količinama koje gasni hromatograf, sa primenjenom osetljivošću nije registrovao. Isto tako nije isključeno da je jedan mnogo manji deo aromatskih komponenti izgubljen preko vakuum pumpe. Takodje postoji mogućnost da kod dearomatizacije vodenom parom na normalnom pritisku dolazi do intermedijarnih reakcija između različitih supstanci arome, ili pak da dolazi do pirolize nekih komponenti na veći broj novih jedinjenja koja se detektuju kao zasebne komponente, a inače nisu prisutne u svežoj paprici. Na ovu pretpostavku navodi i podatak da ostatak posle dearomatizacije vodenom parom ima miris na kuvano, što nije slučaj sa ostatkom kaše kod dearomatizacije pod vakuumom. Pojava firfurala, kao zasebne

Br 5 HROMATOGRAM AROME DESTILOVANE U VAKUMU I STRUJI AZOTA



Br.6 HROMATOGRAM AROME DESTILOVANE VODENOM PAROM



komponente (49) u aromi destilovanoj vodenom parom ide u prilog ovakve pretpostavke.

Kod destilacije pod vakuumom u inertnom gasu izdvoji se cca 35,22% manje arome što nije zanemarujuće (tabela 2).

Dearomatizacija vodenom parom ima svoje prednosti u tome što kraće traje, što je efekat dearomatizacije veći, a može se primenjivati kod komparativnih ispitivanja arome paprike.

U daljim ispitivanjima korišćena je tehnika dearomatizacije pod vakuumom u struji azota, mada i ova metoda nije savršena. Iz hromatograma 1. vidi se da kod dearomatizacije pod vakuumom u inertnom gasu, osnovni problem čini hladjenje aromatskog kondenzata, jer inertni gas (azot) povlači za sobom izvesnu količinu komponenti arome koje se kondenzuju tek kod temperature od -196°C .

Tabela br. 2.

Ukupna aroma paprike dobijana različitom dearomatizacijom

Dearomatizacija vod.parom			Dearomatizacija inertni gas + vakuum		
Broj kom.	Retenc. vreme u min.	Površina komp. u mm^2	Broj komp.	Retenc. vreme u min.	Površina komp. u mm^2
1	2	3	4	5	6
1.	1,77	4,08	1.	-	-
2.	2,62	0,16	2.	1,58	0,53
3.	2,88	3,54	3.	1,85	4,00
4.	3,23	++	4.	-	-
5.	3,85	2,88	5.	2,88	5,20

1	2	3	4	5	6
6.	4,62	0,09	6.	-	-
7.	5,23	9,36	7.	4,35	8,64
8.	6,22	799,80	8.	5,80	0,60
9.	7,85	52,00	9.	-	-
10.	9,35	422,50	10.	-	-
11.	11,62	22,50	11.	-	-
12.	12,60	193,80	12.	12,00	294,00
13.	13,20	+++	13.	-	-
14.	15,05	408,00	14.	14,90	40,00
15.	16,31	55,00	15.	-	-
16.	17,45	137,35	16.	16,05	126,50
17.	18,20	30,00	17.	17,10	45,50
18.	18,80	54,00	18.	-	-
19.	19,54	15,00	19.	18,54	49,50
20.	20,23	+++	20.	19,20	60,00
21.	21,05	55,00	21.	-	-
22.	21,65	55,00	22.	20,85	523,00
23.	23,31	135,00	23.	-	-
24.	24,35	93,50	24.	-	-
25.	25,77	56,25	25.	24,20	84,00
26.	26,90	12,00	26.	25,62	10,00
27.	28,05	420,00	27.	26,77	20,00
28.	29,62	105,00	28.	27,90	138,00
29.	30,62	5,00	29.	29,50	60,00
30.	32,05	270,00	30.	31,95	2200,00
31.	33,02	148,50	31.	32,80	50,00
32.	34,23	308,75	32.	34,27	960,00
33.	35,90	750,00	33.	35,80	385,00
34.	37,31	44,20	34.	37,23	25,00
35.	39,00	256,00	35.	-	-
36.	40,10	1211,00	36.	38,90	520,00
37.	41,58	462,00	37.	40,20	110,00
38.	42,58	33,00	38.	41,40	375,00
39.	44,10	37,60	39.	42,20	62,50
40.	45,80	446,60	40.	43,85	202,50

1	2	3	4	5	6
41.	48,75	1908,00	41.	45,65	527,50
42.	50,35	9,00	42.	48,48	2407,50
43.	52,15	66,00	43.	49,90	1192,50
44.	54,31	6093,75	44.	54,10	234,00
45.	59,27	4485,00	45.	58,00	2145,00
		19.675,21			12.865,93

II.2.4. Dinamika oslobadjanja aromatskih materija iz kaše paprike vakuum dearomatizacijom u inertnom gasu

Veoma je mali broj radova na ispitivanjima ponašanja aromatskih materija kod dearomatizacije sirovina voća ili povrća. U većini stručnih ili naučnih radova iz ove oblasti, posmatrani su uslovi dearomatizacije i primenjene tehnike s obzirom na ukupan sadržaj aromatskih materija u ispitivanom materijalu. Šulo i sar. (60) su ispitivali dinamiku oslobadjanja aromatskih materija pojedinih vrsta voća kod dearomatizacije u vakuumskim uslovima. Ova ispitivanja su obavljena na sokovima raznih vrsta voća, te se ne mogu uporedjivati sa ponašanjem aromatskih materija kod dearomatizacije kaša. Ova poredjenja se ne mogu izvesti i zato što je kod dearomatizacije kaše od paprike pored vakuuma korišćen i inertni gas azot, koji je na neki način "ispirao" isparljive materije iz kaše paprike.

Da bi se dobio uvid u brzinu odvajanja i dinamiku oslobadjanja isparljivih materija iz kaše, izvršena je

dearomatizacija 3 kg na koloidnom mlinu homogenizovane kaše paprike u vakuumskom laboratorijskom uređaju (slika 5). Za vreme destilacije vakuum je održavan u granicama od 30 do 40 mm Hg. Temperatura grejanja kaše bila je cca 60°C, dok je temperatura kondenzacije para bila 45°C. Temperatura prijemnika aromatskog kondenzata je bila -35°C. Aromatski kondenzat je povremeno uziman za dalju obradu na stepenu uparenja kaše od 20, 40, 60 i 80%, računato na količinu ishodnog materijala.

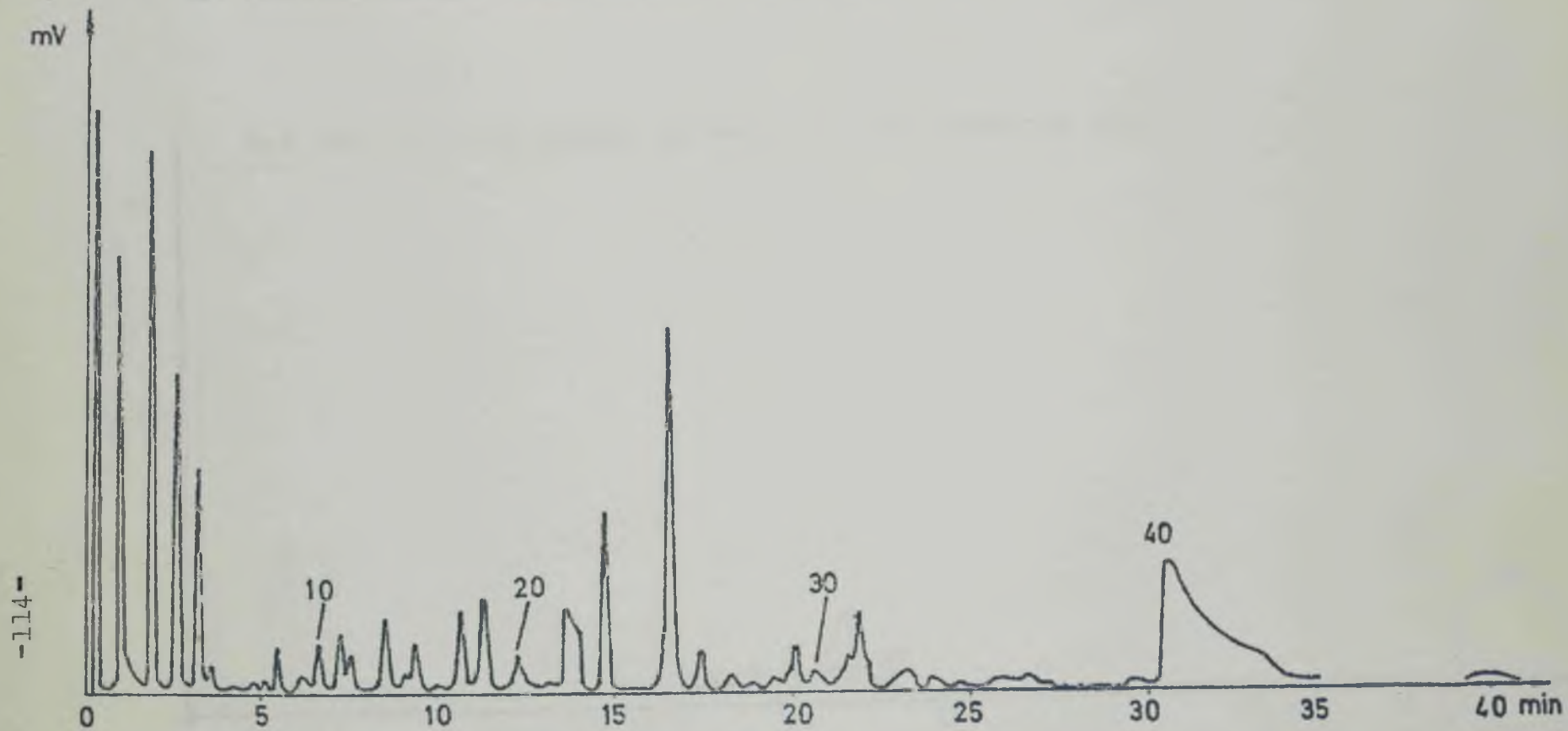
Aromatski kondenzat za hromatografsko ispitivanje pripremljen je na prethodno opisan način.

Aromatski koncentrat po protocima tj. stepenima uparenja kaše razdvojen je na aromatske komponente i ispitan na gasnom hromatografu BECKMAN GC-M. Aparat je radio pod sledećim uslovima:

- kolona metalna 3,6 m x 4 mm napunjena 10% CARBOWAX-om 1500 na CHROMOSORB-u W. 80/100 mesha
- temperatura kolone programirana 2°C/min od 50°C-150°C.
- temperatura injekcionog bloka 220°C
- temperatura detektora 220°C
- gas nosač helijum 45 ml/min
- količina uzetog uzorka za ispitivanje 5 µl

Rezultati ispitivanja dinamike dearomatizacije kaše od paprike prikazani su na hromatogramima od 7 do 10. Ukupna količina arome i pojedinih komponenti preračunata je na maksimalnu osetljivost i prikazana na tabeli broj 3.

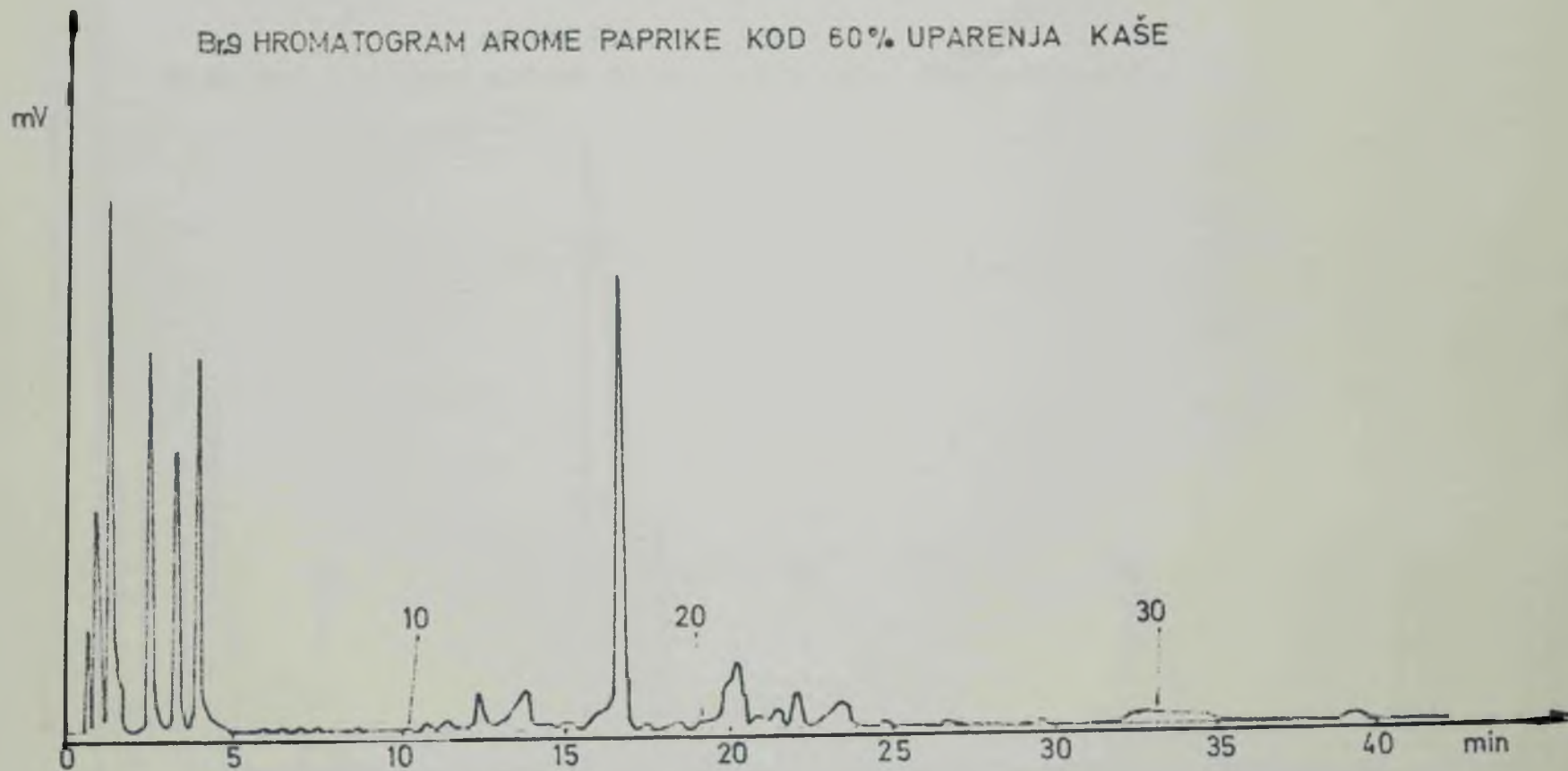
Br7 HROMATOGRAM AROME PAPRIKE KOD 20% UPARENJA KAŠE



Br.8 HROMATOGRAM AROME PAPRIKE KOD 40% UPARENJA KAŠE



B₁₉ HROMATOGRAM AROME PAPIRIKE KOD 60% UPARENJA KAŠE



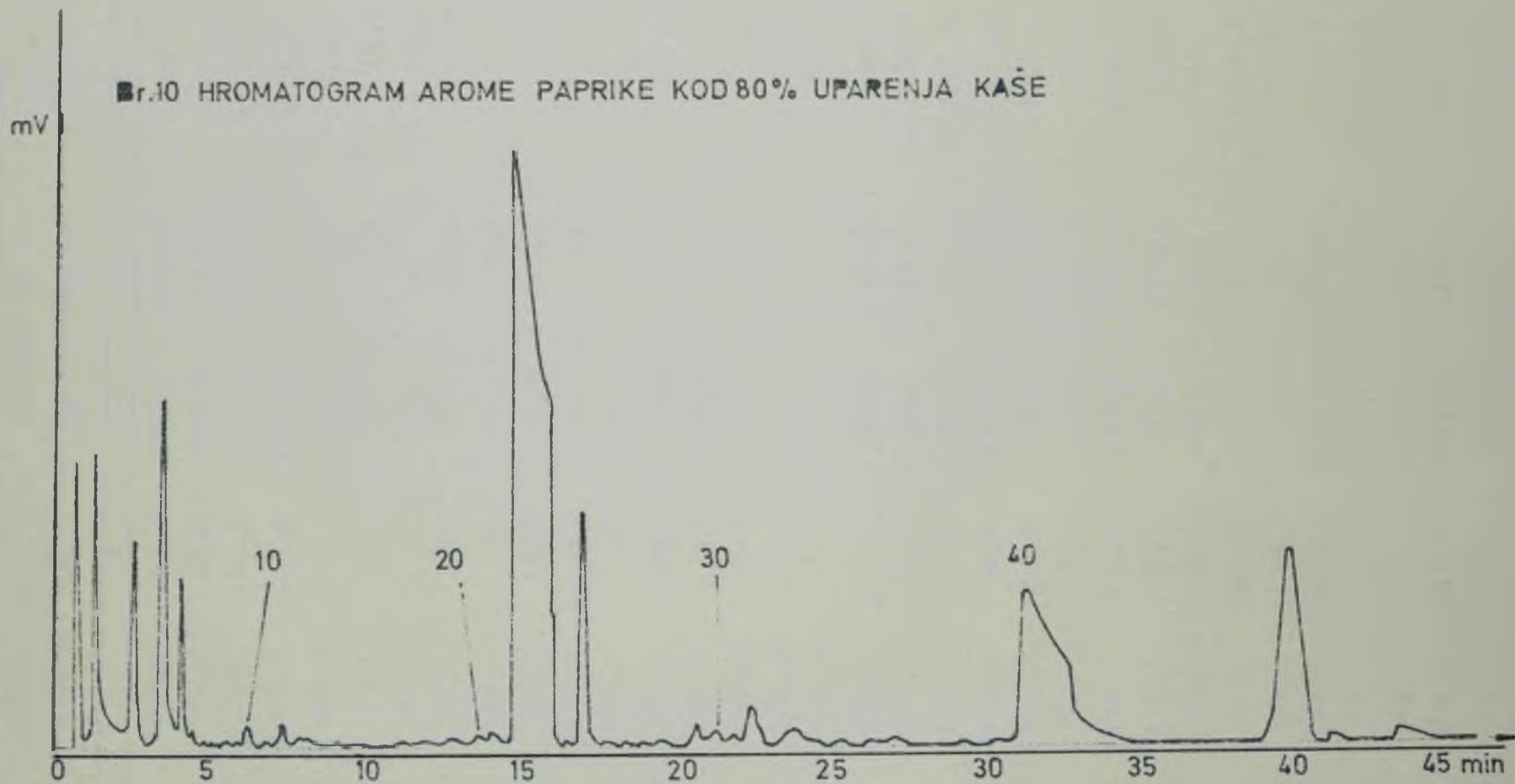


Tabela br. 3. Oslobadjanje aromatskih materija iz kaše paprike, zavisno od stepena uparenja

Broj komp.	Površina komp. u mm ² zavisno od % uparenja kaše				Ukupna površina komponente u	
	20	40	60	80	mm ²	%
1	2	3	4	5	6	7
1.	3320,0	467,5	2030,0	2200,0	8017,5	3,502
2.	4992,0	74,0	1241,0	171,2	6478,2	2,829
3.	8475,0	162,2	4280,0	6072,0	18989,2	8,294
4.	6672,5	216,0	1200,0	2152,2	10240,7	4,473
5.	900,0	3,2	-	-	903,2	0,394
6.	15,0	-	-	1,7	16,7	0,007
7.	58,5	-	-	-	58,5	0,025
8.	41,0	-	-	12,0	53,0	0,024
9.	119,0	-	-	4,3	123,3	0,054
10.	40,0	0,3	11,9	36,0	88,2	0,038
11.	198,0	++	++	9,6	207,6	0,091
12.	185,0	-	++	40,0	225,0	0,098
13.	110,0	++	11,0	37,2	158,2	0,069
14.	286,0	-	3,0	4,7	298,7	0,130
15.	44,1	-	-	-	44,1	0,019
16.	152,3	-	-	-	152,3	0,066
17.	66,0	-	-	-	66,0	0,028
18.	343,3	-	21,6	24,0	389,4	0,170
19.	357,5	5,6	34,6	11,2	408,9	0,178
20.	2276,0	18,5	73,8	35,8	2404,1	1,056
21.	175,0	33,0	137,0	87,2	432,2	0,189
22.	8990,0	16,0	19,0	7986,0	17010,0	7,429
23.	795,0	6,4	18,6	++	820,0	0,358
24.	1100,0	354,0	931,5	976,5	3362,0	1,460
25.	217,5	75,4	60,0	30,0	382,9	0,167
26.	94,5	7,2	98,0	++	199,7	0,087
27.	40,0	160,2	14,0	++	214,2	0,094
28.	70,5	++	++	++	70,5	0,030
29.	131,2	240,0	1012,0	70,0	1453,2	0,634
30.	85,0	-	20,0	107,5	213,5	0,093
31.	44,0	-	135,0	57,0	236,0	0,103
32.	409,7	814,2	241,3	311,2	1776,0	0,776
33.	100,0	17,0	360,0	231,0	708,0	0,339

1	2	3	4	5	6	7
34.	66,5	-	19,5	-	86,5	0,037
35.	30,0	7,3	70,0	39,0	146,3	0,063
36.	91,3	-	-	-	91,3	0,039
37.	101,3	-	-	58,0	159,3	0,069
38.	16,5	13,7	-	-	30,2	0,013
39.	84,0	30,0	18,0	++	132,0	0,057
40.	64500,0	3443,5	23100,0	56000,0	147043,5	64,227
41.	1000,0	-	105,0	3950,0	5055,0	2,208
	106794,5	6165,2	35270,8	80716,4	228946,9	99,9

++ = aromatske materije u tragovima

Tabela br. 4.

Dinamika izdvajanja aromatskih komponenti iz kaše paprike zavisno od stepena uparenja

Broj komp.	Ukupna površina komp. u mm ²	Procentualni udeo od ukupne površine ne date komponente po stepenima uparenja			
		20	40	60	80
1	2	3	4	5	6
1.	8.017,5	41,41	5,83	25,19	27,57
2.	6.478,2	77,09	1,62	19,00	2,30
3.	19.839,2	44,52	0,80	22,20	32,48
4.	10.240,7	65,16	2,10	11,64	21,10
5.	903,2	99,58	0,58	-	-
6.	16,7	89,14	-	-	10,06
7.	58,5	100,00	-	-	-
8.	53,0	77,36	-	-	22,64
9.	123,8	96,15	-	-	3,85
10.	68,2	45,31	0,54	13,43	40,72
11.	207,6	95,78	-	-	4,22
12.	225,0	92,50	-	-	17,50
13.	158,2	69,84	-	6,15	24,01

	1	2	3	4	5	6
14.	298,7	95,74	--	2,68	1,58	
15.	44,1	100,00	--	--	--	
16.	152,3	100,00	--	--	--	
17.	66,0	100,00	--	--	--	
18.	389,4	88,00	--	5,20	6,80	
19.	408,9	87,98	1,18	8,24	2,50	
20.	2.404,1	94,59	0,85	3,07	1,49	
21.	432,2	40,41	7,27	31,46	20,86	
22.	17.010,0	42,14	0,09	0,11	46,60	
23.	820,0	96,88	0,76	2,36	--	
24.	3.362,0	33,24	10,28	27,29	29,19	
25.	382,9	55,21	19,26	15,20	10,17	
26.	199,7	47,64	3,21	49,15	--	
27.	214,2	18,38	75,37	6,25	--	
28.	70,5	100,00	--	--	--	
29.	1.453,2	9,41	16,65	69,82	4,12	
30.	213,3	40,40	--	9,47	50,05	
31.	236,0	18,04	--	57,21	24,15	
32.	1.777,0	23,99	45,15	13,10	17,97	
33.	708,0	15,23	2,23	51,00	32,04	
34.	86,0	77,28	--	22,72	--	
35.	146,3	20,74	2,64	47,62	27,00	
36.	91,3	100,00	--	--	--	
37.	159,3	63,94	--	--	36,00	
38.	30,2	54,19	45,91	--	--	
39.	132,0	63,54	22,66	13,80	--	
40.	147,043,5	43,38	2,50	15,50	39,52	
41.	5.055,0	19,40	--	2,39	78,21	

Ako se kaša od paprike u datim uslovima upariva do 40% od početne zapremine, dolazi do neznatnog oslobadjanja tj. gubitka aromatskih materija, u odnosu na prethodni, i to samo 2,69% od ukupne arome. Ovako mali gubitak aromatskih materija iz kaše može se tumačiti pretpostavkom da je kod prethodnog uparavanja došlo do gubitka lako isparljivih komponenti. Pri tome je njihova koncentracija svedena na toliku količinu, koja se teško isparava ili se otparava u količini koja se primenom gasnog hromatografa i uslovima rada nije mogla detektovati. Istovremeno je koncentracija teže isparljivih materija mala i ispod kritične tačke isparavanja, tako da se i one ne oslobadjaju ili se oslobadjaju u "nemerivim" količinama. Na ovu pretpostavku navodi podatak da se kod narednog stepena uparenja od 60%, koncentracija pojedinih supstanci u aromi paprike ponovo povećava i dostiže kritičnu koncentraciju, kada počinje ponovno naglo oslobadjanje.

Tako se kod stepena uparenja od 60%, količina oslobodjenih isparljivih materija povećava za sledećih 15,40%, računato na ukupnu količinu arome, koja je sada kod ovog stepena uparenja cca 74,73%.

Do ovog stepena uparenja ide većina proizvoda od paprike, tako da se na osnovu ovih ispitivanja, može tvrditi da će toliki gubitak aromatskih materija biti u tim proizvodima. Prema tome ugušćen pire od paprike sadrži samo 25,27% od ukupne arome ishodne sirovine. Ovaj proizvod još uvek dovoljno miriše na papriku, što s druge strane ukazuje da se još uvek nisu izgubile one aromatske materije karakteristične za

ovu vrstu povrća, koje su prema ovim ispitivanjima teže isparljive.

Kako se povećava stepen uparenja, tako se povećava i koncentracija teže isparljivih komponenti arome paprike. Sledstveno tome kod stepena uparenja od cca 80% došlo je do ponovnog većeg oslobadjanja isparljivih materija iz kaše paprike, za cca 35,25%, računato na ukupno oslobodjenu aromu. Ovako visoko koncentrisanje primenjuje se samo kod proizvodnje koncentrata paprike sa visokom suvom materijom.

Ovaj podatak ukazuje i na to da kod ovako visokih koncentracija dolazi drugi kritični momenat dearomatizacije, te ga treba u tehnologiji prerade paprike izbegavati, gde je moguće.

Interesantan je takodje i podatak (tabela 3) da se kod malih koncentracija kaše (do 20%) uparenja javljaju uglavnom sve komponente iz arome paprike, u različitim koncentracijama, tj. 41 komponenta. Verovatno je koncentracija ovih komponenti dovoljna da bi one u primenjenim vakuumskim uslovima i inertnom gasu, otparile. Početni viskozitet kaše u ovom stepenu uparenja je manji, pa je i to uzrok oslobadjanja tih komponenti. Kasnijim povećanjem koncentracije kaše povećava se i viskozitet, a samim tim menjaju se i uslovi za izdvajanje isparljivih materija koje grade aromu paprike. Tako kod porasta stepena uparenja od 20 do 40% koncentracija nekih isparljivih materija arome je toliko mala da se one ne pojavljuju u aromatskom kondenzatu, ili je njihova koncentracija ispod granice osetljivosti korišćenog gasnog hromatografa (komponente 8, 9, 14, 18, 30, 31, 34, 36, 37 i 41).

Dinamika dearomatizacije kaše paprike i ponašanje pojedinih komponenti za vreme oslobadjanja iz kaše pod vakuumom u inertnom gasu, prikazana je na tabeli broj 4.

Iz prikazanih rezultata vidi se da je aroma paprike sastavljena od različitih hemijskih materija koje imaju različita fizičko-hemijska svojstva, da prema tome i ponašanje, s obzirom na uslove dearomatizacije i primenjene temperature za destilaciju. Iz tabele i dijagrama takodje se može videti da aroma paprike ima lako, teže i teško isparljive komponente, pa se sledstveno tome, zahteva poseban tretman dearomatizacije, ekstrakcije, rektifikacije i ispitivanja na gasnom hromatografu.

Površine (količine) arome izdvojene kod pojedinih stepena uparenja kaše prikazane u tabeli broj 3 jasno ukazuju na brzinu kojom se pojedine komponente izdvajaju kod primenjenih uslova dearomatizacije. Sigurno je da promenom uslova dearomatizacije mora doći i do promene u ponašanju isparljivih materija u kaši paprike. Kod uparenja kaše od samo 20% (računato na ishodnu količinu) izdvoji se cca 46,64% od ukupne arome paprike. Kod ovog stepena uparenja soka od jabuka (60) dolazi skoro do kvantitativnog izdvajanja isparljivih materija koje čine aromu jabuke, što nije slučaj sa kašom od paprike. Ovo u isto vreme znači da će u tehnologiji prerade paprike kod svih proizvoda koji se uparavaju do 20% doći do istih gubitaka arome, ako je uparavanje pod vakuumom. Ovaj deo aromatskih materija mogao bi se označiti kao lako isparljive komponente, jer su se neke komponente kod ovog stepena kvantitativno isparile.

Porastom stepena uparenja na 60% koncentracija ovih komponenti ponovo raste, one otparavaju i javljaju se u aromatskom kondenzatu. Kod uparenja od 80% ukupan broj komponenti se smanjuje za 8 (komponente 5, 7, 15, 16, 17, 34, 36 i 38) tabela 3 - jer su se kvantitativno izdvojile u prethodnim stepenima uparenja.

Rezultati u tabeli 4. pokazuju kojom dinamikom se pojedine komponente procentualno oslobadjaju sa porastom stepena isparenja kaše. Sumiranjem rezultata u tabeli 4, mogu se sve aromatske materije ukupne arome paprike podeliti na tri grupe.

- Lakoisparljive, koje se kod stepena uparenja kaše od 20% kvantitativno izdvoje iz kaše i predju u aromatski kondenzat. To su komponente 7, 15, 16, 17, 28 i 36, na tabeli 4.

- Teže isparljive, koje se kvantitativno izdvoje kod 40% stepena isparenja kaše (komponente 5, 38).

- Teško isparljive aromatske komponente su sve one koje su se parcijalno izdvajale u raznim koncentracijama za sve vreme uparavanja od 20 do 80%. Po podacima u tabeli broj 4 ovih komponenti ima najviše, pa je i to jedan od dokaza da je aroma paprike veoma heterogena.

Ovakva podela aromatskih materija paprike je uslovna i izvedena je iz eksperimentalnih podataka dearomatizacije pod konstantnim pritiskom, temperaturom i u struji inertnog gasa koji je održavan za vreme dearomatizacije. Inertni gas je "ispirao" aromu iz kaše nezavisno od temperaturnih uslova

dearomatizacije, što svakako nije slučaj kod klasičnog uparenja. Dinamika izdvajanja aromatskih materija iz kaše paprike, jasnije se vidi iz dijagrama broj 1 na kome su nanete neke karakteristične komponente, zavisno od ponašanja pri dearomatizaciji.

Lako isparljive komponente (7, 15, 16, 17, 28 i 36) su se 100% izdvojile kod relativno malog stepena uparenja cca 20%. Kasnijom dearomatizacijom ove komponente se nisu izdvajale ili je njihova koncentracija u aromatskom kondenzatu bila ispod osetljivosti korišćenog gasnog hromatografa.

Komponenta broj 2, koja verovatno pripada etilesteru sirćetne kiseline, imala je sasvim drugačiju dinamiku oslobadjanja. Do stepena uparenja kaše cca 20% naglo se izdvojila, zatim kod narednog stepena uparenja do cca 40% neznatno se isparava, da bi se tek kod cca 60% uparenja nešto intenzivnije izdvajala i na kraju kod 80% uparenja opet neznatno izdvojila.

Slično komponenti 2 ponašala se i komponenta broj 4. Komponenta broj 22, za razliku od prethodnih, naglo je eksponovala, zatim je oslobadjanje stagniralo dok se ponovo nije dostigla kritična koncentracija kod cca 60% uparenja, kada je ponovo došlo do izdvajanja. Aromatske komponente broj 10 i 3 kod početnog uparenja kaše naglo su se izdvojile, zatim stagnirale, pa se ponovo naglo izdvajaju.

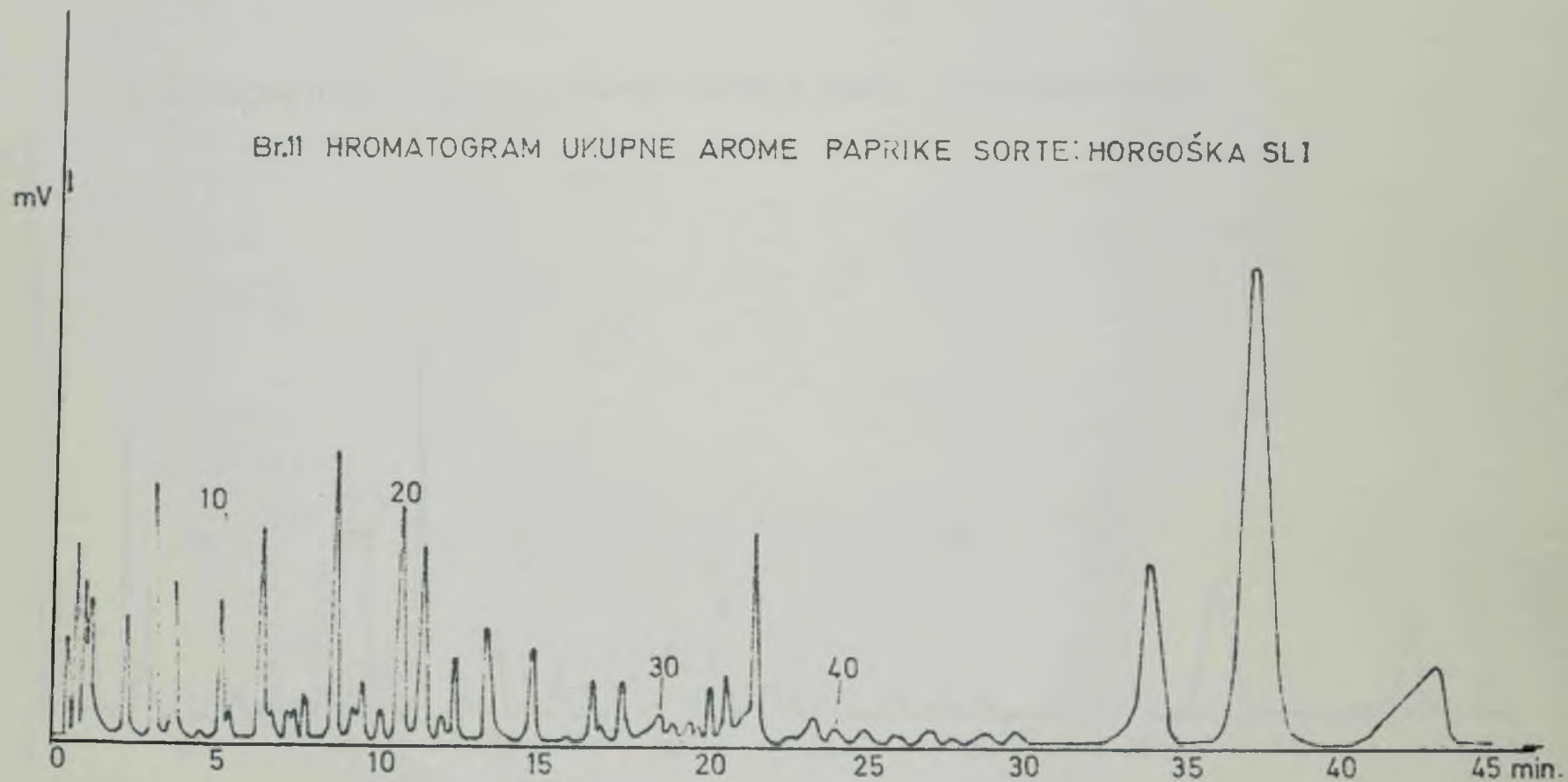
Iz prikazanog dijagrama vidi se da ne postoji nikakvo pravilo oslobadjanja aromatskih materija iz kaše paprike, jer se neke aromatske komponente ponašaju kao da grade prave rastvore, dok se druge, koje čine većinu, ponašaju kao da grade azeotropne smeše.

II.2.5. Aromatičnost paprike zavisno od sorte

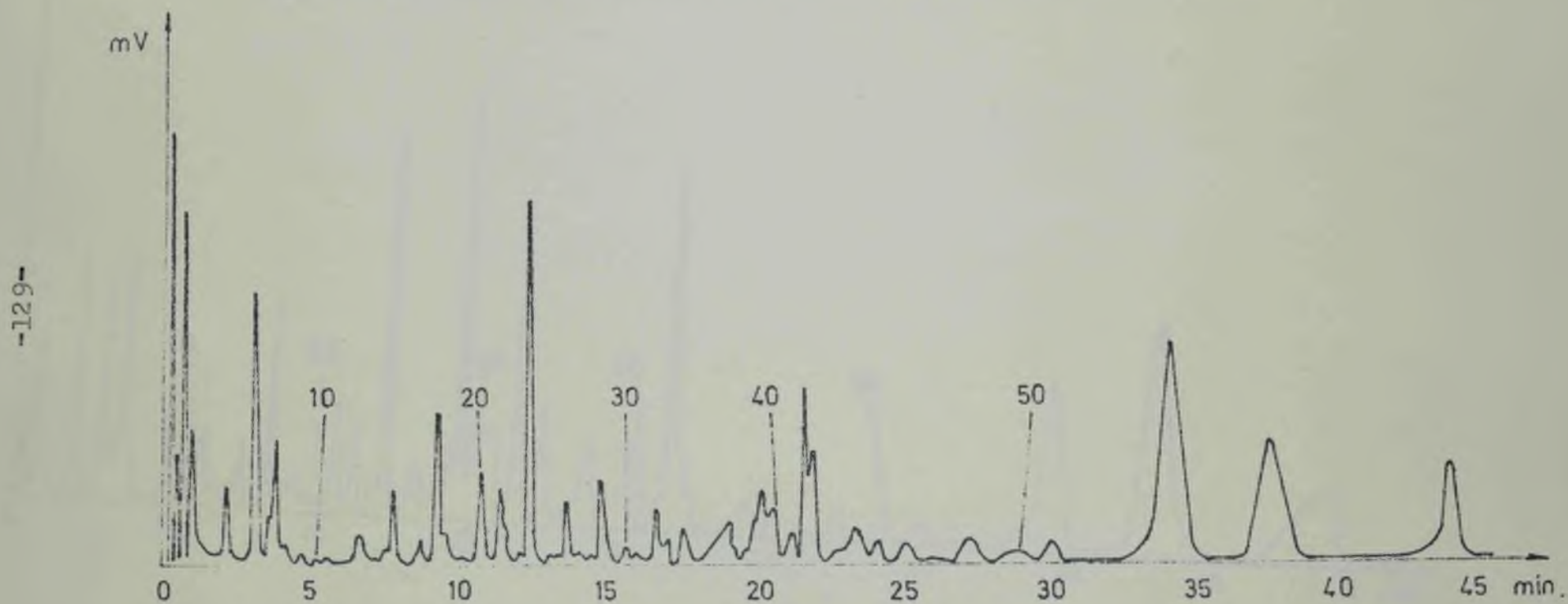
Aromatičnost ove vrste povrća od velikog je tehnološkog značaja, jer se paprika uzgaja, pored potrošnje u svežem stanju i prerade u razne plodove, i za proizvodnju raznih začina. Iz stručne literature je poznato da kvalitet paprike zavisi od sorte, načina uzgoja, primenjene agrotehnike i klimatskih uslova koji vladaju u vegetacionom periodu. U ovom radu od interesa je bilo da se kvalitet neke sorte može posmatrati i sa stanovišta aromatičnosti pa je zbog toga tražen odgovor da li je aromatičnost sortno obeležje paprike uzgajane pod istim uslovima. Za ovaj ogled su uzete četiri sorte sa iste parcele i jedna iz neposredne blizine, sa namerom da se eksperimentalno proveri da li je aromatičnost i u kojoj meri sortno obeležje ove vrste povrća. Jedna od ispitivanih sorti (Horgoška slatka) namenjena je proizvodnji mlevene začinske paprike, a ostale četiri sorte (Čudo Kalifornije, Rotunda zelena, Pazardžijska kapja i Kurtovska kapja) su najčešće korišćene za konzumnu potrošnju i preradu u razne proizvode.

Po dva kilograma od svake sorte pripremljena su za hromatografsko ispitivanje, na prethodno orisan način. Aroma po sortama snimana je na gasnom hromatografu BECKMAN GC-M, na istoj koloni i pod istim radnim uslovima kao i kod ispitivanja dinamike dearomatizacije. Rezultati dobijeni ovim ispitivanjem prikazani su na tabelama 5 i 6, a karakteristični hromatogrami po sortama od 11 do 15. Ukupna aroma po sortama izračunata je kao i kod prethodnih, merenjem površine koju zaklapaju pojedinačni pikovi i izražena u mm^2 , preračunata na osnovu osetljivosti 1×10^2 .

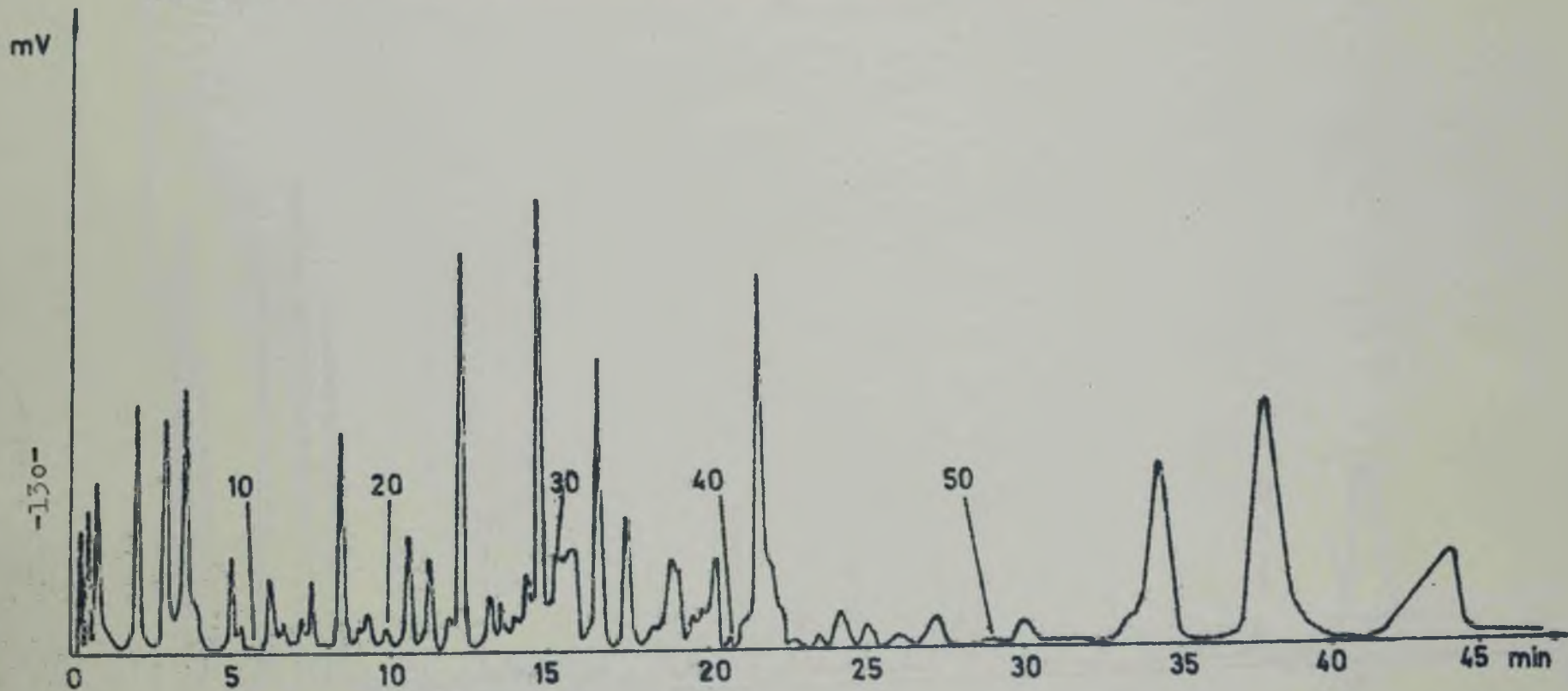
Br.11 HROMATOGRAM UKUPNE AROME PAPIRIKE SORTE: HORGOSKA SLI



Br.12 HROMATOGRAM UKUPNE AROME PAPIRIKE SORTE: ČUDO KALIFORNIJE



Br 13 HROMATOGRAM UKUPNE AROME PAPIRIKE SORTE ROTUNDA ZELENA



Br 14 HROMATOGRAM UKUPNE AROME PAPIRIKE SORTE: KURTOVSKA KAJJA



-131-

Br.15 HROMATOGRAM UKUPNE AROME PAPRIKE SORTE: PAZARDŽISKA KAPJA

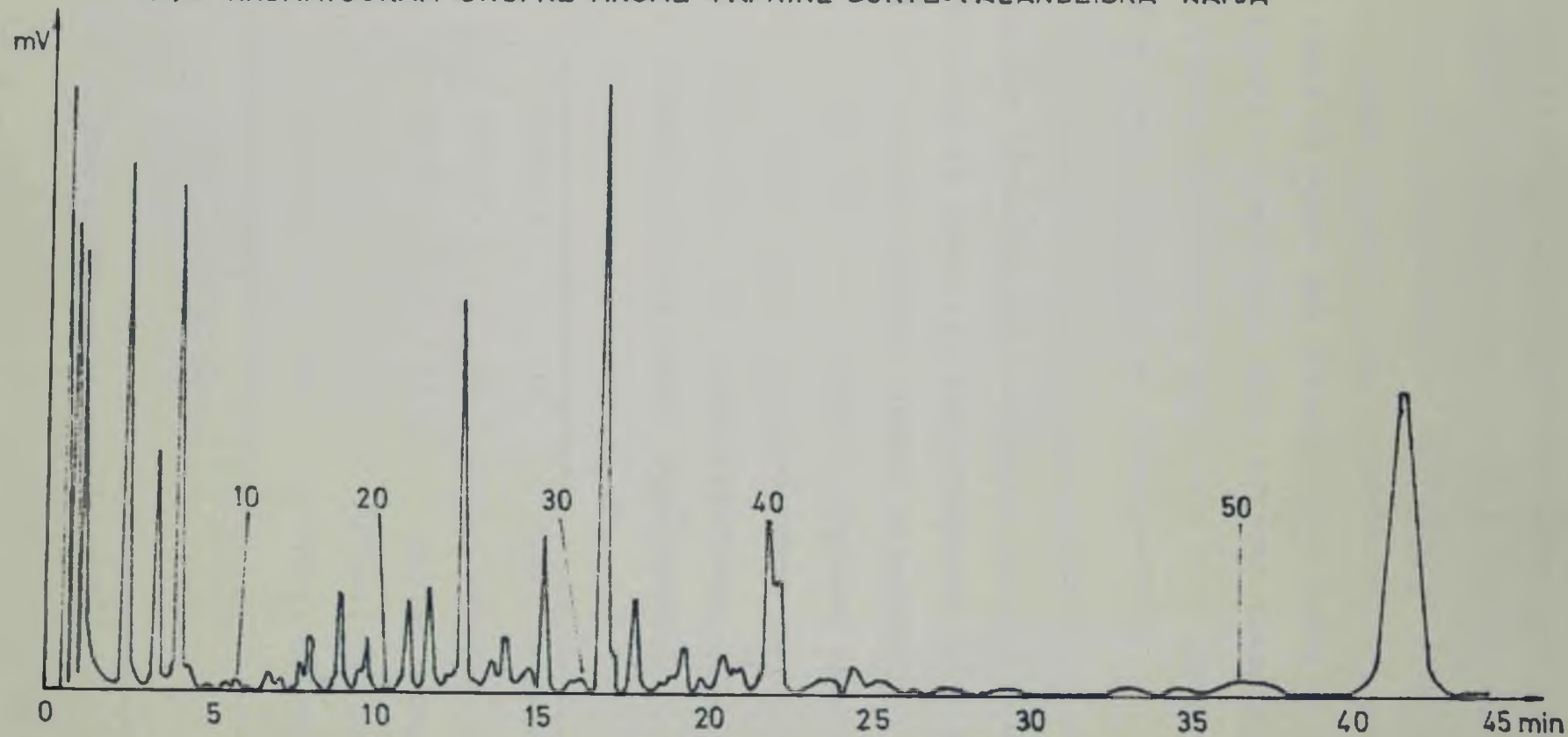


Tabela br. 5.

Ukupna aromatičnost ispitivanih sorti paprike

Redni broj	Sorte	Broj komp. arome	Ukupna aroma u mm ²	Razlika aromatič. u %
1.	Horgoška slatka I	49	129.157	100,00
2.	Čudo Kalifornije	54	128.279	99,32
3.	Rotunda zelena	57	127.586	98,55
4.	Pazardžijska kapja	52	109.745	84,97
5.	Kurtovska kapja	42	102.498	79,29

Uporedjenje aromatičnosti pojedinih sorti koje imaju različite tehnološke namene ima rezona samo u slučaju kada se želi istaći odnos pojedinih sorti različite podvrste kao što je slučaj sa podacima u tabeli 5 iz koje se vidi da i pored toga što je tehnološka namena Horgoške slatke I proizvodnja mlevene začinske paprike, a koja je uzeta za index aromatičnosti 100, ostale četiri sorte ne zaostaju mnogo u aromatičnosti jer imaju index aromatičnosti od 99,32 do 79,29.

Interesantnije je sagledati odnos aromatičnosti između sorti iste tehnološke namene, tj. ukazati na razliku u aromatičnosti između sorti prikazanih u tabeli 6. U ovom slučaju za index aromatičnosti 100 uzeta je sorta Čudo Kalifornije koja je u ispitivanju imala najviše arome. Iz podataka u tabeli 6 vidi se jasno da je aromatičnost sortno svojstvo ali i to da su razlike u ukupnoj količini arome neznatne pošto sorta Kurtovska kapja ima index aromatičnosti, kod ovog uporedjenja, 79,90.

Tabela br. 6.

Ukupna aromatičnost sorti paprike iste
tehnološke namene

Redni broj	Sorte	Ukupna aroma u mm ²	Index aromatičnosti
1.	Čudo Kalifornije	128.279	100,00
2.	Rotunda zelena	127.586	99,56
3.	Pazardžijska kapja	109.745	85,56
4.	Kurtovska kapja	102.498	79,90

Sorte paprike navedene u tabeli 6 najviše se koriste u industrijskoj preradi u razne proizvode ili konzumnoj potrošnji, pa je ovako upoređenje aromatičnosti logičnije i svrsishodnije. Kod preliminarnih ispitivanja (62) upoređena je aromatičnost istih sorti. I kod ovih ispitivanja potvrdilo se da je aromatičnost sortna osobina i da se aroma unutar ispitivanih sorti međusobno razlikuje, kako u kvalitativnom, tako i u kvantitativnom pogledu. Ukupna količina arome izražena preko površine u mm² kao i površina pojedinih komponenti međusobno se razlikuju (tabela 5). Za razliku od preliminarnih ispitivanja aromatičnosti ispitivanih sorti paprike roda 1968. godine iste te sorte u 1972. godini imale su manje ukupne arome, što je svakako posledica uzgojnih uslova. S druge strane ni uslovi snimanja arome nisu bili isti, te se i zbog toga međusobno ne mogu upoređivati.

Od značaja je svakako činjenica da se redosled aromatičnosti bez obzira na uslove uzgoja u različitim godinama

nije promenio. Kod preliminarnih, a i ovih ispitivanja aromatičnosti po sortama, nije postojala mogućnost da se sorta Horgoška slatka uzme sa istog terena, te je moguće da je aromatičnost Horgoške slatke u vezi sa mikroklimatskim i zemljišnim uslovima uzgoja.

II.2.6. Aromatičnost pojedinih delova ploda paprike

Iz prethodnih ispitivanja dobijena je informacija o pogodnosti dearomatizacije i ponašanju aromatskih materija kod dearomatizacije pod vakuumom u inertnom gasu. Od interesa u ovom radu bilo je ispitati raspodelu aromatskih materija u plodu paprike. Ovo je posledica čisto praktičnih i tehnoloških potreba, pošto se plodovi paprike mogu preradjivati ili kao celi, ili u pojedinim delovima. Na primer, kod proizvodnje mlevene paprike, biološki kišeljene i marinirane koriste se celi plodovi, dok se kod proizvodnje ajvara, koncentrata i dr. koriste samo delovi plodova - placenta. Tako će i aromatičnost ovih proizvoda biti različita.

Shodno napred izloženom, postavljen je zadatak da se ispita aromatičnost pojedinih delova ploda paprike. Za ispitivanje je uzeta sorta Rotunda zelena, a za hromatografsko ispitivanje je uzeto po dva kilograma u tri kombinacije:

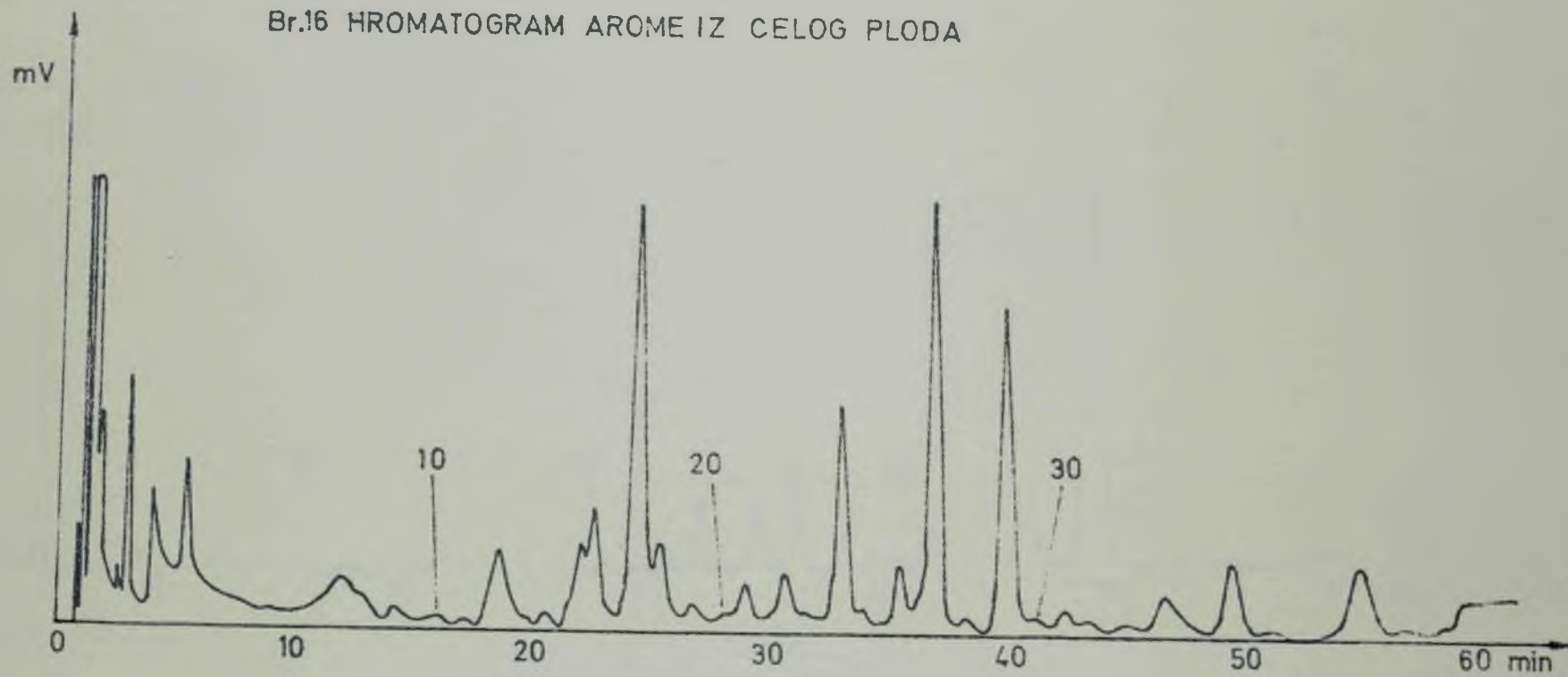
- kaša od celog ploda (placenta, seme i peteljka),
- kaša od placente, semena i semene lože,
- kaša od mesnatog dela - placente.

Koncentrovana aroma je po naznačenim kombinacijama snimljena na gasnom hromatografu BECKMAN GC-M., na metalnoj koloni dimenzija 3,6 m x 4 mm, napunjenoj 10% CARBOWAX-on 1500 na CHROMOSORB-u W 80/100 mesh-a. Uslovi snimanja bili su kao i kod prethodnih. Dobijeni rezultati prikazani su na hromatogramima od 16 do 18, koji ilustruju ukupnu aromatičnost pojedinih delova ploda paprike u kvalitativnom i kvantitativnom smislu.

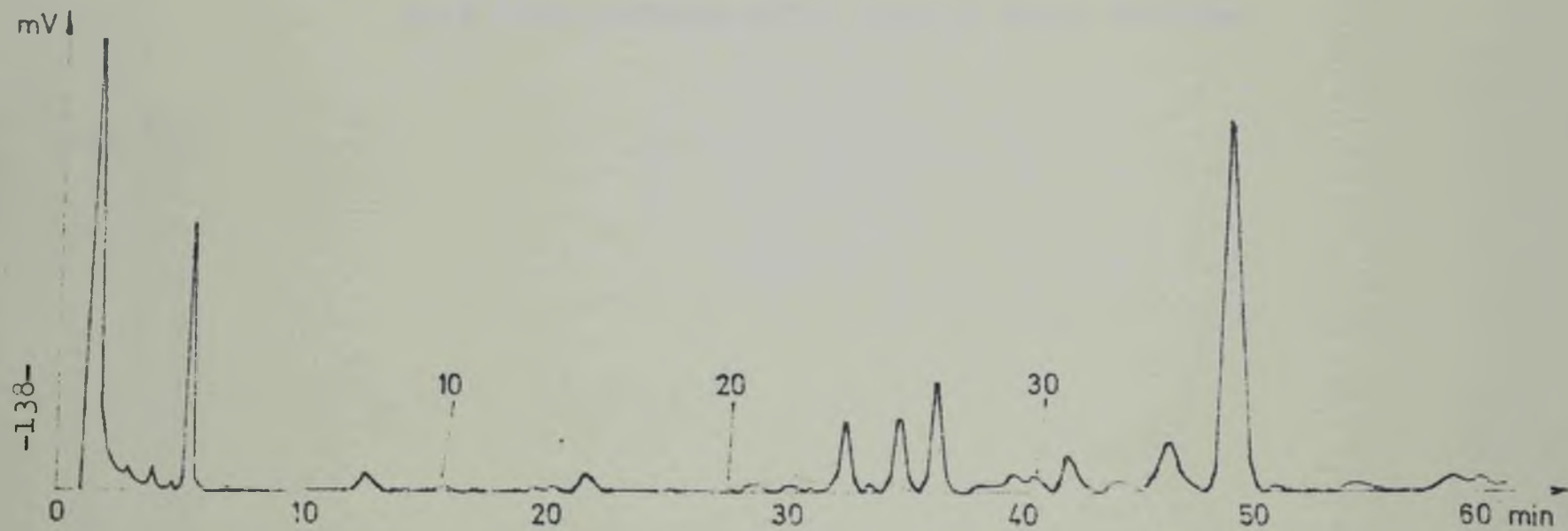
Površine pojedinih komponenti koje čine aromu i ukupna aroma pojedinih delova ploda prikazane su na tabeli 7. Računskim putem je dobijena aromatičnost onih delova ploda, koji nisu direktno mereni i prikazana je na tabeli br. 8.

Kada se od ukupne arome celog ploda (tabela 7) oduzme ukupna aroma koja pripada placenti (mesnati deo) i semenu (30.874 - 18.043) dobija se ukupna aroma koja potiče od peteljke i čašičnih listića (zeleni delovi ploda). Na sličan način dobija se ukupna aroma semena, tj. kada se od ukupne arome dobijene od snimljenog jestivog dela sa semenom oduzme ukupna aroma samo placente (tabela 7).

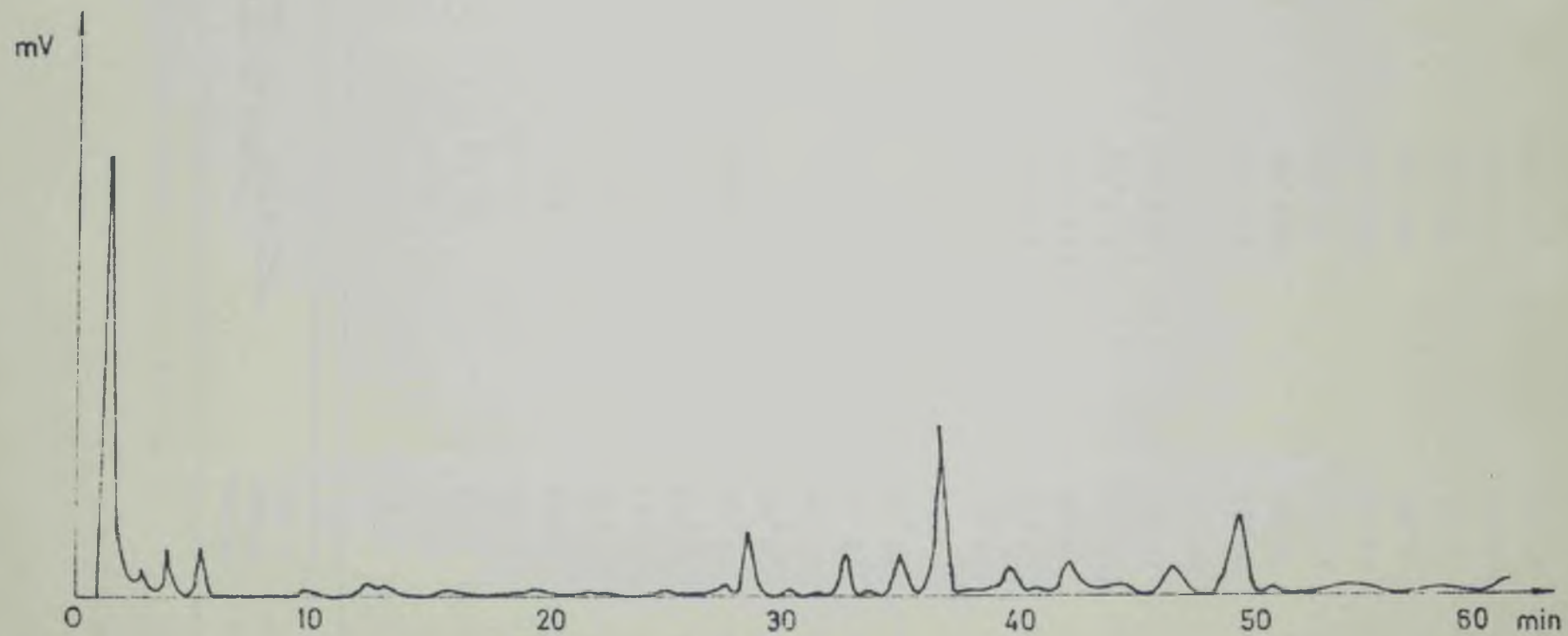
Br.16 HROMATOGRAM AROME IZ CELOG PLODA



Br.17 HROMATOGRAM AROME PAPRIKE PLACENTA+SEME



Br.18 HROMATOGRAM ARČME MESNOG DELA PLODOVA



-159-

Tabela br. 7.

Ukupna aromatičnost delova ploda paprike

Broj kom.	Reten. vreme u min.	Ukupna površina arome mm ²		
		Ceo plod	Placenta + seme	Placenta
1	2	3	4	5
1.	1,85	2,50	++	-
2.	2,78	2,25	1,00	++
3.	3,05	19,20	2,00	1,40
4.	4,08	7,08	0,30	4,40
5.	5,50	19,20	42,00	7,50
6.	9,05	0,60	++	8,00
7.	12,10	5,00	++	25,00
8.	12,88	5,00	120,00	20,00
9.	14,25	59,50	-	-
10.	15,95	32,00	32,00	17,50
11.	17,30	21,00	++	-
12.	18,70	333,00	12,00	6,00
13.	19,80	++	++	-
14.	20,65	48,00	-	-
15.	22,10	187,50	-	5,00
16.	22,70	975,00	154,00	3,00
17.	24,50	6120,00	-	5,00
18.	25,40	575,00	12,00	-
19.	26,80	175,00	-	100,00
20.	28,15	40,00	8,00	-
21.	29,05	510,00	54,00	1020,00
22.	30,70	660,00	60,00	135,00
23.	31,65	10,00	30,00	60,00
24.	33,10	3025,00	2220,00	591,25
25.	34,00	160,00	420,00	62,50
26.	35,50	742,50	2280,00	632,50
27.	36,95	6050,00	3190,00	247,50
28.	38,40	157,50	150,00	-
29.	40,05	5492,50	1400,00	420,00
30.	41,30	62,50	325,00	25,00

1	2	3	4	5
31.	42,50	332,50	1540,00	720,00
32.	43,50	105,00	-	-
33.	45,10	135,00	175,00	105,00
34.	46,80	1140,00	2860,00	742,50
35.	49,60	1330,00	1966,50	2070,00
36.	51,20	200,00	140,00	160,00
37.	55,10	2100,00	670,00	400,00
38.	57,10	35,00	480,00	170,00
		30874,33	18043,80	7704,05

++ aromatska komponenta u tragovima osetljivosti aparata

Podaci za aromatičnost pojedinih delova ploda paprike prikazani su u tabeli broj 8.

Tabela 8.

Raspodela ukupne arome u delovima ploda paprike

Redni broj	Delovi ploda	Ukupna aroma u mm ²	Procentualno učešće u pojedinim delovima
1.	Ceo plod	30.874,33	100,00
2.	Placenta (mesnati deo)	7.704,05	24,95
3.	Seme paprike	10.339,75	33,49
4.	Zeleni deo ploda	12.830,53	41,56

Iz podataka iznetih u tabeli 7 i hromatogramima (16, 17 i 18) vidi se da je ukupna aromatičnost kompletnog ploda najveća, što je i logično. Količina arome, kako u kvantitativnom, tako i u kvalitativnom pogledu, se naglo smanjuje

po pojedinim delovima ploda. Odsustvo nekih komponenti u hromatogramu 17 znači da se ta komponenta nalazi u zelenom delu ploda. Isto tako zapaža se i na hromatogramu 18 odsustvo aromatskih komponenti (1, 11, 13, 20 i 27) koje potiču iz semena, kojeg u ovoj varijanti nije bilo.

U tabeli 8 data je matematička aproksimacija ukupnih aromatskih materija po delovima plodova. Na ovaj način dobijena je aroma koja pripada zelenom delu ploda i semenu. U ovoj tabeli su dati samo približni odnosi ukupne arome. Velika ukupna površina i procentualno učešće arome iz semena i peteljke sa čašičnim listićima je prividno, jer ga čine komponente onih aromatskih materija koje nisu specifične za sortu i vrstu ovog povrća jer daju miris na zeleno. Kod ukupne arome koja pripada semenu veliko učešće i veliku površinu (količinu) arome čine teško isparljive frakcije koje se javljaju na kraju hromatograma. To su verovatno estri buterne, kapronske i kaprinske kiseline.

Senzornim ocenjivanjem (mirisom) najtipičniji miris na papriku bio je u delu arome koja potiče samo iz jestivog dela (placente) koja u ukupnoj aromi učestvuje samo sa 24,95%. Ovo je u isto vreme dokaz da intenzitet arome nije u potpunosti zavistan od količine, nego i od kompozicije aromatskih komponenti koje grade ukupnu aromu paprike. Sličan slučaj je i sa aromom iz dela peteljki čašičnih listića koja u ukupnoj aromi učestvuje sa 41,56% (tabela 8) kod senzorne ocene ova aroma je imala atipičan miris tj. miris zelene trave u početnoj fazi fermentacije. I u ovom slučaju dat je jedan dokaz

više da intenzitet arome paprike nije u direktnoj zavisnosti od ukupne količine arome.

II.2.7. Uticaoaj klimatskih uslova na ukupnu aromu paprike

Za vreme eksperimentalnog rada uziman je materijal sa različitih lokacija i godina proizvodnje. Primećeno je da kod jedne iste sorte, uzgajane na istom lokalitetu, tipu zemljišta, agrotehničkim uslovima itd., postoje znatnije razlike u ukupnoj količini arome i ukupnom broju komponenti. Ove razlike su uglavnom vezane za klimatske uslove koji su vladali tokom vegetacionog perioda, tj. u godini uzgoja sirovine.

U cilju eksperimentalne provere i potvrde navedene pretpostavke uzete su dve sorte paprike (Horgoška slatka I sa terena Futog, iz roda 1971. i 1972. godine i Rotunda zelena sa terena Srbobran, iz roda 1971. i 1972. godine), kada su klimatske prilike za vreme dozrevanja plodova bile različite. Uzorci su pripremljeni, dearomatizovani i aroma pripremljena za gas-hromatografsko ispitivanje, na prethodno opisan način. Koncentrat arome (ulje), snimljen je na gasnom hromatografu VARIAN AEROGRAF 1520. Kolona je bila staklena, dimenzija 3 m x 1,7 mm. napunjena 3% CARBOWAX-om 20 M, koji je nanet na inertni nosač CHROMOSORB W.AW.DMCS. Aparat je opremljen plamenojonizacionim detektorima i elektronskim pisačem HONYWHEEL 0,1-1 mV. Radni uslovi za vreme snimanja su bili sledeći:

- temperatura kolone 60°C izotermno 20 min, programirano 2°C/min. do 220°C, pa izotermno do kraja snimanja

- temperatura detektora 220°C
- temperatura injekcionog bloka 220°C
- gas nosač azot protok 20 ml/min
- količina uzorka 1 ul

Osetljivost pisača promjenljiva i svedena računski na maksimalnu osetljivost.

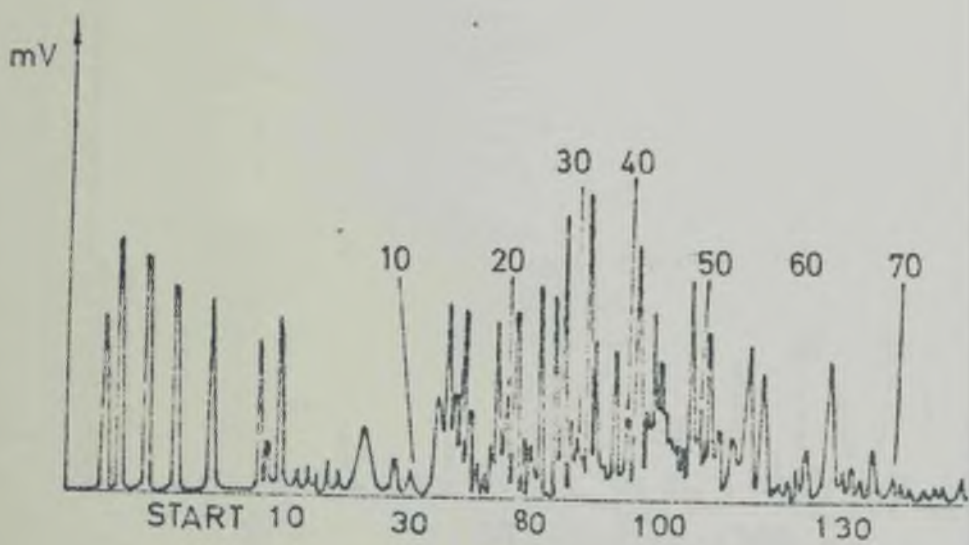
Rezultati dobijeni ovim snimanjem prikazani su na hromatogramima (19 aroma paprike iz 1971. godine, 20 aroma Horgoške slatke iz 1972. godine) i hromatogramima (broj 21 aroma paprike Rotunda zelena iz 1971. godine odnosno 22 aroma iz 1972. godine).

Podaci ukupne arome po godinama za sortu Horgoška slatka prikazani su u tabeli 9, dok su podaci za ukupnu aromu po godinama za sortu Rotunda zelena prikazani na tabeli broj 10.

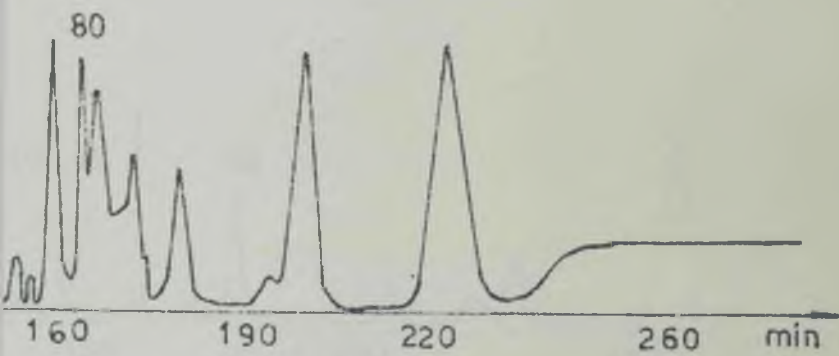
Arome za ispitivane sorte su snimljene na istom aparatu i pod istim uslovima, pa se mogu međusobno upoređivati, kako po godinama, tako i po sortama.

Br.19 HROMATOGRAM UKUPNE AROME PAPRIKE

-145-



HS1/1971 GODINU



Br.20 HROMATOGRAM UKUPNE AROME PAPIRIKE HS1/1972 GODINE

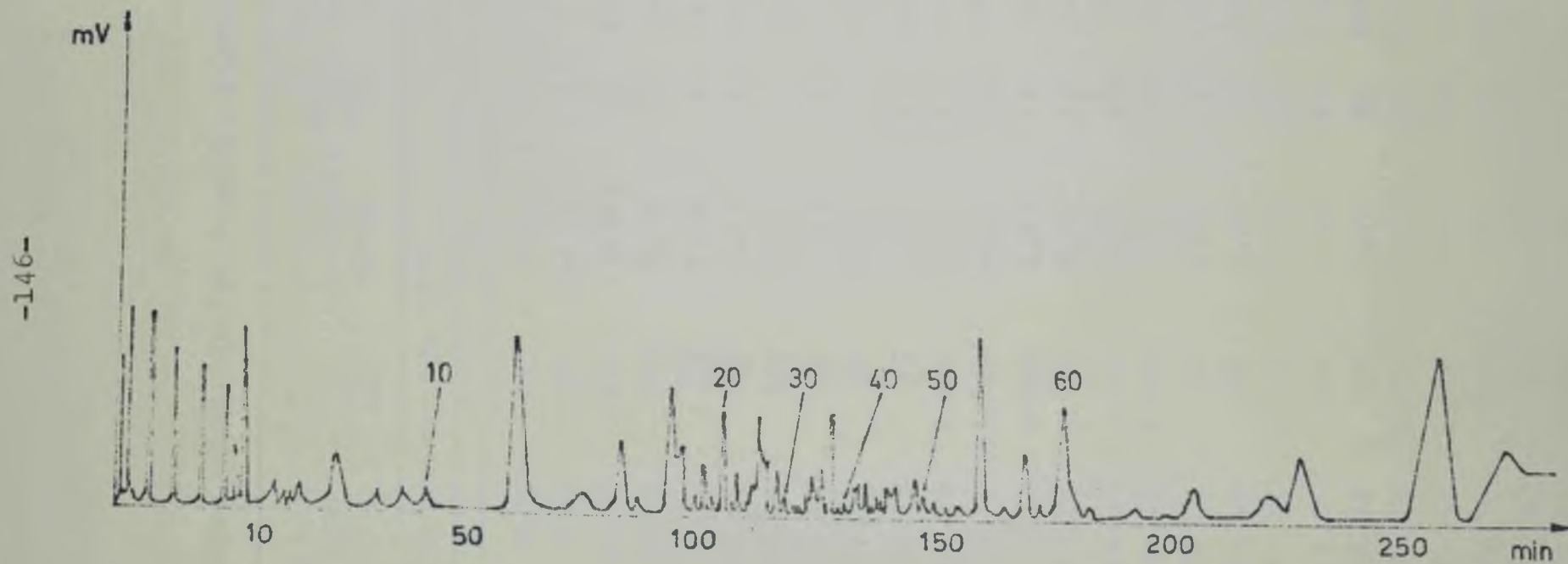


Tabela br. 9.

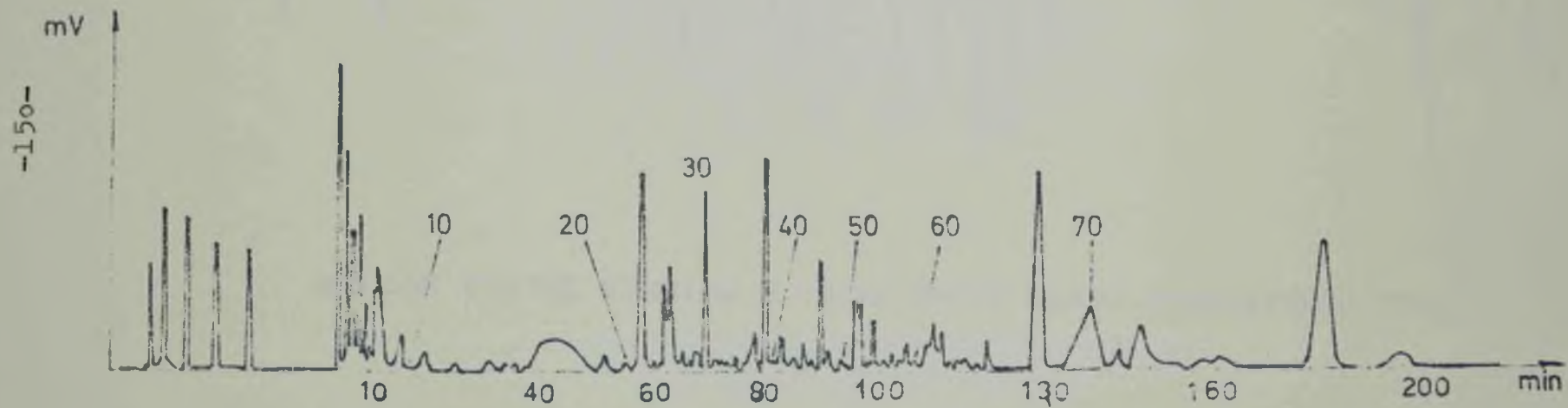
Ukupna aroma paprike Hergoška slatka I u 1971/72. godini

Broj pika	Reten. vreme min.	Ukupna površ. kom. u mm ²	% učešća u ukupnoj aromi	Broj kom.	Reten. vreme min.	Ukupna površ. kom. u mm ²	% učešća u ukupnoj aromi
Godina proizvodnje 1971.				Godina proizvodnje 1972.			
1	2	3	4	5	6	7	8
1.	6,80	3.720	2,03	1.	4,58	5.040	9,50
2.	8,50	18.880	10,34	2.	5,67	24.640	46,70
3.	11,75	3.600	1,97	3.	13,00	11.760	22,25
4.	13,45	128	0,07	4.	14,84	96	0,18
5.	14,70	72	0,03	5.	16,00	120	0,22
6.	16,80	252	0,13	6.	18,33	266	0,50
7.	18,90	112	0,06	7.	25,75	396	0,74
8.	22,71	405	0,22	8.	34,42	68	0,11
9.	27,75	96	0,05	9.	39,42	136	0,25
10.	30,25	68	0,03	10.	44,84	90	0,17
11.	64,83	1.856	1,01	11.	63,17	1.125	2,12
12.	66,25	11.904	6,52	12.	77,50	168	0,32
13.	67,50	2.240	1,22	13.	85,33	496	0,95
14.	68,50	6.720	3,68	14.	88,84	30	0,05
15.	69,50	2.560	1,40	15.	95,67	200	0,50
16.	70,94	1.472	0,80	16.	98,00	26	0,05
17.	72,00	90	0,04	17.	101,00	32	0,05
18.	73,50	168	0,09	18.	102,50	105	0,20
19.	74,15	1.164	0,63	19.	104,58	48	0,08
20.	75,00	324	0,12	20.	106,84	129	0,25
21.	75,80	324	0,12	21.	108,00	++	
22.	77,25	23.424	12,83	22.	108,84	15	0,02
23.	78,47	5.448	2,98	23.	109,67	76	0,14
24.	79,65	480	0,26	24.	111,50	++	
25.	80,35	80	0,04	25.	113,00	++	
26.	81,00	2.192	1,14	26.	114,00	84	0,15
27.	82,70	++		27.	114,84	++	
28.	83,50	1.392	0,76	28.	115,42	++	

1	2	3	4	5	6	7	8
29.	85,30	3.476	1,90	29.	117,67	144	0,27
30.	86,25	124	0,06	30.	119,50	45	0,00
31.	87,15	136	0,07	31.	120,50	++	
32.	87,90	++		32.	121,33	++	
33.	89,00	1.092	0,59	33.	122,00	++	
34.	90,15	300	0,16	34.	123,00	++	
35.	90,94	++		35.	124,17	++	
36.	91,30	++		36.	125,42	23	0,05
37.	92,20	++		37.	126,17	++	
38.	93,40	328	0,17	38.	127,50	90	0,17
39.	94,25	++		39.	129,00	204	0,60
40.	95,40	282	0,15	40.	131,00	++	
41.	97,00	1.240	0,67	41.	132,00	30	0,05
42.	98,83	24	0,01	42.	134,00	++	
43.	99,75	276	0,14	43.	134,50	++	
44.	100,70	144	0,07	44.	136,50	82	0,16
45.	101,75	++		45.	138,00	++	
46.	102,50	++		46.	139,00	42	0,07
47.	103,30	++		47.	139,67	12	0,02
48.	104,70	34	0,04	48.	141,00	25	0,05
49.	105,90	660	0,36	49.	143,67	33	0,06
50.	106,70	108	0,05	50.	146,67	120	0,22
51.	107,70	136	0,07	51.	148,50	45	0,09
52.	108,83	435	0,23	52.	150,00	++	
53.	110,35	120	0,06	53.	151,20	36	0,06
54.	111,40	++		54.	153,50	20	0,04
55.	112,20	136	0,07	55.	156,00	49	0,09
56.	115,50	900	0,49	56.	160,42	252	1,65
57.	117,50	740	0,40	57.	166,00	35	0,25
58.	119,10	++		58.	169,67	324	0,62
59.	120,10	++		59.	173,17	22	0,14
60.	120,60	++		60.	177,84	240	1,60
61.	121,65	48	0,02	61.	193,00	40	0,08
62.	122,85	64	0,03	62.	202,50	64	0,13
63.	124,35	132	0,07	63.	209,50	24	0,04

1	2	3	4	5	6	7	8
64.	126,47	++		64.	215,17	130	0,25
65.	128,80	850	0,46	65.	231,50	216	0,42
66.	130,35	56	0,03	66.	238,00	598	1,14
67.	131,70	160	0,03	67.	247,00	3.168	5,93
68.	133,30	72	0,03	68.	251,00	252	0,47
69.	135,50	148	0,03				
70.	138,55	28	0,01				
71.	139,75	16	0,01				
72.	141,30	12	0,01				
73.	143,75	28	0,01				
74.	145,50	21	0,01				
75.	148,85	18	0,01				
76.	149,75	60	0,03				
77.	153,40	160	0,03				
78.	155,50	60	0,03				
79.	158,80	9.240	5,06				
80.	163,40	228	0,12				
81.	165,85	469	0,25				
82.	172,00	480	0,26				
83.	174,00	++					
84.	179,50	990	0,54				
85.	194,35	88	0,05				
86.	200,50	2.370	1,29				
87.	224,00	67.200	36,81				
		182.920	99,71			52.843	100,01

Br.21 HROMATOGRAM UKUPNE AROME PAPRIKE ROTUNDA ZELENA 1971 GOD.



Br.22 HROMATOGRAM UKUPNE AROME PAPIRIKE ROTUNDA ZELENA 1972 GOD

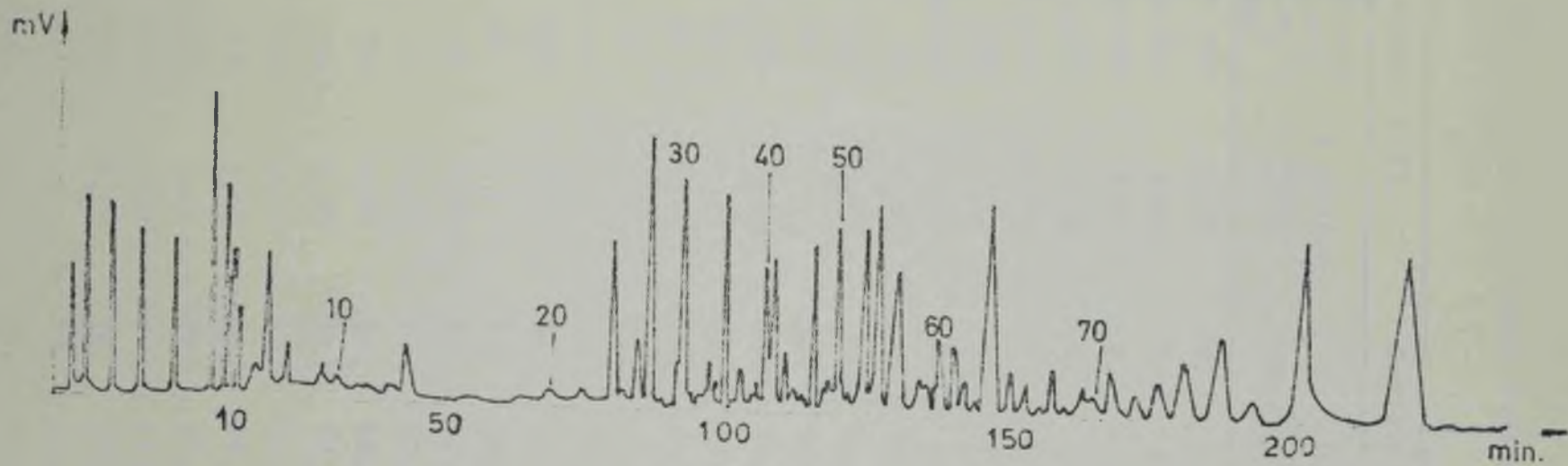


Tabela br. 10.

Ukupna aroma napriake Rotunda zelena iz 1971/72. god.

Godina proizvodnje 1971.				Godina proizvodnje 1972.			
Broj komp.	Reten. vreme min.	Ukupna površ. komp. u mm ²	% učešća u ukupnoj aromi	Broj komp.	Reten. vreme min.	Ukupna površ. komp. u mm ²	% učešća u ukupnoj aromi
1.	6,00	1.668	2,14	1.	4,17	1.536	2,03
2.	7,05	2.560	3,29	2.	5,00	2.512	3,35
3.	8,12	1.440	1,85	3.	6,00	2.208	2,92
4.	8,88	1.803	2,32	4.	7,17	3.360	4,45
5.	9,83	4.160	5,35	5.	8,17	896	1,12
6.	13,15	560	0,72	6.	9,17	192	0,25
7.	15,25	2.352	32,5	7.	9,67	30	0,04
8.	19,05	35	0,11	8.	10,50	60	0,08
9.	25,31	60	0,08	9.	15,00	112	0,14
10.	27,42	++		10.	16,00	++	
11.	28,63	28	0,04	11.	16,84	++	
12.	31,45	++		12.	19,00	52	0,07
13.	33,40	++		13.	24,42	24	0,03
14.	37,77	++		14.	30,33	28	0,03
15.	38,92	++		15.	33,50	++	
16.	40,15	234	0,30	16.	35,25	++	
17.	47,42	++		17.	30,17	++	
18.	51,25	36	0,05	18.	42,08	690	0,90
19.	61,75	37	0,05	19.	51,50	42	0,05
20.	60,95	54	0,07	20.	55,33	++	
21.	73,12	34	0,05	21.	57,67	435	0,60
22.	78,95	406	0,52	22.	60,00	++	
23.	80,52	18	0,03	23.	61,00	++	
24.	83,12	192	0,24	24.	62,00	54	0,07
25.	85,05	648	0,82	25.	65,04	100	0,15
26.	85,52	10.000	12,60	26.	66,17	22	0,03
27.	87,55	++		27.	67,17	++	
28.	89,45	++		28.	67,42	++	
29.	90,63			29.	68,17	++	

1	2	3	4	5	6	7	8
30.	91,55	510	0,64	30.	69,33	798	1,05
31.	92,51	++		31.	71,00	++	
32.	94,30	++		32.	71,84	++	
33.	96,20	60	0,08	33.	73,25	++	
34.	97,55	48	0,06	34.	74,00	++	
35.	99,00	330	0,42	35.	75,00	27	0,03
36.	100,63	++		36.	76,00	++	
37.	102,12	81	0,10	37.	77,00	++	
38.	104,22	++		38.	78,00	50	0,07
39.	105,05	21	0,03	39.	80,00	338	0,53
40.	106,48	364	0,47	40.	81,50	14	0,02
41.	107,53	++		41.	83,00	69	0,10
42.	108,02	332	0,42	42.	85,50	32	0,04
43.	110,12	120	0,15	43.	87,00	27	0,03
44.	111,95	72	0,09	44.	88,50	14	0,02
45.	112,85	12	0,01	45.	90,00	200	0,30
46.	113,78	18	0,03	46.	91,42	21	0,03
47.	115,55	756	0,97	47.	92,50	++	
48.	117,08	144	0,10	48.	93,67	22	0,03
49.	118,10	60	0,08	49.	94,50	++	
50.	119,20	768	0,93	50.	95,50	++	
51.	121,90	30	0,05	51.	96,50	15	0,02
52.	124,72	1.056	1,56	52.	97,17	20	0,03
53.	126,68	++		53.	98,33	++	
54.	127,15	900	1,15	54.	99,42	72	0,10
55.	130,71	1.470	1,85	55.	100,58	++	
56.	135,05	72	0,10	56.	101,67	12	0,02
57.	136,47	100	0,12	57.	102,84	30	0,04
58.	137,65	++		58.	104,33	++	
59.	138,67	550	0,71	59.	105,42	45	0,05
60.	141,05	300	0,30	60.	107,33	15	0,02
61.	143,54	72	0,09	61.	109,50	++	
62.	145,31	48	0,06	62.	110,42	40	0,05
63.	147,90	2.240	2,90	63.	111,84	55	0,07
64.	151,71	272	0,34	64.	113,53	++	
65.	154,82	220	0,28	65.	115,00	++	

1	2	3	4	5	6	7	8
66.	157,54	50	0,07	66.	116,33	++	
67.	159,87	204	0,26	67.	118,50	++	
68.	162,02	42	0,05	68.	120,33	36	0,24
69.	165,08	112	0,14	69.	129,67	57.000	70,21
70.	167,09	84	0,11	70.	139,00	714	0,94
71.	170,48	390	0,50	71.	144,33	50	0,97
72.	174,95	388	0,50	72.	148,50	270	0,35
73.	179,28	540	0,70	73.	158,17	24	0,93
74.	184,12	810	1,04	74.	161,17	72	0,10
75.	190,75	1.320	1,70	75.	182,00	2.304	3,05
76.	196,81	352	0,45	76.	197,00	170	0,25
77.	206,00	2.304	2,96				
78.	225,20	33.856	43,55				
		77.870	100,00			75.567	100,00

++ aromatska komponenta detektovana u tragovima. Na hromatogramima je malo uvećana, posle preračunavanja površina, da bi se kod kopiranja i umanjanja u razmeri očitala.

Za hromatografisanje uzet je jedan mikrolitar arome radi lakšeg upoređenja. Kod snimanja arome paprike na gasnom hromatografu postoje velike tehničke teškoće o kojima će biti govora kasnije. Aroma paprike je po svome sastavu veoma heterogena, pa je praktično nemoguće naći univerzalnu kolonu tj. punjenje kolone koje će imati istu moć razdvajanja različitih grupa hemijskih spojeva koji grade ukupnu aromu paprike. Prethodna proučavanja i stečena iskustva kod snimanja arome na gasnom hromatografu na staklenim kolonama čije je punjenje prethodno navedeno, ukazala su na to da je samo u slučaju injektiranja malih količina koncentrovane arome (1 ul) i određenog programiranog rada aparata uz veoma visoku osetljivost elektrometra, moguće razdvojiti aromu paprike na osnovne

komponente a da pri tome ne dodje do preopterećenja kolone i naglog smanjenja selektivne moći korišćene kolone.

Iz prikazanih karakterističnih hromatograma i tabele 9. vidi se da se aromatičnost Horgoške slatke po godinama proizvodnje međusobno razlikovala u kvalitativnom i kvantitativnom pogledu. Tako je ukupan broj komponenti koje grade aromu bio 87/hromatogram 19, tabela 9/, dok je ukupan broj komponenti iste sorte u 1972. godini bio 68 (hromatogram 20, tabela 9). Razlika od 19 komponenti nije beznačajna i ona se odrazila na ukupnu količinu arome, tako da je ukupna aromatičnost ove sorte u 1971. godini bila za 3,6 puta veća u poredjenju sa 1972. godinom. Pored uticaja različitih klimatskih uslova na razliku u ukupnoj aromatičnosti imaju svakako i genetska svojstva ove sorte (koja nije sortno čista nego tvorevina višegodišnje selekcije). Poznato je da se kod promene genetskih svojstava u prvom redu menja boja, pa aromatičnost itd.

Kod sorte Rotunda zelena broj aromatskih komponenti koje grade ukupnu aromu (hromatogram 21) bio je u 1971. godini 78, dok je u 1972. godini (hromatogram 22, tabela 10) iznosio 76 komponenti. Razlike u broju komponenti kod ove sorte mnogo su manje tj. samo dve komponente, dok je razlika u ukupnoj količini arome značajnija. Pored klimatskog uticaja i ovde su verovatno genetski faktori bili presudni, jer je ova sorta sortno čistija. Iz rezultata prikazanih u tabelama i dijagramima može se zaključiti da klimatski uslovi u uzgojnoj sezoni imaju velikog uticaja na formiranje arome, naročito za vreme sazrevanja, i to kako u kvalitativnom, tako i u kvantitativnom

smislu. Na ovakvu pretpostavku ukazuju i meteorološki podaci za pojedine faktore koji su od uticaja za formiranje arome a koji su vladali 1971. i 1972. godine.

U avgustu mesecu, kada se formira aroma, 1971. godine suma srednjih dnevnih temperatura iznosila je $675,5^{\circ}\text{C}$, sa prosečnom srednjom dnevnom temperaturom za posmatrani mesec od $21,8^{\circ}\text{C}$. Od većeg značaja za formiranje arome je svakako broj sunčanih časova koji je za posmatrani mesec iznosio 3.252 časa, uz zbir srednjih dnevnih relativnih vlažnosti od 226,7% i srednjom relativnom vlažnošću od 73%.

U narednoj 1972. godini meteorološke prilike za formiranje arome u ispitivanim sortama paprike bile su mnogo lošije jer je zbir srednjih dnevnih temperatura u avgustu iznosio $601,6^{\circ}\text{C}$, sa srednjom mesečnom temperaturom od $19,4^{\circ}\text{C}$. Broj sunčanih časova je bio još nepovoljniji - 2.440 časova, uz zbir relativne vlažnosti 2492% i srednju mesečnu vlažnost od 80%.

II.2.8. Odredjivanje ukupne arome u paprici

Buttery i sar. (49) su 1969. godine ispitivali aromatičnost zelene zvonaste paprike uzete sa tržnice, uz primenu savremene instrumentalne tehnike (gasna hromatografija, infracrvena spektrofotometrija, magnetna rezonanca i masena spektroskopija). Primenom standardne GLC, na kapilarnoj koloni, dimenzija 1000 foot-a x 0,03 insh-a, napunjenoj silikonskim uljem SF, na 5% Igepal-u CO-880, uz programiranu

temperaturu od 70 do 170°C, sa 0,5°C/min, izdvojili su ukupno 68 komponenti iz arome ispitivane paprike. Na osnovu naših ispitivanja i iz prikazanih hromatograma, i pored toga što autori u radu ne izveštavaju da su kod snimanja imali izvesnih tehničkih teškoća, smatramo da se kod primene ovako savremene instrumentalne tehnike moralo izdvojiti više komponenti, iako se radi o aromi zelene paprike. Na ovakvu postavku ukazuje i opšti izgled hromatograma i položaj bazne linije, iz čega se može zaključiti da kolona nije imala dobro razdvajanje komponenti.

Wendell i sar. (46) su ispitivali aromu cvetne začinske višegodišnje paprike koja je intenzivno crvene boje, izrazito ljuta i namenjena za proizvodnju ljutog kapsaicinskog ekstrakta. Autori su za snimanje koristili standardnu GLC, infracrvenu spektrofotometriju, nuklearnu magnetnu rezonancu i masenu spektroskopiju. Korišćene su relativno dugačke metalne kolone, dimenzija 50-ft x 0,02 inch-a, napunjene Apiezonom L. i Versamidom. Temperatura je programirana od 65 - 200°C, po 1°C/min a dobili su ukupno 124 komponente. Autori rada ne izveštavaju zbog čega nisu snimili ukupnu aromu ispitivane paprike, nego su je razdvojili na frakcije koje su pojedinačno snimali. Iz prikazanog hromatograma vidi se takođe da i ova kolona nije idealno razdvajala komponente, te je to verovatno bio razlog ovakvog prilaza problemu.

Naša preliminarna ispitivanja ukazala su na teškoće koje se javljaju kod snimanja ukupne arome paprike na gasnom hromatografu. Aroma paprike je bogata hemijskim

jedinjenjima, koja su po svojim fizičko-hemijskim osobinama veoma različita, te se njihovo razdvajanje lakše postiže ako se aroma podeli na hemijske grupe, pri čemu se mogu efikasno primeniti i različita punjenja kolone.

Za određivanje ukupne arome paprike u ovom radu korišćena je sorta Rotunda zelena, a radi poredjenja aromatičnosti uzeta je sorta Horgoška slatka I. Ove dve sorte uzete su zbog toga što se prva sorta veoma mnogo preradjuje u razne proizvode od paprike, dok se druga koristi samo za proizvodnju začinske mlevene paprike. Za određivanje su uzeti plodovi iz reda 1971. godine, jer su prethodna ispitivanja pokazala da je u ovoj godini aromatičnost ovih sorti bila najveća u odnosu na prethodne ispitivane godine. Od obe sorte uzeto je po 2 kg kaše koja potiče od celog ploda, a aroma je za gasnohromatografska ispitivanja pripremljena na prethodno opisani način.

Za snimanje ukupne arome preliminarno su ispitana razna punjenja i kolone. Isprobana je metalna kolona punjena 15% Silicon SE 30 na Chromosorb-u W., zatim Ucon na Chromosorb-u i Carbowax 1500 i 4000 na Chromosorb-u. Ova ispitivanja su ukazala da korišćena punjenja ne razdvajaju efikasno pojedinačne komponente iz ukupne arome paprike. Posebna teškoća je bila u nedostatku bilo kakvih ranijih iskustava ili radova na problematici određivanja ukupne arome paprike, a naročito na određivanje optimalnog režima i programa rada gasnog hromatografa, kako bi se dobili potpuni i simetrični hromatogrami sa pravilnim pikovima i dobrim razdvajanjem komponenti na koloni.

Nešto dužim eksperimentisanjem ustanovljeno je da ukupnu aromu paprike zadovoljavajuće razdvaja staklena kolona, dimenzija 3 m x 1,7 mm, napunjena 3% Carbowax-om 20 M., na Chromosorb-u W.AW.DMCS. Ovakvo punjenje je, uz pedesat protok gasa nosača (azot), odgovarajući programirani rad aparata VARIAN 1520, omogućilo dosta dobro razdvajanje aromatskih materija paprike. Razdvajanje je bilo zadovoljavajuće u poredjenju sa prethodno citiranim radovima, u kojima je primenjena mnogo savremenija instrumentalna tehnika, jer je dobijen veći broj komponenti od rada (49). Ovi autori su za snimanje koristili kapilarnu kolonu dužine cca 305 m, ali su dobili manje komponenti (46) nego Wendell (124) koji je za snimanje izrazito aromatične paprike koristio kapilarnu kolonu dužine 15,24 m.

Ukupna aroma ispitivanih sorti paprike razdvojena je na pomenutom gasnom hromatografu pod sledećim uslovima rada:

- temperatura kolone 60°C, izotermno 30 minuta, programirano 2°C/min do 220°C, pa izotermno do kraja ispitivanja
- temperatura injekcionog bloka 220°C
- temperatura plamencjonizacionih detektora 220°C
- količina uzorka uzetog za ispitivanje 1 ml
- gas nosač azot 20 ml/min

Gasni hromatograf je radio promenljivom osetljivošću 1 - 128. Rezultati dobijeni ovim ispitivanjem preračunati na maksimalnu osetljivost rada aparata i prikazani na hromatogramu 19 (za Horgošku slatku I) i 21 (za Rotundu zelenu).

Ukupna količina arome prikazana je na tabelama 11 (za Horgošku slatku) i 12 (za Rotundu zelenu).

Zbog male količine arome uzete za hromatografsku analizu (jer veće količine arome smanjuju efikasnost razdvajanja na koloni), neke komponente su se javile u tragovima. Ove komponente su na hromatogramu posle preračunavanja malo povećane da bi se komponente detektovane u tragovima bolje markirale.

Tabela br. 11.

Ukupna aroma paprike Horgoška slatka I

Broj komp.	Retenc. vreme u min.	Ukupna površ. komponente u mm ²	%-no učešće komponente u ukupnoj aromi	PRIMEDBA
1	2	3	4	5
1.	6,80	3.720	2,03	
2.	8,50	18.880	10,34	
3.	11,75	3.600	1,97	
4.	13,45	128	0,07	
5.	14,70	72	0,03	
6.	16,80	252	0,13	
7.	18,90	112	0,06	
8.	22,71	405	0,22	
9.	27,75	96	0,05	
10.	30,25	68	0,03	
11.	64,83	1.856	1,01	
12.	66,25	11.904	6,52	
13.	67,50	2.240	1,22	
14.	68,50	6.720	3,68	
15.	69,50	2.560	1,40	
16.	70,94	1.472	0,80	
17.	72,00	90	0,04	
18.	73,50	168	0,09	
19.	74,15	1.164	0,63	

1	2	3	4	5
20.	75,00	324	0,12	
21.	75,80	324	0,12	
22.	77,25	23.424	12,83	
23.	78,47	5.448	2,98	
24.	79,65	480	0,26	
25.	80,35	80	0,04	
26.	81,00	2.192	1,14	
27.	82,70	++		
28.	83,50	1.392	0,76	
29.	85,30	3.476	1,90	
30.	86,25	124	0,06	
31.	87,15	136	0,07	
32.	87,90	++		
33.	89,00	1.092	0,59	
34.	90,15	300	0,16	
35.	90,94	++		
36.	91,30	++		
37.	92,20	++		
38.	93,40	328	0,17	
39.	94,25	++		
40.	95,40	282	0,15	
41.	97,00	1.240	0,67	
42.	98,83	24	0,01	
43.	99,75	276	0,14	
44.	100,70	144	0,07	
45.	101,75	++		
46.	102,50	++		
47.	103,30	++		
48.	104,70	84	0,04	
49.	105,90	660	0,36	
50.	106,70	108	0,05	
51.	107,70	136	0,07	
52.	108,83	435	0,23	
53.	110,35	120	0,06	
54.	111,40	++		
55.	112,20	138	0,07	

1	2	3	4	5
56.	115,50	900	0,49	
57.	117,50	748	0,40	
58.	119,10	++		
59.	120,10	++		
60.	120,60	++		
61.	121,65	48	0,02	
62.	122,85	64	0,03	
63.	124,35	132	0,07	
64.	126,47	++		
65.	128,80	850	0,46	
66.	130,35	56	0,03	
67.	131,70	160	0,08	
68.	133,30	72	0,03	
69.	135,50	148	0,08	
70.	138,55	28	0,01	
71.	139,75	16	0,01	
72.	141,30	12	0,01	
73.	143,75	28	0,01	
74.	145,50	21	0,01	
75.	146,85	18	0,01	
76.	149,75	60	0,03	
77.	153,40	160	0,08	
78.	155,50	60	0,03	
79.	158,80	9.240	5,06	
80.	163,40	228	0,12	
81.	165,85	469	0,25	
82.	172,00	480	0,26	
83.	174,00	++		
84.	179,50	990	0,54	
85.	194,35	88	0,05	
86.	200,50	2.370	1,29	
87.	224,00	67.200	36,81	
		182.920	99,71	

Tabela br. 12.

Ukupna aroma paprike Rotunda zelena

Broj komp.	Retenc. vreme u min.	Ukupna površ. komponente u mm ²	%-no učešće komponente u ukupnoj aromi	PRIMEDBA
1	2	3	4	5
1.	6,00	1.668	2,14	
2.	7,05	2.560	3,29	
3.	8,12	1.440	1,85	
4.	9,88	1.800	2,32	
5.	9,83	4.160	5,35	
6.	13,15	560	0,72	
7.	15,25	2.352	3,25	
8.	19,05	85	0,11	
9.	25,31	60	0,08	
10.	27,42	++		
11.	28,63	28	0,04	
12.	31,45	++		
13.	33,40	++		
14.	37,77	++		
15.	38,92	++		
16.	40,15	234	0,30	
17.	47,42	++		
18.	51,25	36	0,05	
19.	61,75	37	0,05	
20.	66,95	54	0,07	
21.	73,12	34	0,05	
22.	78,95	406	0,52	
23.	80,52	18	0,03	
24.	83,12	192	0,24	
25.	85,05	648	0,82	
26.	85,52	10.000	12,60	
27.	87,55	++		
28.	89,45	++		
29.	90,63	++		
30.	91,55	510	0,64	

1	2	3	4	5
31.	92,51	++		
32.	94,30	++		
33.	96,20	60	0,08	
34.	97,55	49	0,06	
35.	99,08	330	0,42	
36.	100,63	++		
37.	102,12	81	0,10	
38.	104,22	++		
39.	105,05	21	0,03	
40.	106,48	364	0,47	
41.	107,53	++		
42.	108,02	332	0,42	
43.	110,12	120	0,15	
44.	111,95	72	0,09	
45.	112,85	12	0,01	
46.	113,78	18	0,03	
47.	115,55	750	0,87	
48.	117,08	144	0,18	
49.	118,10	60	0,08	
50.	119,20	768	0,98	
51.	121,90	36	0,05	
52.	124,72	1.056	1,56	
53.	126,68	++		
54.	127,15	900	1,15	
55.	130,71	1.470	1,85	
56.	135,05	72	0,10	
57.	136,47	100	0,12	
58.	137,65	++		
59.	138,67	556	0,71	
60.	141,05	300	0,30	
61.	143,54	72	0,09	
62.	145,31	48	0,06	
63.	147,90	2.240	2,90	
64.	151,71	272	0,34	
65.	154,82	220	0,28	
66.	157,54	50	0,07	

1	2	3	4	5
67.	159,87	204	0,26	
68.	162,02	42	0,05	
69.	165,08	112	0,14	
70.	167,09	84	0,11	
71.	170,46	390	0,50	
72.	174,95	388	0,50	
73.	179,28	540	0,70	
74.	184,12	810	1,04	
75.	190,75	1.320	1,70	
76.	196,81	352	0,45	
77.	206,00	2.304	2,96	
78.	225,20	33.856	43,55	
		77.870	100,00	

Karakteristični hromatogram ukupne arome Horgoška slatka I pokazuje da je aromatičnost ove sorte veoma velika, kako po broju komponenti, tako i po količini ukupne arome, pošto je detektovano ukupno 87 komponenti sa ukupnom površinom od 192.920 mm². Od značaja je da se mnoge komponente javljaju samo u tragovima (27, 32, 35, 36, 37, 45 i dr.). Prema poziciji na hromatogramu ove komponente se nalaze na mestu estara, pa je velika verovatnoća da su to estri arome. Mada se ove komponente javljaju samo u tragovima, one imaju veliku ulogu u izgradnji celokupne arome, karakteristične za sortu i vrstu povrća.

Ovako veliko bogatstvo aromatskih materija očekivano je za ovu sortu, koja se isključivo koristi za proizvodnju začina, gde je aromatičnost primarni uslov.

Ako se ovo ispitivanje uporedi sa radovima (46), tj. aromatičnošću cvetne paprike koja ima sličnu namenu kao Horgoška slatka s obzirom na broj razdvojenih komponenti i primenjenu instrumentalnu tehniku, ova sorta je aromatičnija od cvetne paprike.

Na ovakvu pretpostavku ukazuje izgled hromatograma 19, jer bi se kod primene kapilarne kolone sigurno razdvojio veći broj komponenti, pošto su pikovi nekih komponenti adirani.

Aromatičnost sorte Rotunda zelena je manja u odnosu na aromatičnost prethodne sorte, s obzirom da ukupnu aromu ove sorte gradi 78 komponenti sa površinom od 77.870 nm^2 . Kod ove sorte, kao i kod prethodne, javlja se 16 komponenti samo u tragovima, ali je njihova uloga veoma značajna, kao što je prethodno naglašeno. Prema izgledu hromatograma (21) i broju detektovanih komponenti može se sa velikom sigurnošću tvrditi da je aroma Rotunde mnogo bogatija od arome zvonaste zelene paprike (49).

Analiziranjem hromatograma (19 i 21) i tabele (11, 12) primećuje se da je procentualno učešće većine komponenti u ukupnoj aromi ispod 5%, kod obe sorte. Izuzetak predstavljaju komponente 2, 12, 22, 79 i 87 kod sorte Horgoška slatka i komponente 5, 26, 78 kod sorte Rotunda zelena.

Karakteristično je da je kod obe sorte najveće učešće poslednje komponente tj. kod Horgoške slatke 36,81% i 43,55% kod Rotunde. S obzirom na mesto koje zauzimaju na hromatogramima, velika je verovatnoća da su to komponente iz grupe estara (buterne, kapronske ili kaprinske kiseline).

S obzirom na značaj sorte Rotunda zelena u pre-
radi i potrošnji, za dalja istraživanja arome korišćena je
ova sorta.

II.2.9. Hromatografsko odredjivanje hemijskih grupa u aromi paprike

Preliminarna ispitivanja u ovom radu kao i istra-
živanja (46 i 49) su ukazala na činjenicu da su aromatske ma-
terije paprike veoma specifične i da se kod gasnohromatografskih
odredjivanja ne ponašaju potpuno regularno, tj. ne razd-
vajaju se sa istim uspehom na koloni. Do sada nije bilo moguće
pronaći neko univerzalno punjenje kolone koje bi sa podjednaki-
uspehom omogućilo razdvajanje aromatskih komponenti koje čine
ukupnu aromu paprike. Za identifikaciju pojedinačnih kompenen-
ti u ukupnoj aromi potrebna je savremenija instrumentalna teh-
nika (gasna hromatografija u kombinaciji sa infracrvenom spek-
trofotometrijom i masenom spektroskopijom), kojem u ovom radu
nije raspolagano. Zbog toga je u ovom radu korišćen sistem
identifikacije na osnovu retencionih vremena čistih test sup-
stanci i retencionih vremena ispitivanih supstanci, pri kon-
stantnim uslovima rada. Test supstance (Fluka AG, Chemische
Fabrik, Buchs, Schweiz) činile su grupe alkohola, kiselina,
estara, aldehida, ketona, fenola.

Paralelnim snimanjem test supstanci i pripremlje-
nih aromatskih frakcija po grupama hemijskih jedinjenja, pod
istim uslovima, tj. na istoj koloni, istom punjenju i uslovima
rada omogućeno je uslovna identifikacija preko retencionih

vremena. Poredjenjem retencionih vremena poznatih supstanci i ispitivanih komponenti dobijena je identifikacija aromatskih materija paprike. Identifikacija pomoću retencionih zapremina nije korišćena u ovom radu.

Ukupna aroma je frakcionisana po hemijskim grupama na kiseline, alkohole, fenole, aldehide i ketone. Aromatski koncentracije pojedinih hemijskih grupa su pripremljeni na prethodno opisane načine, i snimljeni na gasnom hromatografu.

Ovakav način prilaska problemu omogućio je lakše snimanje i primenu različitih kolona, što je dalo mogućnost razdvajanja većeg broja komponenti koje grade aromu paprike, kao i mogućnost identifikacije pojedinačnih komponenti iz hemijskih grupa. Identifikacija pojedinačnih komponenti u ukupnoj aromi nije moguća, jer je primenjena kolona i punjenje sa različitim uspehom razdvajala pojedine komponente.

Odredjivanje alkohola i estara

Od raspoloživih test alkohola napravljena je smeša od 16 komponenti i snimljena na istoj koloni, punjenju i uslovima rada aparata kao i ispitivana smeša alkohola iz paprike.

Iz ukupne arome paprike alkoholi su izdvojeni prevodjenjem u benzoilestre čijom je saponifikacijom dobijena aroma sa prirodnim alkoholima koji se nalaze u aromi paprike. Medjutim, nisu svi benzoilestri saponifikovali, što je potvrđeno snimanjem na gasnom hromatografu.

Alkoholi su ispitivani na gasnom hromatografu VARIAN 1800, na koloni od nerđajućeg metala, dimenzija 4,6 m x 2 mm, napunjenoj 10% CARBOWAX-om 20 M. na CHROMOSORP-u W.AW.DMCS 60/72 mesh-a.

Uslovi rada su bili sledeći:

- temperatura kolone 40°C, 13 min, programirano 4°C/min do 220°C, a zatim izotermno do kraja snimanja
- temperatura plamenojonizacionih detektora 240°C
- temperatura injekcionog bloka 290°C
- gas nosač azot 25 ml/min
- količina uzorka alkohola iz arome 1 ul, test supstance 0,5 ul.

Pisač elektronski VARIAN, brzine 0,5 cm/min, promenljiva osetljivost, kod struje detektora od 10^{-10} A od 1-256. Hromatogram je preračunat i sveden na maksimalnu osetljivost aparata.

Rezultati ovih ispitivanja su za test supstancu prikazani na hromatogramu br .23. Retencionna vremena, tačke ključanja i molekulske težine test alkohola prikazane su na tabeli 13.

Br.23 TEST HROMATOGRAM ALKOHOLA

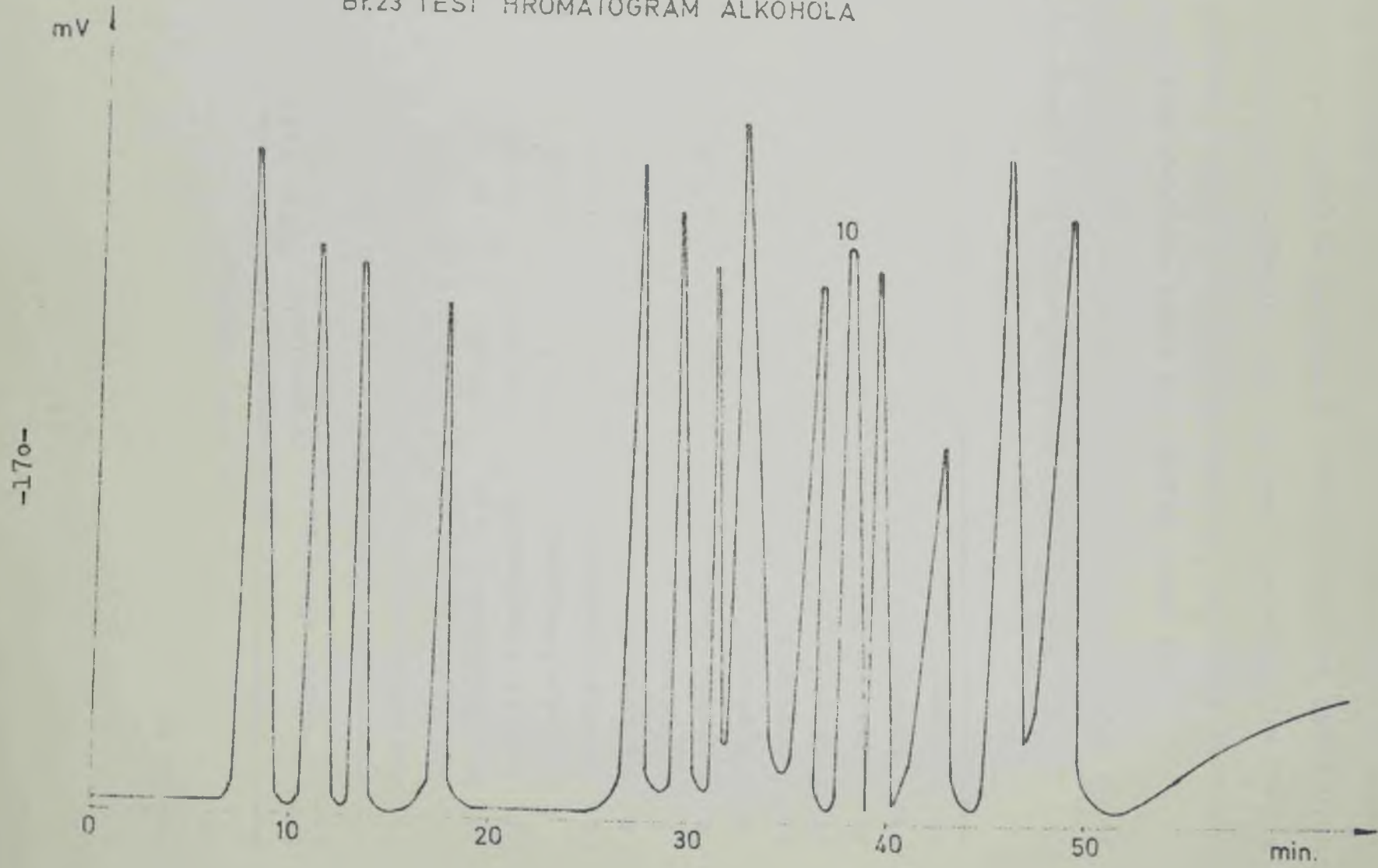


Tabela br. 13.

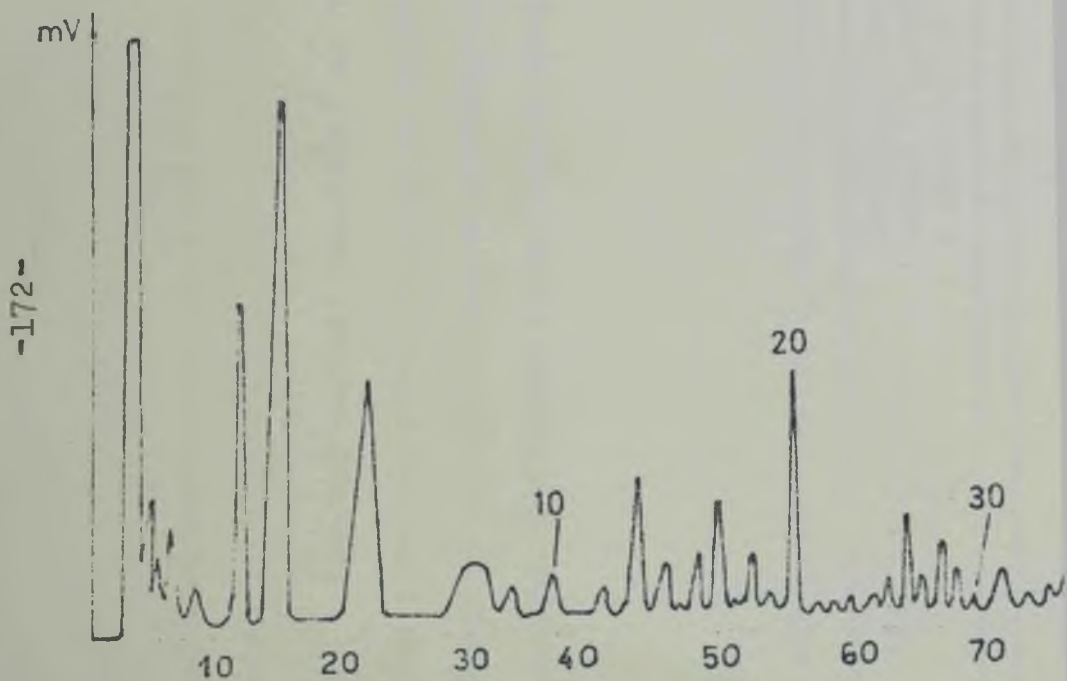
Osobine test alkohola

Broj komp.	Naziv alkohola	Molekulska težina	Tačka ključanja °C	Retencijsko vreme u min.
1.	Metanol+etanol	32,04-46,07	65-78	3,00
2.	Izopropanol	60,10	82-83	11,00
3.	Krotilalkohol	72,11	84	13,33
4.	2-metil-2-butandiol	86,15	95-99	17,67
	2-metil-2-butanol	88,15	101,8	17,67
5.	3-metil-2-butanol	88,15	114,0	27,33
6.	3-pentanol	88,15	115,6	29,33
7.	2-pentanol	88,15	119,2	31,17
8.	2-metil-1-butanol	88,15	148,0	32,67
9.	3-heptanol	116,20	157,	36,50
10.	1-heptanol	116,20	176,0	38,00
11.	2-oktanol	130,23	180,0	38,33
12.	1,3-butandiol	90,12	207,0	42,83
13.	1-nonanol	144,26	213,0	46,00
14.	1-dekanol	158,29	231,0	49,00

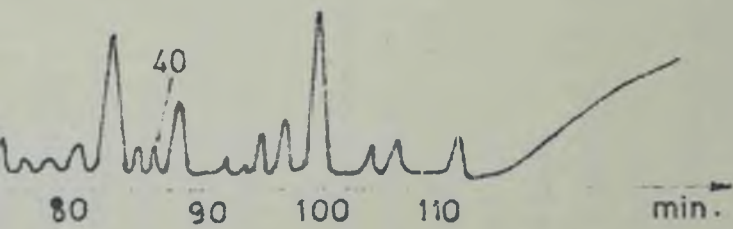
Iz prikazanog hromatograma (23) i tabele 13 vidi se da primenjena kolona i punjenje dobro razdvajaju alkohole.

Na istoj koloni i u istim uslovima snimljeni su alkoholi izdvojeni iz arome paprike, a dobijeni rezultati prikazani su na hromatogramu 24. Kod izdvajanja pojedinih hemijskih grupa iz ukupne arome, primenjeni postupci nisu dobro razdvojili alkohole od estara. Na osnovu dobijenih rezultata vidi se da su se alkoholi razdvojili zajedno sa teže isparljivim estrima. Odstranjivanje estara iz alkoholne frakcije nije dalo željene rezultate, jer su se pored estara gubile i neke

Br.24 HROMATOGRAM ALKOHOLA I ESTARA U AROMI



PAPRIKE ROTUNDA ZELENA



alkoholne komponente koje se u alkoholnoj frakciji javljaju u tragovima.

Zadovoljavajući rezultati su dobijeni gasnohromatografskim odredjivanjem alkohola sa pripadajućim estrima. Površine komponenti, kao i ukupna površina alkohola i estara iz arome paprike, prikazani su na tabeli broj 14 i hromatogramu 24.

Tabela 14.

Alkoholi i estri u aromi paprike Rotunda zelena

Broj komp.	Identifikovana komponenta	Retenc. vreme u min.	Površina komponente u mm ²	%-no učešće u ukupnoj aromi
1	2	3	4	5
1.	etilacetat	2,00	12,00	0,01
2.	propilacetat	3,00	16,00	0,02
3.	etilvalerijat	4,00	24,00	0,02
4.	pentilacetat	5,80	32,00	0,03
5.	metanol + etanol	9,20	33.280,00	31,89
6.	krotilalkohol	14,00	3.072,00	2,94
7.	x	24,00	800,00	0,77
8.	2-metil-2-butanol	27,80	5,33	0,01
9.	3-pentanol	31,50	85,33	0,08
10.	heksanol	36,00	106,66	0,10
11.	1-heptanol	38,00	672,00	0,64
12.	1-oktanol	38,55	224,00	0,22
13.	metilkaproat	41,00	5,33	0,01
14.	etilkaproat	41,80	640,00	0,61
15.	1,3-butandiol	43,00	960,00	0,92
16.	nerol	44,00	10,66	0,01
17.	geraniol	45,00	1.059,33	1,02
18.	etilsalicilat	47,00	230,66	0,22
19.	n-dekanol	48,20	2.282,66	2,19

1	2	3	4	5
20.	x	50,50	10,66	0,01
21.		51,00	10,60	0,01
22.		51,50	20,33	0,02
23.		52,50	64,00	0,06
24.		54,00	42,66	0,06
25.		57,20	43,33	0,04
26.		58,25	1.440,00	1,38
27.		60,60	256,00	0,04
28.		61,30	1.600,00	1,53
29.		62,30	1.563,00	1,50
30.		64,50	42,66	0,04
31.	etilizovalerijat	66,00	682,66	0,05
32.		67,00	21,33	0,02
33.		69,00	21,33	0,02
34.		70,00	853,33	0,82
35.	etilestar cimetine	72,00	100,66	0,10
36.		73,10	21,33	0,02
37.		76,50	265,00	0,25
38.		77,80	6.274,66	8,01
39.		81,20	21,33	0,02
40.		82,00	21,33	0,02
41.		83,10	1.706,66	1,64
42.	etilcrotonat	87,60	42,66	0,04
43.	izopentilacetat	89,00	21,33	0,02
44.		89,60	42,66	0,04
45.		92,00	170,66	0,16
46.	etilvalerijat	93,50	44.800,00	42,93
47.	etilzobutirat	97,50	170,66	0,16
48.	etilkapronat	100,00	341,33	0,33
49.	etilkaprinat	106,60	130,00	0,17
			104.368,18	100,00

Iz prikazanog hromatograma 24 i tabele 14 vidi se da se u aromi paprike identifikovalo 12 alkohola i 15 estara od ukupno 49 eluiranih komponenti.

Na osnovu retencionih vremena ispitivanih i test supstanci izvršena je uslovna identifikacija alkohola i pripadajućih estara. Estri koji su se izdvojili zajedno sa alkoholima identifikovani su na osnovu test hromatograma broj 27 i tabele broj 17.

Na osnovu retencionih vremena ispitivanih i test supstanci identifikovano je ukupno 12 alkohola. Procentualno učešće alkohola u ukupnoj aromi alkoholne frakcije je malo, sa izuzetkom metilnog alkohola, koji je zastupljen sa 31,88% (tabela 14). Nešto veće učešće sa cca 2-3% je zapaženo kod krotil alkohola (komponenta 6) i n-dekanola (komponenta 10). Može se pretpostaviti da ovi alkoholi u aromi paprike imaju ulogu rastvarača aromatskih materija.

Poređenjem retencionih vremena test estara (tabela 17) sa estrima koji su se izdvojili zajedno sa alkoholima, identifikovano je 15 različitih estara iz arome paprike (tabela 14). Učešće estara u alkoholnoj frakciji arome paprike veoma je malo, ali je broj estarskih komponenti relativno veliki. Sa izuzetkom etilvalerijata (komponenta 40), koji učestvuje sa veoma velikim procentom od 42,92%, ostali estri su zastupljeni u veoma malim količinama (ispod jedan %).

Odredjivanje kiselina i estara

Organske kiseline koje se nalaze u aromi su polarna jedinjenja, pa se gasnochromatografski mogu odredjivati na pedesnoj koloni do C₁₀ atoma. Za odredjivanje kiselina u aromi paprike je izdvojena kisela frakcija arome koja je na anjonsko-izmenjivačkoj koloni Amberlit IRA-400 pretvorena pomoću hloriranog metanola u metilne estere masnih kiselina po metodi (77).

Priprema smole: 10 g Amberlita mešano je 5 minuta sa 25 ml 1 n NaOH. Tečan deo je odbačen, a smola isprana nekoliko puta destilovanom vodom a zatim 3 puta sa po 35 ml anhidrovanog etanola i 3 puta sa po 25 ml petroletra.

Metilovanje masnih kiselina: sipa se 0,1 g aromatskih materija i 40-50 ml petroletra i pomeša sa 10 g pripremljene smole u tikvici sa ravnim dnom. Na magnetnoj mešalici uz povratni hladnjak se meša 30 minuta. Pri tome se masne kiseline vežu na smolu, a tečni deo se odekantira. Amberlit IRA-400 se zatim ispere tri puta sa po 25 ml petroletra.

Na smolu se posle ispiranja sipa 25 ml anhidrovanog metanola, zasićenog sa HCl i meša na magnetnoj mešalici, uz povratni hladnjak, 25 minuta. Tečni deo je zatim odekantiran preko grubog filter papira, a smola isprana 2 puta sa po 15 ml anhidrovanog hlorovanog metanola, uz mešanje po 5 minuta. Dobijeni etanohlorovani rastvori su sjedinjeni i dodato im je 10 ml destilovane vode. Metilni estri se iz vodenog rastvora ekstrahuju petroletrom, na opisani način. Vodeni sloj se ispere dva puta sa po 20 ml petroletra. Petroletarski ekstrakti se sjedine i ispiraju sa po 50 ml destilovane vode, sve dok se ne oslobode kiseline uz kontrolu lakmus papirom. Dobijeni estri se suše natrijum sulfatom i aroma rektifikuje na laboratorijskom uredjaju za otparavanje rastvarača (slika 3), u struji azota.

Dobijeni estri su hromatografisani na gasnom hromatografu VARIAN 1800. Za razdvajanje metilnih estara korišćena je kolona od nerđajućeg čelika, dimenzije 1,5 m x 2 mm,

napunjena 20% DEGS + 2% H_3PO_4 na CHROMOSOB-u W.AW.DMCS. 60/72 mesh-a.

Kod ovih radnih uslova očekivano je dobro razdvajanje masnih kiselina, mada preliminarna ispitivanja nisu dala zadovoljavajuće rezultate. Ponovljeno snimanje originalnog uzorka kiselih aromatskih komponenti, razdvojenih na prethodno opisani način, bez metilovanja, dalo je veoma dobro razdvajanje prirodnih organskih kiselina i estara koji se nisu mogli odvojiti primenjenom metodom za odvajanje kiselina iz arome paprike.

Razdvajanjem na gasnom hromatografu dobijen je dobro razvijen test hromatogram i hromatogram uzorka kiselina iz arome paprike.

Uslovi rada su bili:

- temperatura kolone, izotermno na $130^{\circ}C$
- temperatura plamenojonizacionih detektora $240^{\circ}C$
- temperatura injekcionog bloka $240^{\circ}C$
- gas nosač azot, protok 48 ml/min
- količina uzetog uzorka kiselina iz arome 1 nl,

test supstance 0,1 nl

- pisač VARIAN brzina pisača 0,5 cm/min, osetljivost kod struje detektora 10^{-10} A., do 1 do 256.

Hromatogrami su sredjeni i preračunati na maksimalnu osetljivost aparata.

Rezultati ovih ispitivanja za test supstance kiselina prikazani su na hromatogramu 25. Retenciono vreme tačke ključanja i molekulska težina test kiselina prikazani su na tabeli broj 15.

Br.25- TEST HROMATOGRAM KISELINA

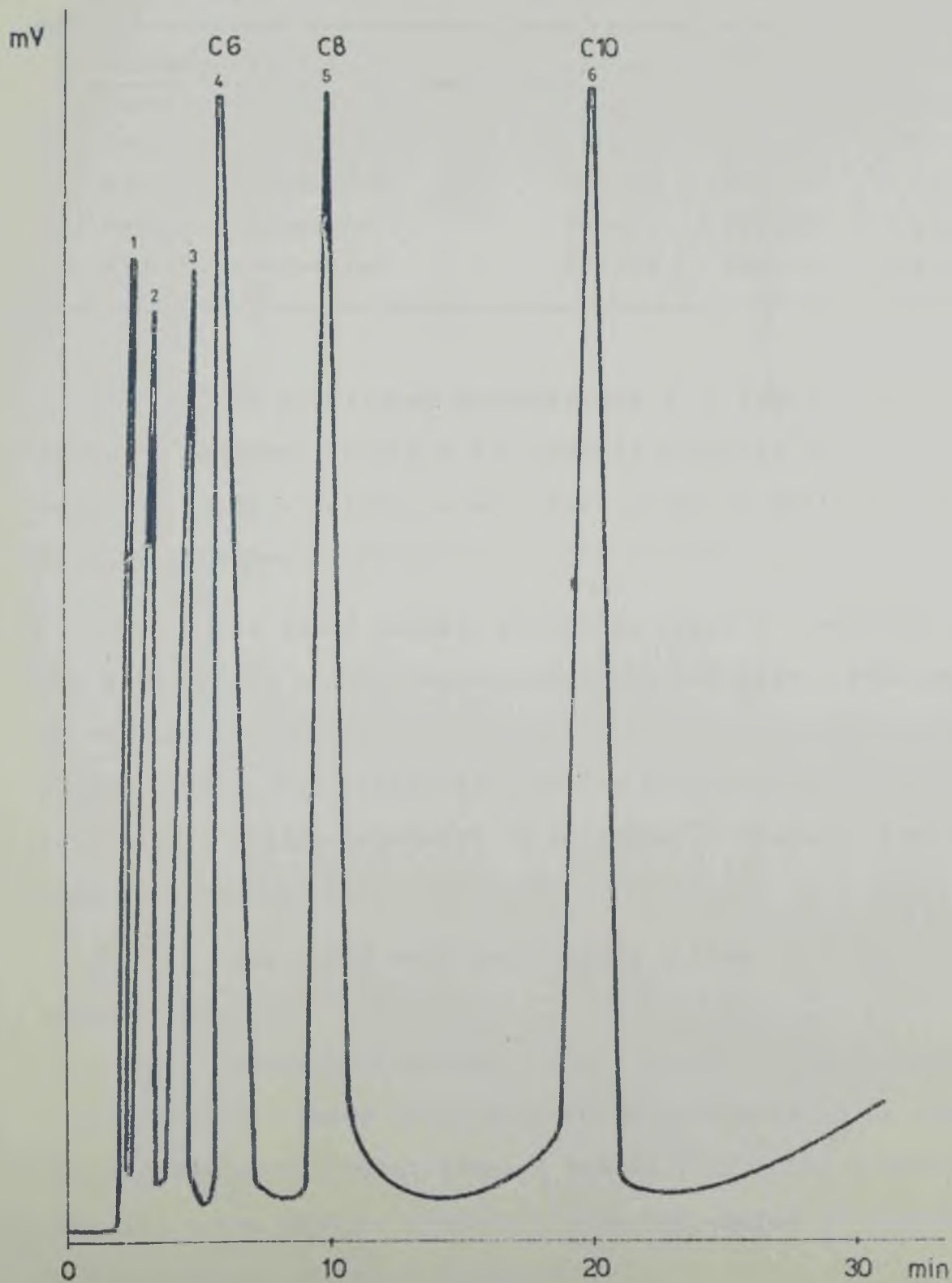


Tabela br. 15.

Osobine test kiselina

Broj komp.	Naziv kiseline	Molek. težina	Tačka ključanja °C	Retenc. vreme u min.
1.	Sirćetna kiselina	60,05	118,10	2,67
2.	Izobuterna+buterna	88,10	156-164	3,33
3.	Izovalerijanska	102,30	177,00	5,00
4.	Kapronska kiselina	116,60	205,60	5,83
5.	Kaprilna kiselina	144,21	239,21	10,00
6.	Kaprinska kiselina	172,26	268,70	20,00

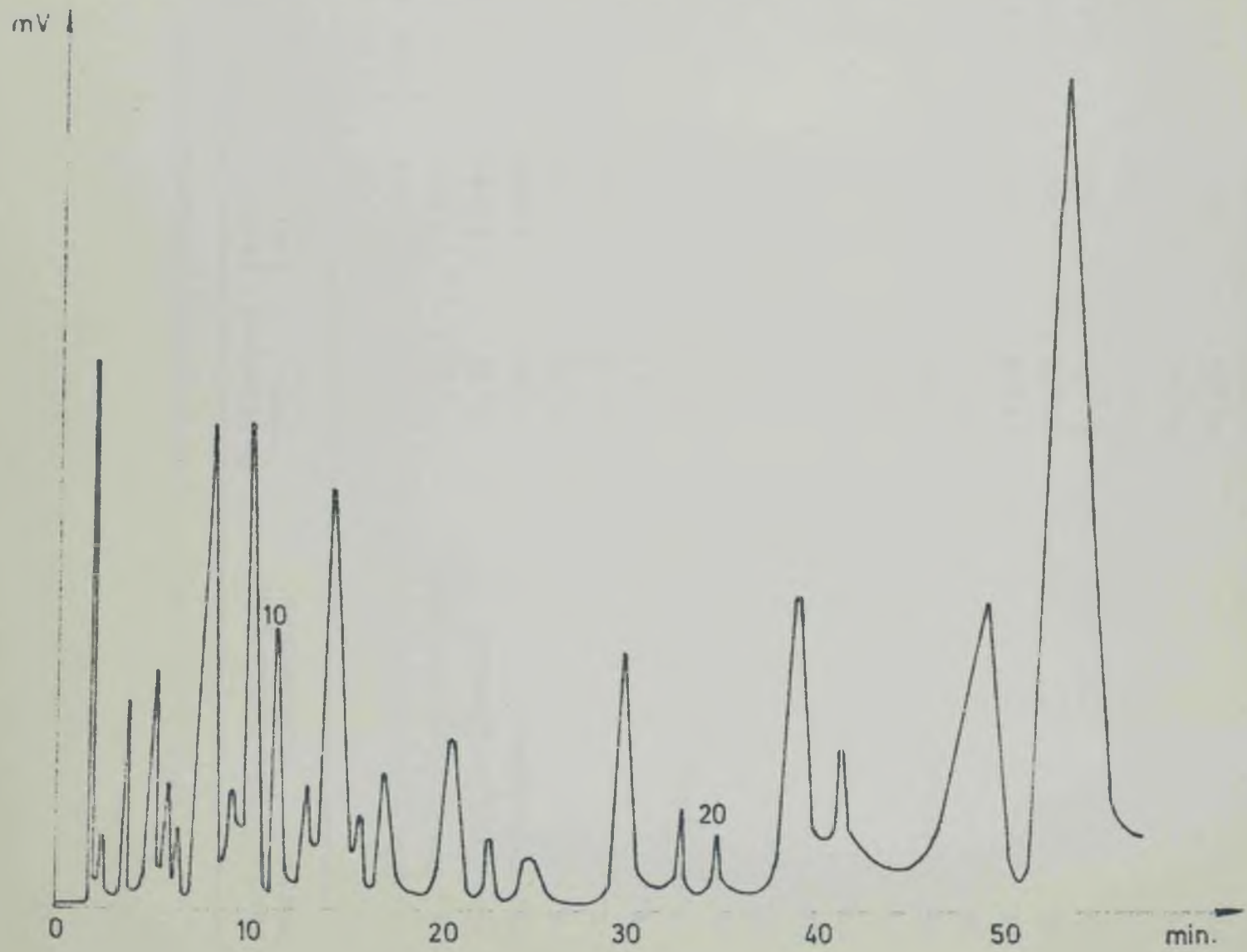
Iz prikazanog hromatograma 25 i tabele 15 vidljivo je da izabrana kolona i kombinacija punjenja veoma dobro razdvaja smešu kiselina, a rezultati se dobro slažu sa ispitivanjima Djukovića (82).

Na istoj koloni, punjenju, aparatu i uslovima rada, snimljen je originalni uzorak arome kiselina i dela estara koji su se separirali kod razdvajanja kiselina iz arome paprike. Odvajanje estara iz kiselina nije namerno izvršeno, jer postoji velika mogućnost da se isperu i tragovi kiselina, koje su sastavni deo ukupne arome paprike.

Rezultati ovih ispitivanja prikazani su na hromatogramu 26.

Površine komponenti kao i ukupna površina kiselina i pripadajućih estara iz arome paprike prikazani su na tabeli 16. Iz prikazanog hromatograma i tabele vidi se da u kiseljoj frakciji arome paprike Rotunda zelena ima ukupno 24 komponente. Identifikovano je samo 7 kiselina.

Br.26 HROMATOGRAM KISELINA I ESTARA U AROMI PAPRIKE ROTUNDA ZELENA



-180-

-180-

Tabela br. 16.

Kiseline i estri u aromi paprike Rotunda zelena

Broj komp.	Identifikovana komponenta	Retenciono vreme u min.	Površina kompon. u mm ²	%-no učešće u ukupnoj aromi
1.		2,00	17.920	19,55
2.	Sirćetna kiselina	2,33	148	0,16
3.	Izo-buterna+buterna	3,83	640	0,70
4.	Izovalerijanska	5,33	2.084	2,22
5.	Kaprinska	5,90	6.560	7,17
6.		6,50	16	0,02
7.		8,22	265	0,28
8.		9,33	24	0,02
9.	Kaprilna	10,17	720	0,78
10.		11,67	2.022	2,21
11.		13,17	80	0,08
12.		14,50	1.200	1,31
13.		16,00	16	0,02
14.		17,33	960	1,05
15.	Kaprinska	20,18	360	0,39
16.		22,83	200	0,21
17.		25,00	120	0,13
18.		30,00	1.280	1,40
19.		33,00	896	0,98
20.		35,00	850	0,93
21.		39,00	21.560	23,68
22.		41,50	128	0,12
23.		49,17	1.500	1,63
24.	Metil-kaprinat	55,33	31.875	35,00
			91.424	100,00

Identifikacija pripadajućih estara koji su kod razdvajanja kiselina otišli sa kiselinama nije moguća, jer su test supstance estara koji su služili za identifikaciju

snimljeni na drugoj koloni, punjenju i drugim uslovima rada. Pokušaj da se na koloni za kiseline snime estri nije uspeo. jer ih kolona nije efikasno razdvajala.

Sasvim je verovatno da u aromi paprike ima više organskih kiselina, ali se primenjenim postupkom nisu mogle prevesti u metilne estre. Na gasnom hromatografu i primenjenoj koloni moguće je odrediti samo kiseline do C_{10} atoma, te su prema tome sve kiseline iznad C-10 ostale nedetektovane, ili su se detektovale kao prirodni estri.

Na osnovu podataka ispitivanja (hromatogram 26 i tabela 16) može se zaključiti da se u kiselim komponentama arome detektovale ukupno 24 komponente, sa ukupnom površinom od 91.424 mm^2 . Kako su te supstance i izdvojene kiseline snimljene pod istim uslovima, na osnovu retencionih vremena izvršena je uslovna identifikacija kiselina u kiseljoj frakciji paprike. Na osnovu toga identifikovano je sedam komponenti koje potiču od kiselina. Za ostale komponente može se pretpostaviti da pripadaju estrima.

I u ovom slučaju samo tri komponente arome učestvuju sa dosta velikim procentom u ukupnoj aromi kiselina (komponenta 1, za koju se može pretpostaviti da je etilacetat, zatim komponenta 21, koja je verovatno metilkaproat i komponenta br. 24 koja takodje pripada estrima, verovatno metilkaprinat). Identifikacija komponente broj 24 izvršena je na osnovu analogije eluiranja čistog metilkaprinata, jer daje veoma simetričan i dosta razvučen pik. Ove tri komponente učestvuju sa 78,33% u ukupnoj aromi kiselina i estara paprike Rontunda zelena.

Zapaženije učešće u ukupnoj aromi kiselina imaju i komponente 4 i 5 koje su identifikovane kao izovalerijanska i kapronska kiselina, ali njihova uloga u izgradnji arome paprike za sada nije poznata.

Odredjivanje estara u aromi

Odvajanje estara iz arome paprike nije izvršeno zato što se deo estara iz arome izdvoji sa kiselinama, i to u većini slučajeva lakše isparljivi estri, što se može zaključiti na osnovu retencionih vremena snimljenih estara koji su se izdvojili sa kiselinama. Teže isparljivi estri izdvajaju se sa alkoholima, na što je snimanje alkohola i pripadajućih estara ukazalo.

Da bi se identifikovali estri koji su se izdvojili sa kiselinama, izvršen je pokušaj da se test estri snime na istoj koloni i punjenju, kako je to kod snimanja kiselina naznačeno. Ovaj pokušaj nije uspeo, jer je kolona relativno kratka, a punjenje nije dalo dobro razdvajanje estara.

Test supstance estara su snimljene na gasnom hromatografu i koloni koja je naznačena kod snimanja alkohola. Razdvajanje na ovoj koloni nije bilo najbolje, jer su estri delovali na detektorski sistem kao kod snimanja ukupne arome paprike.

Sasvim analogno ponašao se gasni hromatograf i kolona kod snimanja test supstanci estara. Na osnovu ove analogije i retencionih vremena tj. položaja na hromatogramu,

može se pretpostaviti da su estri stvarali teškoće kod određivanja ukupne arome. Test supstance estara snimljene su pod istim uslovima kao i alkoholi i mogu poslužiti za identifikaciju dela estara koji su se izdvojili sa alkoholima.

Test hromatogram smeše estara prikazan je na hromatogramu 27. Retenciona vremena, molekulska težina i tačka ključanja su prikazani na tabeli br. 17.

Na osnovu retencionih vremena test supstanci estara izvršena je identifikacija ukupno 15 estara detektovanih zajedno sa alkoholima (tabela 14).

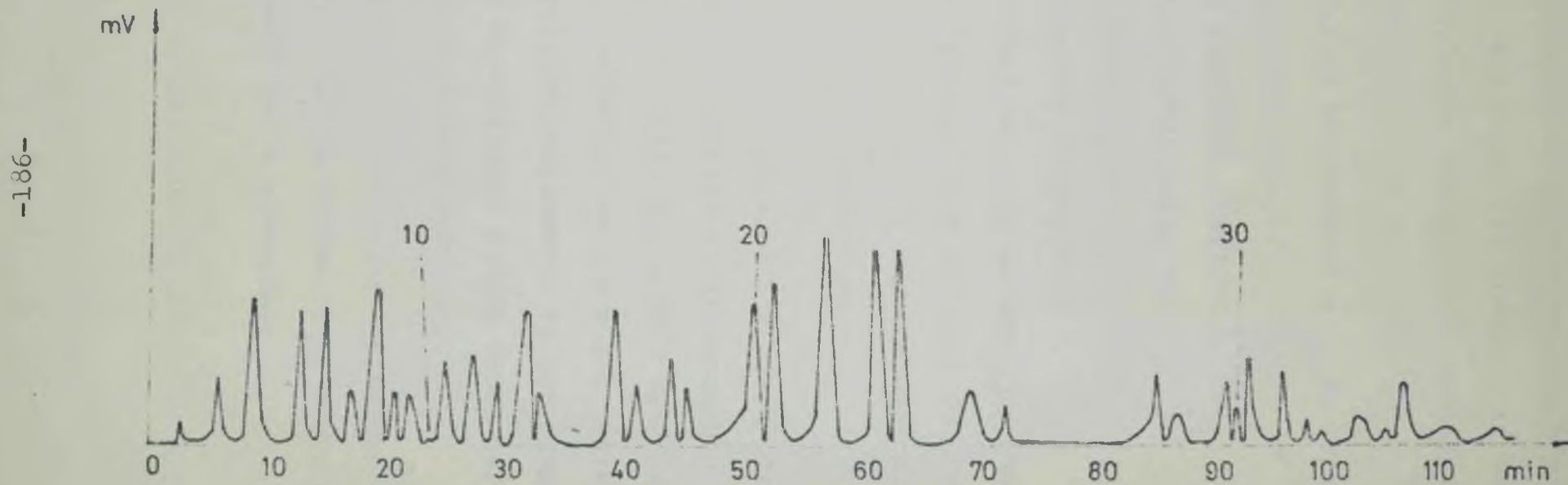
Tabela 17.

Oscobine test estara

Broj komp.	Naziv estra	Molek. težina	Tačka ključanja °C	Retenc. vreme u min.
1	2	3	4	5
1.	Metil-formijat	60,05	32,5	5,30
2.	Etil-formijat	74,08	53	8,40
3.	Metil-acetat	74,08	55	11,25
4.	Izo-propil-formijat	88,11	66	15,30
5.	Etil-estar-oenantne kiseline	158,24	68	17,35
6.	Pentil-butirat	158,24	70	18,25
7.	Metil-akrilat	86,09	78	20,30
8.	Metil-benzoat	136,15	82	21,40
9.	Izopropil-acetat	102,14	87	23,00
10.	Etil-benzoat	150,18	88	25,25
11.	Etil-kaproat	172,27	90	26,30
12.	Metil-izobutirat	102,14	93	28,45
13.	Metil-salicilat	152,15	95	31,00
14.	Benzil-acetat	150,18	95	33,15

1	2	3	4	5
15.	Etil-propionat	102,14	97	34,30
16.	Etil-akrilat	100,12	99	41,10
17.	Metil-butirat	102,14	100	42,40
18.	Propil-acetat	102,14	102	45,45
19.	Etil-salicilat	166,18	103	47,00
20.	2-fenil-etil-acetat	164,21	105	53,10
21.	Metil-kaprinat	186,30	108	55,00
22.	Metil-izovalerijat	116,16	118	59,10
23.	Etil-butirat	116,16	121	63,30
24.	Etil-izovalerijat	130,19	131	65,10
25.	Etil-estar cimetine kiseline	176,22	135	71,20
26.	Metil-antranilat	151,17	135,5	74,10
27.	Etil-krotonat	114,15	139	87,05
28.	Izo-pentilacetat	130,19	142	89,00
29.	Propil butirat	130,19	144	93,15
30.	Etil-n-valerijat	130,19	146	94,00
31.	Izobutil-butirat	144,22	156	95,15
32.	Etil-izobutirat	116,16	164	98,15
33.	Etil-kapronat	144,22	165	101,00
34.	Butil-butirat	144,22	166	101,20
35.	Heksil-acetat	144,22	169	104,30
36.	Etil-kaprinat	200,32	224,5	107,10
37.	Metil-n-metilantranilat	165,19	256	108,40
38.	Etil-laurinat	228,38	269	113,00
39.	Etil-fenilacetat	164,21		117,00

Br.27 TEST HROMATOGRAM ESTARA



Odredjivanje fenola u aromi

Komponente arome paprike koje pripadaju fenolima izdvojene su po metodi Naves-a (78) i pripremljene za gasno-hromatografsko ispitivanje na prethodno opisan način.

Aromatske komponente koje pripadaju grupi fenola i test smeše fenola snimljene su na gasnom hromatografu PACKARD 409 sa plamenojonizacionim detektorima. Kolona je bila metalna, 3,6 m x 4 mm, napunjena Chromosorb-om W.42/60 mesh-a, na koji je naneto 15% silikonsko ulje SE-30. Aparat je snabdeven elektronskim pisačem SERVOGOR-RE. 520, a brzina kretanja papira bila je 1 cm/min. Uslovi rada bili su sledeći:

- temperatura kolone 130°C, izotermno 10 min, a zatim programirano od 130-160°C, 5°C/min od 160-200°C programirano je 10°C/min a od 200°C izotermno 10 minuta, pa programirano 10°C/min do 280°C na kraju izotermno do kraja snimanja.

- temperatura detektora 310°C

- temperatura injekcionog bloka 310°C

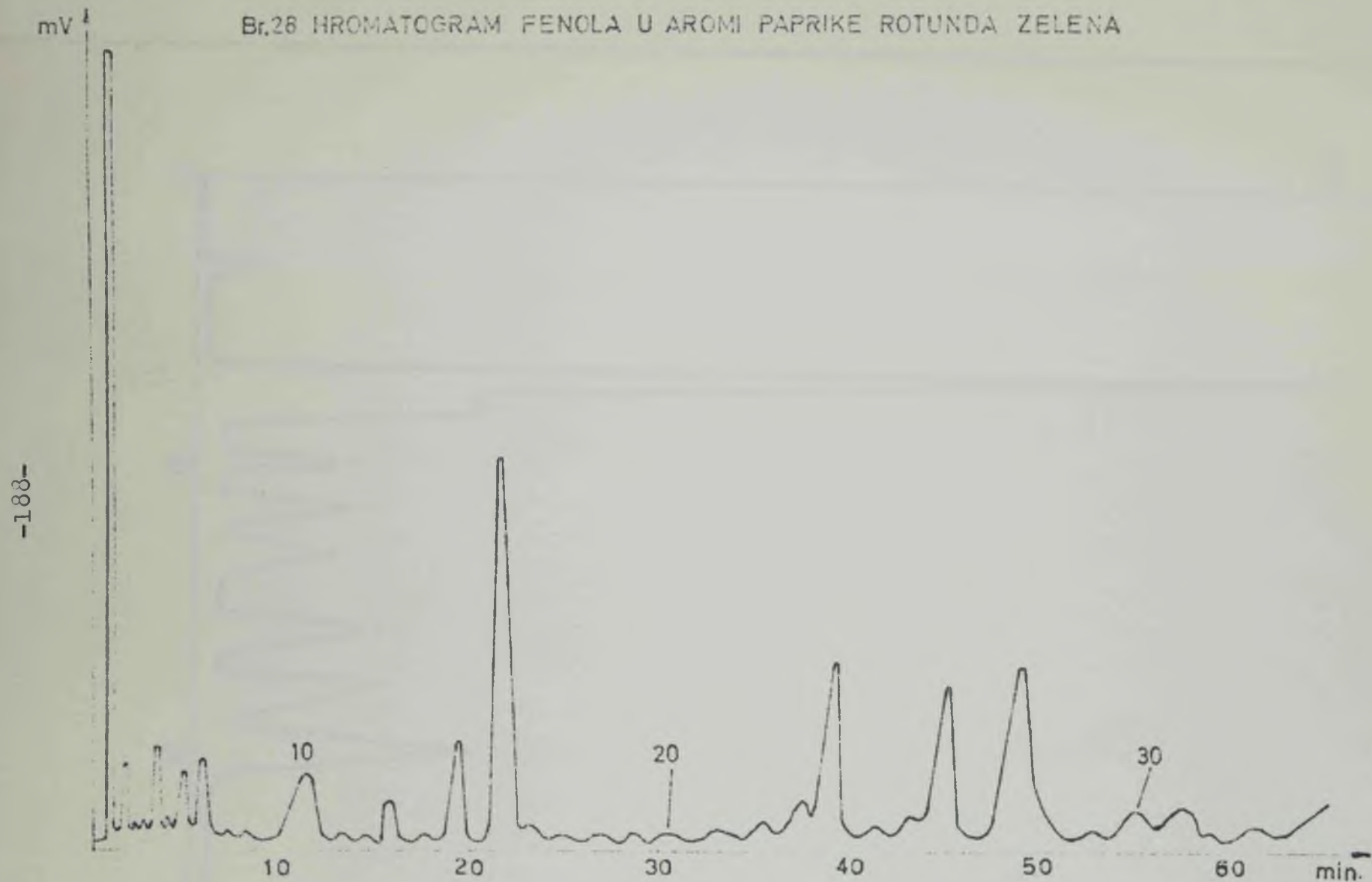
- gas nosač argon, protoka 50 ml/min

- količina supstance 1 ul, test supstance 0,1 ul

- osetljivost pisača promenljiva, kod struje detektora 10^{-10} A promenljiva od 8-32.

Površine pojedinih komponenti i ukupna površina preračunate su na osnovu osetljivosti i prikazane na hromatogramu 28 i tabeli 18. Retencionna vremena, molekulske težine i tačke ključanja smeše test fenola, prikazani su na tabeli 19 i hromatogramu 29.

Br.28 HROMATOGRAM FENOLA U AROMI PAPRIKE ROTUNDA ZELENA



-188-

-188-

Br. 29-TEST CHROMATOGRAM FENOLA

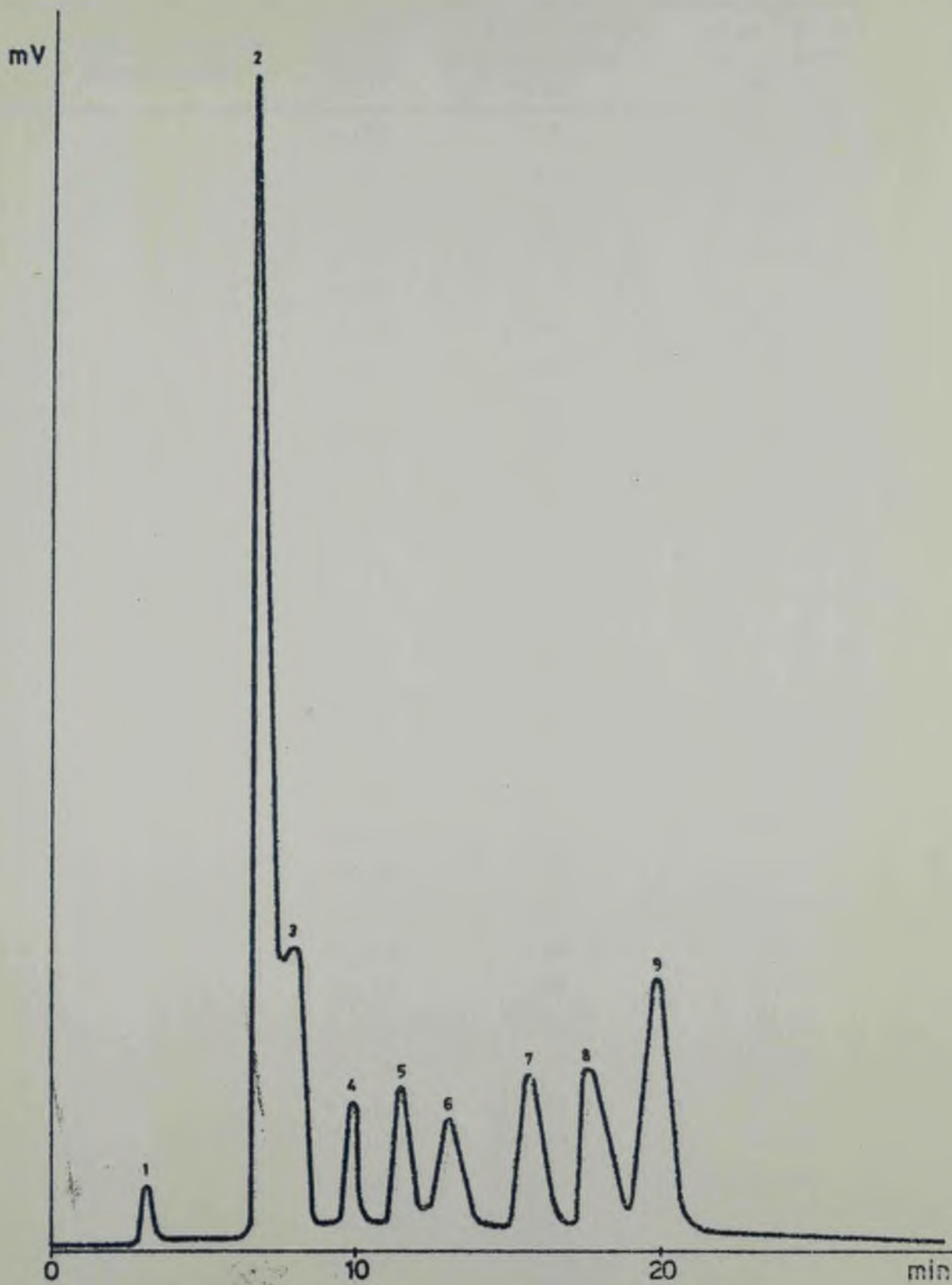


Tabela br. 18.

Fenolne komponente u aromi paprike Rotunda zelena

Broj komp.	Identifikovana komponenta	Retenc. vreme min.	Površina komponente mm ²	%-no učešće komponente u aromi
1.		1,36	240	0,92
2.		1,43	++	
3.		2,12	320	1,23
4.		2,30	32	0,12
5.		3,00	++	
6.		3,18	192	0,74
7.		3,51	202	0,79
8.	2,5-ksilenol	5,30	++	
9.		8,12	16	0,06
10.		10,30	480	1,85
11.		17,06	32	0,12
12.		18,00	60	0,23
13.		18,42	122	0,47
14.		19,24	16	0,06
15.		20,30	720	2,77
16.		21,18	6400	24,61
17.		21,48	48	0,18
18.		22,36	96	0,37
19.		23,42	128	0,49
20.		25,36	48	0,18
21.		27,30	288	1,11
22.		31,48	96	0,37
23.		33,18	96	0,37
24.		34,54	1920	7,30
25.		40,24	92	0,35
26.		41,12	96	0,37
27.		42,00	5378	20,68
28.		44,18	7680	29,54
29.		46,30	94	0,36
30.		49,36	510	1,96
31.		50,48	530	2,04
32.		55,36	32	0,12
33.		57,38	38	0,15
			26002	99,98

Tabela br. 19.

Test supstance čistih smeša fenola

Broj komp.	Naziv fenola	Molek. težina	Tačka ključanja °C	Retencio- na vreme- na u min.
1.	Fenol	94,11	181,8	1,12
2.	orto-krezol	108,14	191,5	3,30
3.	meta-krezol	108,14	202,7	4,18
4.	2,4-ksilenol	122,16	211,5	4,54
5.	2,5-ksilenol	122,16	211,5	5,30
6.	3,5-ksilenol	122,16	212,0	6,25
7.	2,3-ksilenol	122,16	218,0	7,40
8.	para-etil-fenol	122,16	218,5	8,42
9.	2,6-ksilenol + 3,4-ksilenol	122,16	219,5 225,5	10,48

Iz prikazanih rezultata vidi se da u aromi ima ukupno 33 fenolne komponente koje su, ceneći na osnovu retencionih vremena tj. korišćenih temperatura kod hromatografisanja, teže isparljive. Test supstance fenola, kojima se raspolagalo, nisu bile podesne za identifikaciju zato što tih fenola u aromi paprike nema, sa izuzetkom 2,5-ksilenola - komponenta 8 (tabela 18).

U fenolnim komponentama arome (tabela 18) tri komponente imaju zapaženo veliko procentualno učešće (komponente 16, 27 i 28) koje čine oca 74,83% od ukupne količine ove arome paprike koja iznosi oca 20.002 mg. U ovoj hromatogramskoj grupi samo se tri komponente javljaju u tragovima (2, 5 i 8), što nije slučaj kod drugih homijskih grupa arome paprike

Odredjivanje aldehyda i ketona

Aldehydi i ketoni su iz arome paprike izdvojeni po metodi Vogel-a (80) taloženjem 2,4-dinitrofenilhidrazinom. Dobijeni talog hidrazona je nekoliko puta prečišćavan i rastvoren u 0,3% tetrahidrofuranu. Ovako pripremljeni hidrazoni karbonilnih jedinjenja iz arome paprike služili su za odredjivanje aldehyda i ketona u aromi paprike sorta Rotunda zelena.

Aldehydi i ketoni su uslovno identifikovani preko retencionih vremena model supstanci aldehyda i ketona razdvajanjem na gasnom hromatografu i hromatografijom na tankom sloju.

Odredjivanje hidrazona karbonilnih jedinjenja metodom gasne hromatografije izvršio je Djuković (82) u aromi šljivovice. Za gasnehromatografsko razdvajanje hidrazona koristio je metalnu kolonu napunjenu 10% SE 30 na CHROMOSORB-u W 60/72 mesha.

U ovom radu za gasnehromatografska ispitivanja aldehyda i ketona u aromi paprike u obliku hidrazona korišćena je metalna kolona napunjena 10% CARBOWAX-om na CHROMOSORB-u W.AW.DMCS 60/72 mesha. Hidrazoni karbonilnih jedinjenja razdvojeni su i ispitani na gasnom hromatografu VARIAN 1800. Uslovi rada aparata za vreme ispitivanja hidrazona bili su:

- temperatura kolone izotermna na 220°C
- temperatura injekcionog bloka 270°C
- temperatura detektora 240°C
- gas nosač azot 28 ml/min.

Gasni hromatograf je radio sa promenljivom osetljivošću od 1 - 256. Rezultati ispitivanja su preračunati na maksimalnu osetljivost.

Na istoj koloni i radnim uslovima određena su retenciona vremena model supstanci aldehida i ketona pa je identifikacija dobijenih aldehida i ketona moguća.

Prikaz dobijenih rezultata dat je za test supstance aldehida na hromatogramu broj 30 i tabeli broj 20.

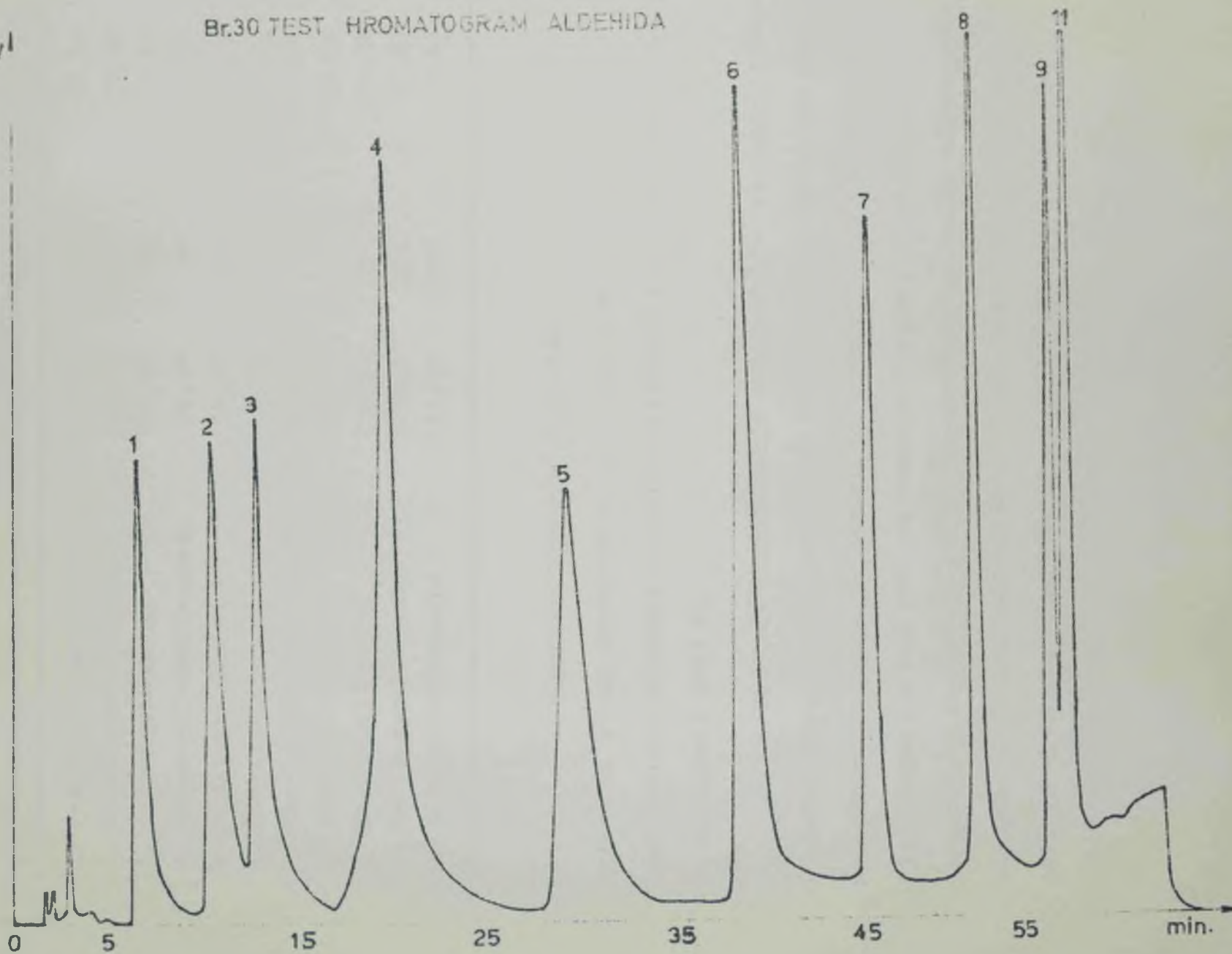
Tabela 20.

Osobine test smeše aldehida

Broj komp.	Naziv aldehida	Molek. težina	Tačka ključanja °C	Retencio- no vreme u min.
1	2	3	4	5
1.	n-heptanal	114,19	42	6,50
2.	Propionalaldehyd	58,08	49	10,50
3.	Butiraldehyd	72,10	75	13,00
4.	Salicilaldehyd	122,12	80	20,00
5.	Citronelaldehyd	154,24	85	29,50
6.	Izovalerijanaldehyd	86,14	93	33,50
7.	Kaprijonaldehyd	156,27	95	45,30
8.	n-Valeraldehyd	86,14	103	51,00
9.	2-etilbutiraldehyd	100,16	116	56,00
10.	kapronaldehyd	100,16	131	58,00

Br.30 TEST HROMATOGRAM ALDEHIDA

mV



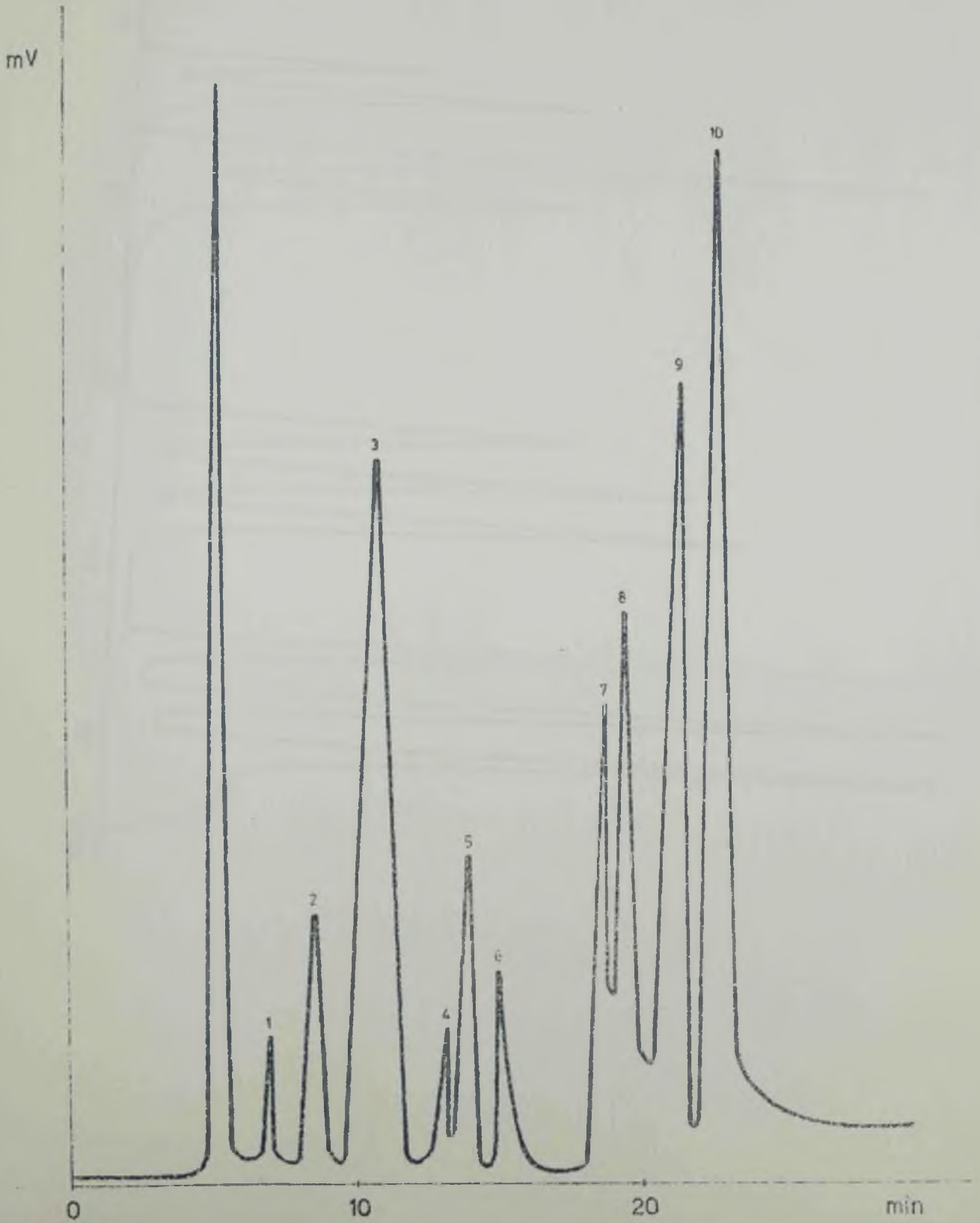
Osobine test smeše ketona

1	2	3	4	5
1. 6-metil-5-Heptan-2-on		126,20	58	12,50
2. Heptil-metil-keton		126,19	74	15,80
3. etil-metil-keton		72,10	80	17,00
4. Izopropil-metil-keton		86,14	94	19,20
5. Metil-propil-keton		86,13	102	32,50
6. Dietil-keton		86,13	103	35,00
7. Izo-butil-metil-keton		100,16	117	37,50
8. Dipropil-keton		114,19	144	45,50
9. Etil-butil-keton		114,19	148	45,50
10. Metil-pentil-keton		114,19	150	47,80
11. Heksil-metil-keton		128,22	172	50,50

Rezultati odredjivanja aldehida u aromi paprike prikazani su na hromatogramu broj 31, a na hromatogramu 32 test ketona. Površine pojedinih aldehida i ketona prikazane su na tabeli broj 21.

Kod ovih odredjivanja očekivano je da, usled visoke tačke isparavanja, neće doći do dobrog razdvajanja na koloni. Probno snimanje je ukazalo na mogućnost dobrog razdvajanja hidrazona kod rada na odabranj koloni i punjenju, na temperaturi kolone od 220°C. Verovatno su se usled visoke temperature u injekcionom bloku (270°C) hidrazoni pirclizom raspali na aldehide i ketone, te su se na taj način na koloni dobro razdvojili.

Br. 31 - HROMATOGRAM ALDEHIDA U AROMI
PAPRIKE ROTUNDA ZELENA



Br 32 TEST CHROMATOGRAM KETONA

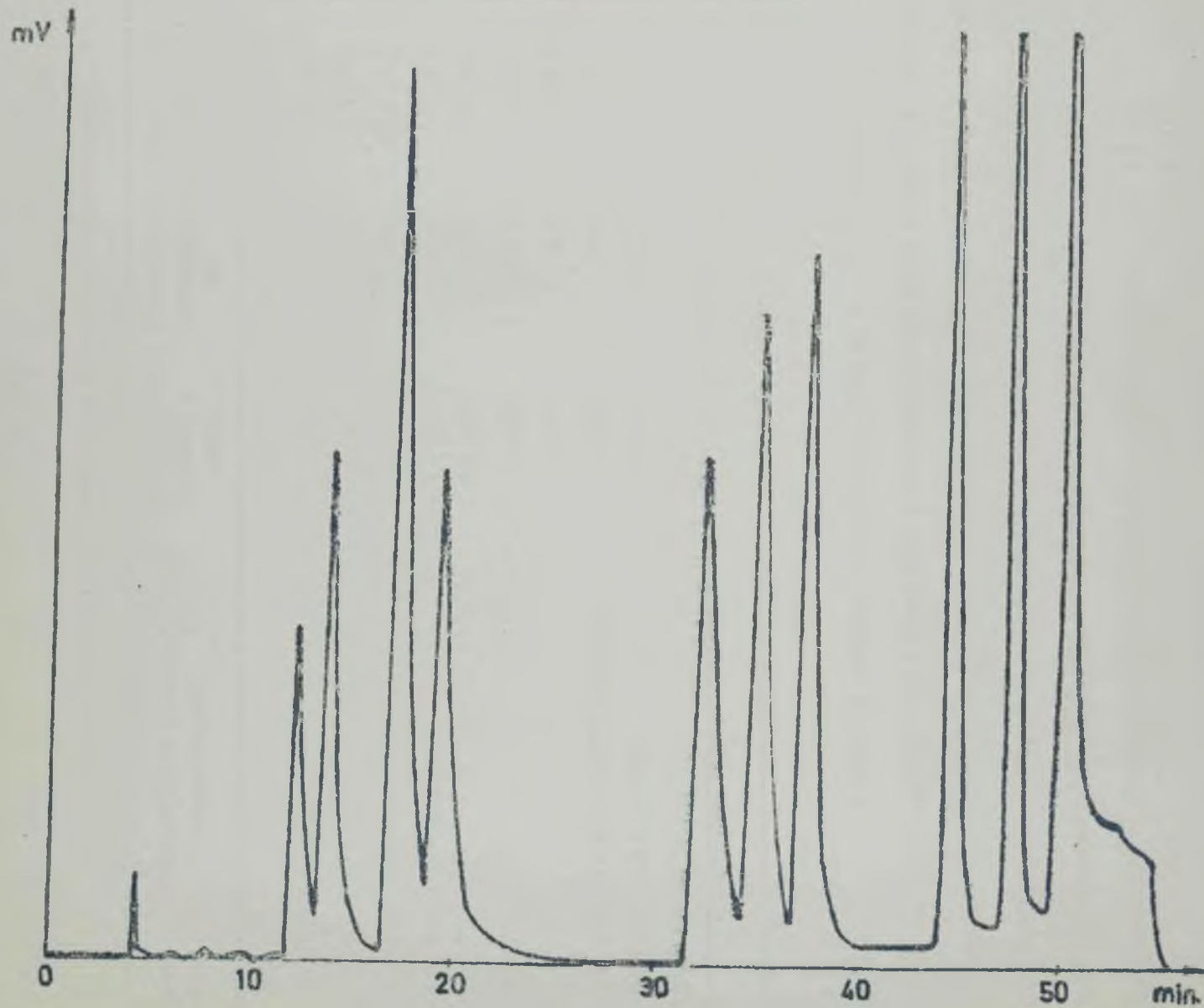


Tabela br. 21.

Aldehidi i ketoni u aromi paprike Rotunda zelena

Broj komp.	Identifikovane komponente	Retenciono vreme u min.	Površina komponen. mm ²	%-no učešće komponente u aromi
1.		5,00	36.480	39,80
2.	n-heptanal	6,54	16	0,01
3.		8,42	960	1,04
4.	Propionaldehid	10,36	43.520	47,41
5.	Butiraldehid	13,20	192	0,21
6.		13,42	864	0,94
7.		14,36	208	0,22
8.		18,48	580	0,63
9.	Iz propil-metilketon	19,00	432	0,47
10.	Salicilaldehid	20,20	1.200	1,30
11.		21,30	6.800	7,42
			91.652	99,45

Kako su uslovi snimanja smeše i ispitivanog uzorka bili isti, moguće je izvršiti uslovnu identifikaciju na osnovu retencionih vremena poznatih supstanci. Identifikovano je ukupno četiri aldehida (n-heptanal, propionaldehid, butiraldehid i salicilaldehid), dok je od ketona identifikovana samo jedna komponenta (izopropilmetil keton, tabela 21).

Od svih aromatskih komponenti koje pripadaju aldehidima i ketonima kolona je razdvojila samo 11 komponenti. Ovu grupu hemijskih jedinjenja karakteriše veoma veliko učešće neidentifikovane komponente 1 sa učešćem u ukupnoj aromi od 39,80% i propionaldehida sa učešćem od 47,41%. Ostale komponente iz grupe aldehida i ketona zastupljene su u neznatnim procentima.

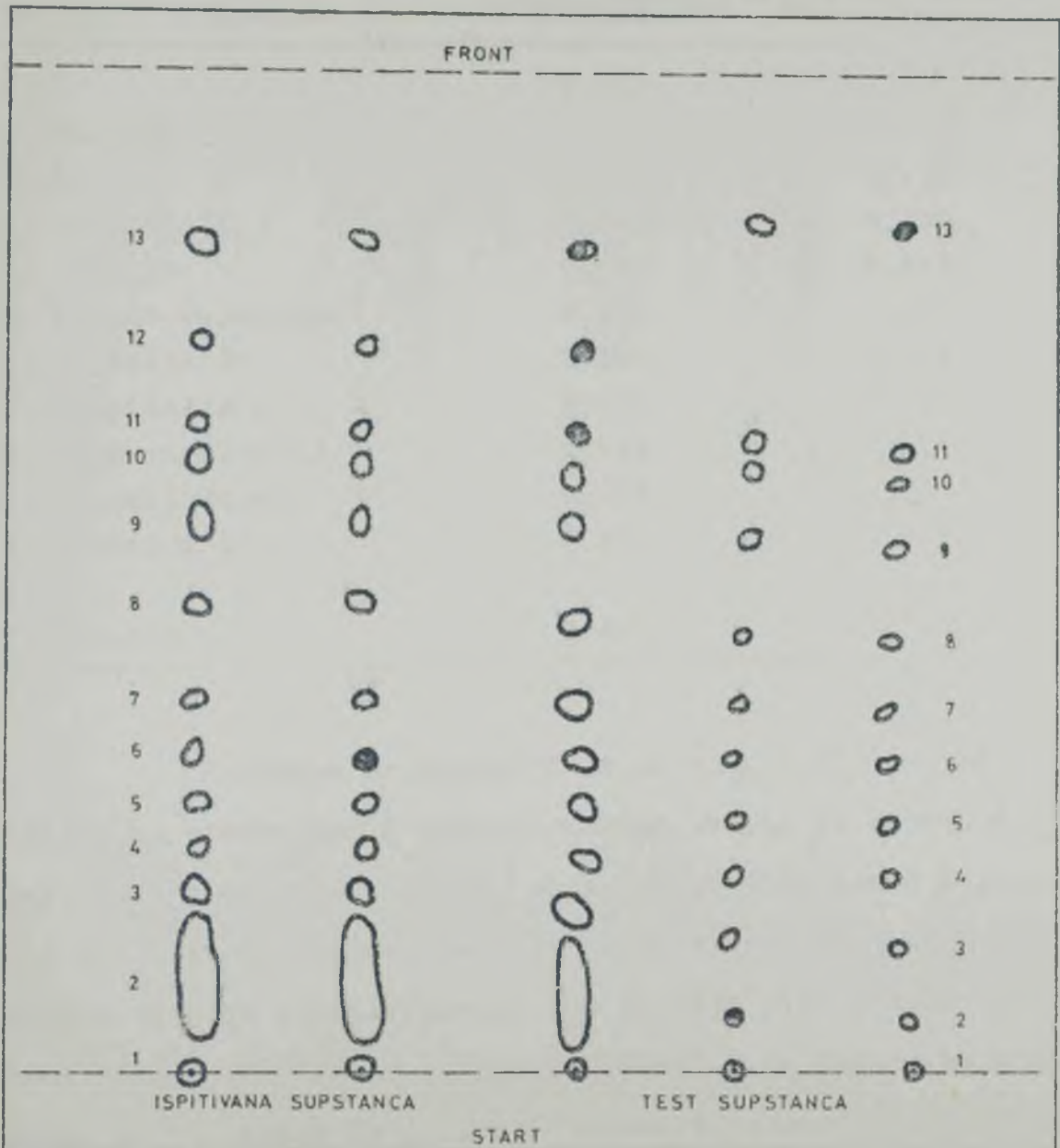
Iz radova BATTERY (49) koji je za identifikaciju koristio savremene metode, vidi se da aroma paprike sadrži dosta aldehida i ketona. Sasvim je verovatno da i u aromi paprike Rotunda ima više karbonilnih jedinjenja.

Odredjivanje aldehida u aromi hromatografijom na tankom sloju

I pored toga što je relativno velika površina ukupne arome aldehida i ketona dobijenih snimanjem hidrazona aldehida na gasnom hromatografu, hromatogrami 31 i 32 ukazuju da kolona nije potpuno razdvojila ove komponente. U cilju potpunije identifikacije aldehida u aromi paprike primenjena je i metoda hromatografije na tankom sloju.

Hidrazoni aldehida su rastvoreni u 0,3% tetrahidrofuranu i nanaseni u obliku mrlja na hromatografsku ploču dimenzija 20 x 20 cm. Korišćena je jednodimenzionalna uzlazna tehnika po Urbach-u (83), uz trostruko razvijanje u ispran rastvaraču. Istovremeno je nanasena mrlja smeše aldehida napravljena od čistih supstanci, kako je to prethodno opisano.

Na razvijenom hromatogramu komponente su se preraspodelile na osnovu Rf-vrednosti. Hromatografska ploča je zatim poprskana fluorescentnim indikatorom (0,05% alkoholni rastvor rodanina B) radi lakšeg očitavanja mrlja pod ultravioletnom lampom. Mrlje su obeležene, očitane su Rf vrednosti za test supstance i komponente arome, na osnovu kojih je izvršena identifikacija aromatskih aldehida (sl. 7). Podaci za identifikaciju aldehida prikazani su u tabeli br. 22.



SL.7 - TANKOSLOJNI HROMATOGRAM ALDEHIDA U AROMI PAPRIKE „ROTUNDA“

Tabela 22.

Aldehidi u aromi paprike Rotunda zelena

Broj komp.	Identifikovani aldehidi	Rf vrednosti za	
		Test supstance	Aldehide arome
1.		0,000	0,000
2.	Glioksal	0,057	0,057
3.	Citral	0,128	0,130
4.	Citronelal	0,192	0,204
5.	Vanilin	0,250	0,245
6.	Etilizovalerijat	0,312	0,312
7.	Acetaldehid	0,364	0,370
8.	Propilaldehid	0,428	0,440
9.	Izobutiraldehid	0,530	0,550
10.	Izoamilaldehid	0,607	0,600
11.	Benzaldehid	0,643	0,643
12.	x	-	0,733
13.	Oktanal	0,857	0,838

Primenom hromatografije na tankom sloju u aromi paprike je razdvojeno i identifikovano ukupno 11 aldehida. Komponente 1 i 12 (tabela 22, slika 7) se nisu dobro razdvojile te je skoro sigurno da u sebi sadrže više aldehida. Komponenta 12 nije identifikovana jer je nije bilo u test supstanci. Propionalaldehid je identifikovan i na gasnom hromatogramu, pa je ukupan broj identifikovanih aldehida koji učestvuju u aromi paprike ukupno 14.

Identifikacijom novih aldehida primenom tankoslojne hromatografije potvrđena je sumnja da kolona korišćena za gasnohromatografsko razdvajanje aldehida nije dobro razdvojila sve aldehide u aromi paprike.

II.2.10. Odredjivanje aromatskih frakcija ukupne arome

Wendell (46) je za snimanje arome paprike (Tabasco pepper - *Capsicum frutescens*) licofiliziranu aromu u formi vodeno-kondenzata razdelio na: neutralnu, baznu i kiselu frakciju, pa ih je tako razdvojene ispitivao na gasnom hromatografu. Za identifikaciju je pored retencionih vremena koristio masenu spektroskopiju i konstatovao da aromu ove vrste cvetne višegodišnje paprike sačinjava ukupno 125 komponenti. Isti autor u radu izveštava o identifikaciji aromatskih komponenti u neutralnoj frakciji, bez informacija o aromatskim komponentama u kiseloj i baznoj frakciji. U radu se ne navodi zbog čega nije snimljena ukupna aroma, ali se iz ilustrovanog hromatograma naslućuje da je imao sličnih teškoća kao i mi u ovom radu.

Da bi se ispitala i olakšalo snimanje ukupne arome parcijalnim snimanjem pojedinih frakcija (neutralna, kiselina i bazična) ukupna aroma paprike Rotunda zelena frakcionisana je po Praag-u (81) na isti način kao što je to učinio Wendel i sar. (46) koji je ukupnu aromu paprike frakcionisao na isti način i svaku frakciju posebno snimao.

Ukupna aroma paprike razdeljena je na frakcije i pripremljena za gasnohromatografska ispitivanja.

Sastav aromatskih frakcija ispitan je metodom gasne hromatografije na gasnom hromatografu VARIAN 1800.

Kod ispitivanja arome paprike u pojedinim frakcijama primenjeni su sledeći uslovi rada aparata:

- kolona metalna 3,6 m x 2 mm, napunjena 10% CARBOWAX-cm 20 M. na CHROMOSORB-u W.AW.DMCS 62/70 mesha.
- temperatura kolona 50°C izotermno 13 minuta, programirano 2°C/min do 220°C pa izotermno do kraja rada
- temperatura injektora 240°C
- temperatura detektora 250°C
- gas nosač azot 25 ml/min
- količina uzorka uzetog za analizu 1 nl.

Gasni hromatograf je radio sa promenljivom osetljivosću 1 - 254. Rezultati su preračunati na maksimalnu osetljivost.

Pod istim uslovima razdvojene su i ispitane smeše model supstanci, te se prema tome za identifikaciju mogu koristiti retenciona vremena.

Odredjivanje bazne frakcije

U ovu frakciju spadaju razni amini koji posle izdvajanja kod senzorne analize mirišu na zelenu papriku ili fermentirane krastavce. Miris na zelenu papriku daje jedan diazon (2-metoksi-3-izobutilpirazin), po Buttery-u i saradnicima (49).

Rezultati snimanja bazne frakcije arome prikazani su na hromatogramu 33. Površine pojedinih komponenti i ukupne površine izražene kao mm² prikazane su na tabeli 23.

Br 33 HROMATOGRAM BAZNE FRAKCIJE AROME PAPRIKE
ROTUNDA ZELENA

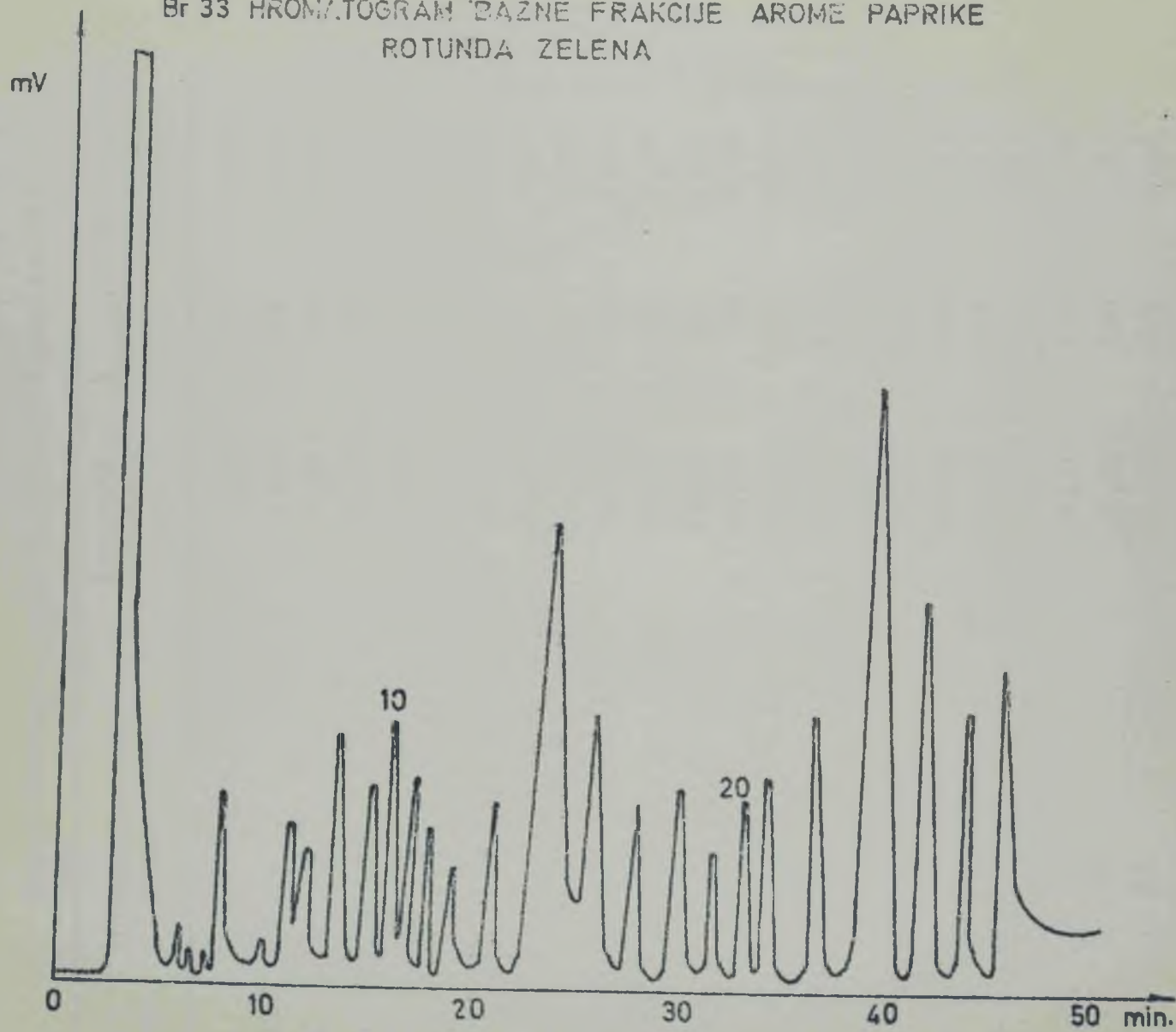


Tabela 23.

Bazna frakcija arome paprike Rotunda zelena

Broj komp.	Identifikovane komponente	Retenciono vreme u min.	Površina u mm ²	%-no učešće komponente u aromi
1.		6,00	24	0,61
2.		6,67	15	0,38
3.		7,50	10	0,25
4.		8,17	160	4,07
5.		9,25	10	0,25
6.		17,50	102	2,53
7.		18,17	98	2,48
8.		19,83	270	6,86
9.		20,42	120	3,05
10.		21,17	280	7,12
11.		21,75	140	3,56
12.		22,75	112	2,85
13.		24,83	80	2,03
14.		26,50	102	2,59
15.		27,83	500	12,71
16.		28,33	102	2,59
17.		29,25	110	2,80
18.		31,17	100	2,57
19.		33,75	48	1,22
20.		35,67	80	2,03
21.		37,50	100	2,54
22.		38,17	150	3,81
23.		39,50	800	20,34
24.		44,33	200	5,09
25.		49,33	105	2,67
26.		52,83	115	2,92
			3.933	99,96

Iz prikazanog hromatograma i tabele vidi se da baznu frakciju arome čini 26 komponenti. Zapaženo je veliko učešće komponenti 15 i 23 koje čine 33,05% od ukupne arome bazne frakcije.

Identifikacija pojedinih komponenti u ovoj frakciji nije moguća, jer se nije raspolagalo test supstancama amina.

Odredjivanje neutralnih frakcija

Aromatske komponente koje čine neutralnu frakciju arome pripadaju raznim estrima, aldehidima, ketonima i alkoholima. Senzornom ocenom od strane neupućenih lica miris ove frakcije je različito ocenjen. Jedna grupa ocenjivača je tvrdila da ova frakcija miriše na feferonu, dok je druga grupa miris ove frakcije poistovetila sa mirisom presečenog svežeg krompira.

Aromatski koncentrat neutralne frakcije arome snimljen je na istom gasnom hromatografu, koloni, punjenju i radnim uslovima kao i bazična frakcija, pa se međusobno mogu uporedjivati.

Rezultati snimanja neutralne frakcije arome paprike prikazani su na hromatogramu 34. Površine pojedinih komponenti koje čine ovu frakciju i ukupna površina preračunate su kao i prethodne i prikazane na tabeli 24.

Br.34 HROMATOGRAM NEUTRALNIH FRAKCIJA AROME PAPRIKE
ROTUNDA ZELENA

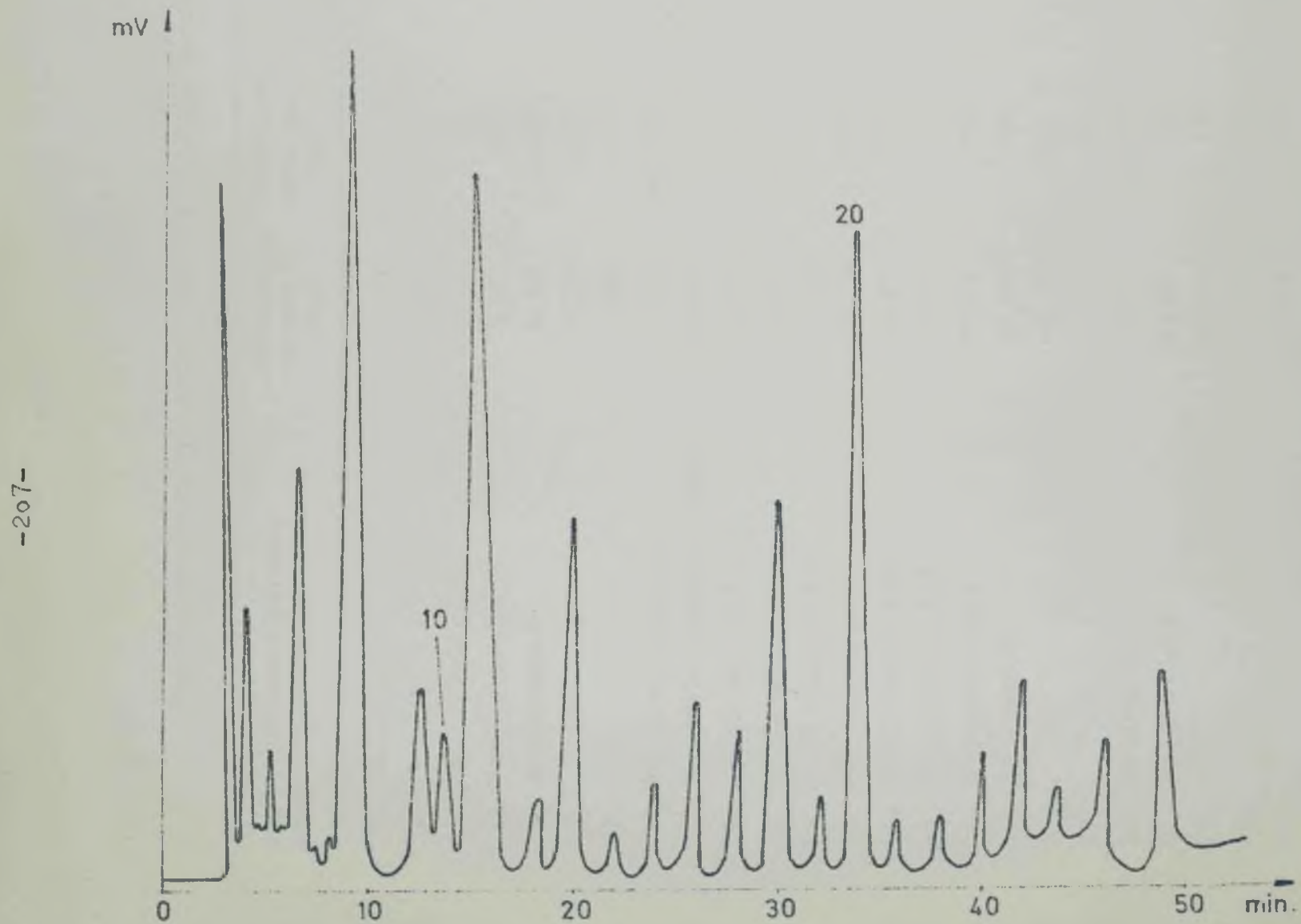


Tabela 24.

Neutralna frakcija aroma paprike Rotunda zelena

Broj komp.	Identifikovana komponenta	Retenciono vreme u min.	Površina kompon. mm ²	%-no učešće komponenta u aromi
1.	Etilacetat	4,33	720	2,48
2.		4,67	++	
3.	Metilformijat	5,33	96	0,33
4.	Pentilacetat	6,17	++	
5.	n-heptanal	6,67	1.200	4,14
6.		7,17	++	
7.		7,83	++	
8.	Metil+etilalkohol	8,00	20.800	71,80
9.	6-metil-5-heptil-2-on	12,42	320	1,13
10.	Krotilalkohol	13,25	130	0,44
11.	Etilmetil keton	17,42	2.720	9,34
12.	Salicilaldehid	20,42	150	0,44
13.	Metilbenzoat	22,00	530	1,82
14.	Metilizobutirat	28,20	15	0,05
15.	Metilsalicilat	30,24	30	0,10
16.	Etilpropionat	34,00	60	0,20
17.	3-heptanol	36,00	52	0,20
18.		40,36	210	0,72
19.		43,50	45	0,16
20.	Etilsalicilat	47,00	1.200	4,14
21.	Valeraldehid	51,00	53	0,20
22.		56,00	52	0,20
23.		62,30	86	0,30
24.		72,00	180	0,60
25.		81,00	50	0,20
26.		82,00	120	0,41
27.		85,40	150	0,52
			28.969	100,00

Iz karakterističnog hromatograma neutralne frakcije i tabele 24 vidi se da je kolona u ovoj frakciji razdvojila ukupno 27 komponenti. Ukupna površina svih komponenti neutralne frakcije arome iznosi 28.969 mm^2 , što čini 75,65% od ukupne arome svih frakcija. S obzirom da ovu frakciju čine estri, aldehidi, ketoni i alkoholi od kojih potiče većina aromatskih komponenti paprike, ovaj procenat je verovatan. Iz hromatograma se vidi da je kolona teško razdvajala pojedine komponente, jer su i površine pojedinih komponenti relativno male, pa postoji velika verovatnoća da mnoge komponente nisu razdvojene i da su se javile kao veći pikovi kao što su pikovi 8, 11, 20 (tabela 24).

Od svih razdvojenih komponenti veliko učešće (71,80%) čini komponenta 8 koja je identifikovana kao metil+etil alkohol. Veće učešće ova dva alkohola u neutralnoj frakciji arome paprike moglo se očekivati, ali tako veliko učešće prethodna istraživanja nisu potvrdila, pa je verovatno da pik 8 potiče od više adiranih komponenti iz neutralne frakcije arome paprike.

Određjivanje kisela frakcije

U kiselu frakciju arome spadaju komponente koje potiču od kiselina i fenola. Senzornom analizom je ocenjeno da ova frakcija miriše na štavljenu kožu.

Kisela frakcija arome snimljena je kao i prethodne, pod istim uslovima na gasnom hromatografu, a rezultati ispitivanja prikazani su na hromatogramu 35. Površine pojedinih komponenti i ukupna površina frakcije odredjeni su kao i kod prethodnih frakcija i prikazane na tabeli 25.

Br.35 HROMATOGRAM KISELE FRAKCIJE AROME PAPRIKE ROTUNDA ZELENA

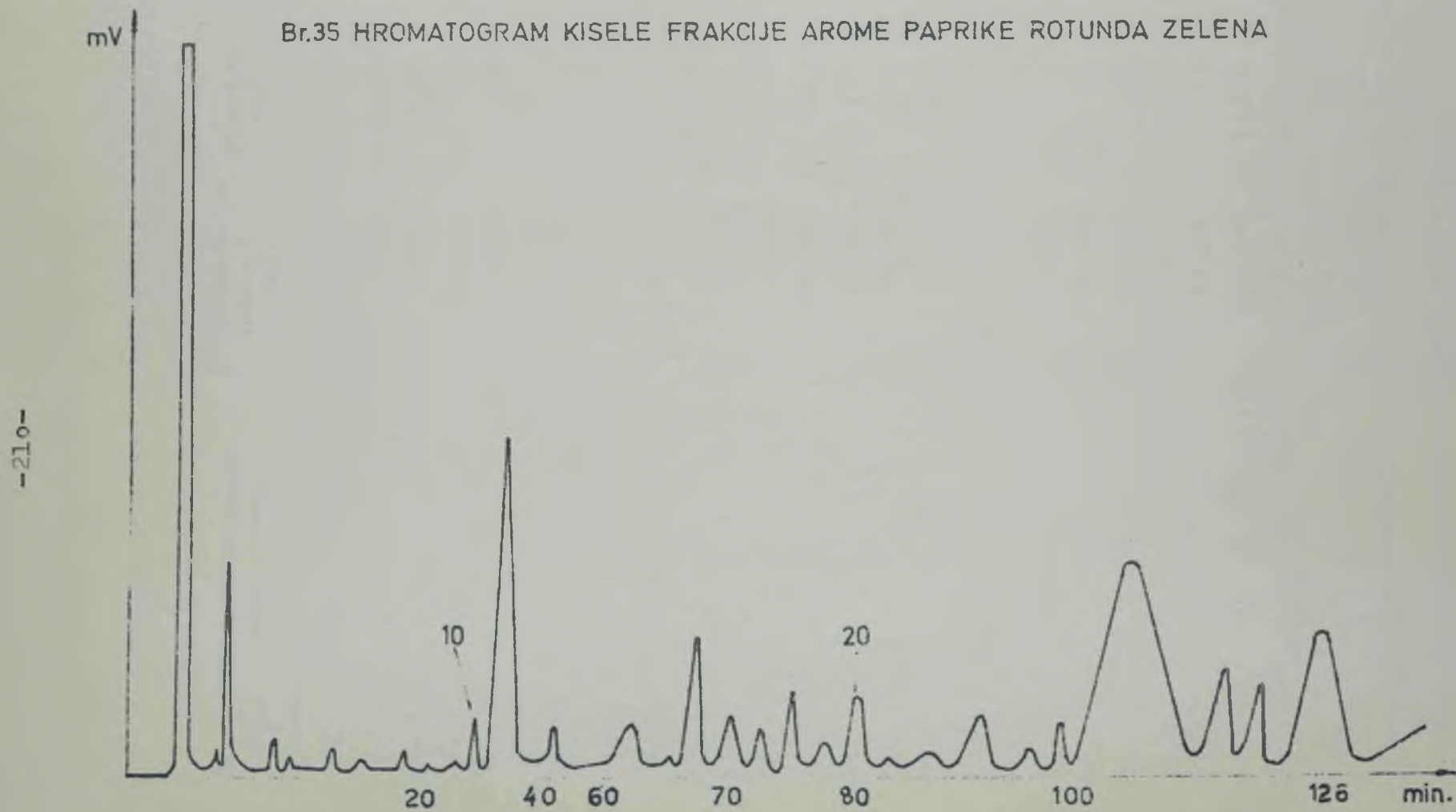


Tabela 25.

Kisela frakcija arome paprike Rotunda zelena

Broj komp.	Identifikovana komponenta	Retenciono vreme u min.	Površina mm ²	%-no učešće komponenta u aromi
1.		6,30	32	0,59
2.		7,20	2.400	44,72
3.		9,00	30	0,57
4.		10,00	++	
5.		13,00	30	0,57
6.		15,00	++	
7.		19,00	30	0,57
8.		24,00	++	
9.		28,00	++	
10.		33,00	15	0,23
11.		36,00	480	8,96
12.		42,00	++	
13.		62,00	60	1,12
14.		65,00	180	3,36
15.		69,00	60	1,12
16.		71,00	45	0,84
17.		74,00	60	1,12
18.		78,00	40	0,75
19.		80,30	48	0,90
20.		84,00	30	0,57
21.		87,30	60	1,12
22.		93,00	42	0,78
23.		97,00	++	
24.		102,00	1.350	25,22
25.		113,00	60	1,12
26.		118,00	++	
17.		126,00	300	5,62
			5.352	100,00

Izgled karakterističnog hromatograma kisele frakcije ilustruje broj komponenti koje su se razdvojile na koloni. Površine pojedinih komponenti i ukupna površina ove aromatske frakcije prikazana je na tabeli 25 sa površinom od 5.352 mm^2 koju čine 27 komponenti. Ova frakcija učestvuje u ukupnoj aromi svih frakcija sa cca 19,38%. S obzirom da ovu frakciju čine komponente kiselina i fenola, procentualni odnos odgovara.

Iz podataka prikazanih u tabeli i ilustrovanog hromatograma zapaža se da kolona i punjenje nisu uspešno razdvajale aromatske komponente. Izdvojen je mali broj komponenti, a mnoge komponente se javljaju samo u tragovima (komponente 4, 6, 8, 9, 12, 23 i 26) - tabela 25. I u ovoj aromatskoj frakciji nenormalno veliko procentualno učešće imaju samo dve komponente, i to komponenta 2 koja učestvuje u ukupnoj aromi sa cca 44,72% i 24 sa učešćem od 25,22%. Na osnovu retencionih vremena može se pretpostaviti da komponente u drugom delu table 25 pripadaju fenolima, jer imaju relativno velika retencionna vremena, što je karakteristično za fenole. Očekivano poboljšanje razdvajanja aromatskih komponenti na koloni primenjenog gasnog hromatografa nije dobijeno frakcionisanjem ukupne arome paprike na neutralnu, baznu i kiselu frakciju. Pazi-vojeno je ukupno 80 aromatskih komponenti, što ne predstavlja nikakvo poboljšanje u odnosu na snimanje ukupne arome bez razdvajanja na frakcije.

Smetnje kod snimanja, tj. neefikasno razdvajanje aromatskih komponenti na koloni bilo je potpuno identično kod

snimanja neutralne frakcije kao i kod gasnehromatografskih analiza ukupne arome paprike. Ovo se objašnjava time što neutralnu frakciju čine estri, aldehidi, keteni i alkoholi, koji za svoje razdvajanje zahtevaju različita punjenja pošto su različitih hemijsko-fizičkih osobina.

II.3. SENZORNO ODREĐJIVANJE AROMATSKIH MATERIJA U PAPIRICI

Gasnehromatografska odredjivanja arome u paprici dala su informaciju o hemijskoj prirodi aromatskih materija i broju komponenti koje grade ukupnu aromu ove vrste povrća. Identifikacija komponenti gasnehromatografskom metodom uz kombinaciju infracrvene spektrofotometrije i masene spektrografije potvrđuje prisutnost pojedinih hemijskih supstanci na osnovu molekularne strukture i hemijsko-fizičkih svojstava pojedinih komponenti koje čine aromu.

Ni jedna od pomenutih instrumentalnih metoda ne daje odgovor na šta pojedine komponente mirišu. Kod savremenijih gasnih hromatografa spliter izdvaja jedan deo arome na kraju kolone puštajući ga u atmosferu, a koji se može senzorno oceniti na šta miriše. Gasni hromatografi korišćeni u ovom radu nisu imali spliter, te je miris arome odredjivan senzorno, mirisanjem pojedinih hemijskih grupa, koje su izdvojene na opisan način i mirisanjem ostatka posle izdvajanja pojedinih hemijskih grupa.

Tehnika senzorne analize išla je hronološkim redosledom izdvajanja grupa hemijskih jedinjenja iz ukupne

arome. Prvo su iz arome izdvojene kiseline za koje je senzorno ocenjeno, posle otparavanja rastvarača, da mirišu na zelenu papriku ili sveže košenu travu. Ostatak posle izdvajanja kiselina i dalje je mirisao na papriku.

Za izdvojene fenole je ocenjeno da mirišu na dimljeno meso. Aromatski ostatak posle izdvajanja kiselina i fenola i dalje je mirisao na papriku, što je sigurna potvrda da karakteristična komponenta još nije izdvojena.

Aldehidi i ketoni su izdvojeni taloženjem sa 2,4-dinitrofenil-hidrazinom i imali su karakterističan miris hidrazona koji nema ništa zajedničko sa mirisom paprike. U aromatskom kondenzatu posle izdvajanja kiselina, fenola, aldehida i ketona ostale su aromatske komponente koje pripadaju alkoholima, estrima i acetalima.

Ova poslednja frakcija (alkoholna), od svih ocenjivača ocenjena je da ima karakterističan miris zrele paprike. Ovo je siguran dokaz da su karakteristične komponente za ispitivanu sortu paprike u alkoholnoj frakciji, tj. da pripadaju alkoholima, estrima ili acetalima.

Instrumentalna tehnika kojom se raspolagalo u ovom radu nije omogućila identifikaciju karakteristične komponente. Buttery i saradnici (49) su kod određivanja arome u zelenoj zvonastoj paprici korišćenjem gasne hromatografije i masene spektrografije kao karakterističnu komponentu koja daje miris zelenoj paprici označili diazon (2-metil-3-izobutil pirazin). Verovatno je da ovaj diazon daje miris zelene paprike. On se u našem slučaju izdvojio zajedno sa kiselinama iz ukupne

arome, pa je verovatno ova hemijska grupa arome paprike imala miris na zelenu papriku.

Wendell i saradnici (46) su kod ispitivanja arome cvetne paprike korišćenjem iste instrumentalne tehnike izdvojili osnovne komponente koje pojedinačno podsećaju na miris paprike ali ne daju karakterističan miris (4-metil-1-pentil-2-metil butirat, 3-metil-1-pentil-3-metil butirat i izohexsil-izokaproat). Autori ovog rada ne daju odgovor koja je od navedenih komponenti arome karakteristična za ispitivanu papriku, nego zaključuju da ove komponente sinergično sa ostalim komponentama daju karakterističnu aromu Tabasko paprike.

Obavljena ispitivanja u ovom radu idu u prilog takve pretpostavke, jer je kod senzorne ocene potpun utisak arome na zrele plodove paprike Rotunda zelena ostavila samo ukupna aroma pre razdvajanja na hemijske grupe i frakcije.

III. DISKUSIJA REZULTATA

Izvršena ispitivanja jasno pokazuju da je aroma paprike od značaja kako sa tehnološkog, tako i sa naučnog gledišta. Bogatstvo ove arome u komponentama različitih hemijskih grupa, pa prema tome različitih fizičko-hemijskih karakteristika, uticalo je da se u ovom radu primene razne metode i varijante za njihovo određivanje i identifikaciju.

Izabrane su sorte paprike za ispitivanje tako da je od različitih sorti uzeta ona koja se najviše uzgaja i preradjuje u industriji, vodeći računa da budu zastupljene sorte prema tehnološkoj nameni i to Horgoška slatka I, poznata kao industrijska sorta za proizvodnju mlevene začinske paprike i ekstrakta i četiri sorte (Čudo Kalifornije, Rotunda zelena, Kurtovska i Pazardžijska kapja) koje se najviše koriste za preradu u razne proizvode od paprike i za konzumnu potrošnju u svežem stanju.

Iz hemijskog sastava (tabela 1) vidi se da su izabrane sorte veoma dobrog kvaliteta, u pogodnoj tehnološkoj zrelosti, na što ukazuje visok sadržaj suve materije. Razlike u suvoj materiji kreću se u granicama od 13,13 do 10,42%. Ovakva razlika je normalna, jer se radi o sortama koje imaju različitu tehnološku namenu u industriji za preradu paprike. Od većeg značaja je odnos refraktometrijskih suvih materija koji pruža informaciju o količini rastvorljivih materija u ćelijskom soku, koje su mnogo važnije u ishrani. Tako sorta Horgoška slatka ima 85,30% u ćelijskom soku rastvorljivih materija računato na ukupnu suhu materiju sušenjem, Čudo Kalifornije 82,09%, Rotunda zelena 89,26%, Pazardžijska kapja 89,29% i Kurtovska kapja 76,92%.

Ostali hemijski sastav je veoma sličan i varira oko srednje vrednosti karakteristične za ovu vrstu povrća.

Značajna je količina sirovih vlakana kojih najviše ima kod Horgoške slatke, ali s obzirom na tehnološku namenu selekcija ove sorte je i vođena u tom pravcu, jer celuloza čini osnovnu masu kod mlevene začinske paprike.

Po količini ulja, najbogatija je Kurtovska kapja, mada se očekivalo da Horgoška slatka I ima najviše ulja.

Interesantno je da Horgoška slatka I ima najviše proteina (1,94%), što nije povoljno sa tehnološke strane.

Po količini askorbinske kiseline sve ispitivane sorte su veoma slične (količina askorbinske kiseline se kreće u rasponu od oca 81-98 mg/100 g svežeg ploda).

S obzirom na sezonsko prispeće ispitivane paprike materijal za određivanja aromatskih materija je trebalo pripremiti pretvaranjem svežih plodova u kašu. Kaša je pakovana u limenke od 5 kg i čuvana u hladnoj prostoriji do analize. Verovatno je pri tome došlo do izvesne promene na aromatskim materijama, ali su te promene bile iste kod svih uzoraka, pa su se oni i mogli međjusobno upoređivati.

Dearomatizacija kaše izvršena je pomoću dve opisane metode, od kojih je svaka gasnehromatografski proverena. Pri tome je konstatovano da je destilacija arome vodenom parom brža, jednostavnija i daje veći broj aromatskih komponenti (45 prema 32, tabela 2).

Destilacija kaše pod vakuumom u struji inertnog

gasa je pogodnija pošto se koriste niže temperature i inertni gas, što manje utiče na promene sastava arome od visokih temperatura pri destilaciji vodenom parom. Ovaj način dearomatizacije je veoma podesan za rad sa svežim uzorcima, kod kojih se, posle dearomatizacije, mogu analizirati i drugi sastojci (boja, askorbinska kiselina i sve ostale termolabilne materije), zavisno od procenta uparavanja. Za vreme dearomatizacije uzoraka veliki je problem smanjenje gubitaka aromatskih materija. Kod dearomatizacije pod vakuumom u inertnom gasu, u poslednjem stepenu hladjenja na -196°C kondenzovale su se neke komponente koje su u prethodnim stepenima hladjenja (-35° do -90°C) prošle nekondenzovane (hromatogram 1). Prema tome, za sada ne postoji mogućnost kvantitativnog izdvajanja arome bez manjih gubitaka. Korišćeni laboratorijski uređaj za dearomatizaciju (slika 5), sa sistemom hladjenja, sveo je gubitke aromatskih materija na minimum (hromatogram 1).

Za komparativna ispitivanja arome pojedinih uzoraka može se koristiti dearomatizacija vodenom parom, imajući u vidu da usled povišenih temperatura može doći do pirolitičkog raspadanja pojedinih hemijskih materija i stvaranja novih aromatskih komponenti koje nisu karakteristične za ispitivani uzorak (miris na kuvano, furfural itd.).

Za ekstrakciju arome iz vodenog kondenzata najpogodniji je uređaj za kontinualnu ekstrakciju, u sistemu tečno-tečno. Kako u ovom radu tim uređajem nije raspolagano, ekstrakcija je izvedena na opisani način.

Snimanjem vodenog ostatka posle ekstrakcije na gasnom hromatografu, i pod radnim uslovima opisanim u poglavlju II.1.6. i ilustrovanim na hromatogramu 2, vidi se da je ekstrakcija bila potpuna, pošto je u vodenom zaostatku detektovana samo jedna komponenta, i to u tragovima.

Ekstrakcijom aromatskih komponentata iz vodenog kondenzata pomoću različitih organskih rastvarača, dobijena je "aromska miscela" rastvarača i arome. Za hromatografsko ispitivanje arome, rastvarač se morao izdvojiti i na taj način aroma koncentrovati. Korišćeni laboratorijski uređaj i tehnika otparavanja rastvarača (II.1.5.) dali su dobar efekat izdvajanja rastvarača iz arome, uz minimalni gubitak aromatskih materija. Hromatogram 3 pokazuje da je gubitak aromatskih materija koje odlaze sa rastvaračem mali, tj. sveden na minimum.

Koncentrovanu aromu, oslobođenu rastvarača, treba ampulirati u posudice iz kojih se može direktno uzimati uzorak za hromatografisanje, bez otvaranja. Svako otvaranje u cilju unošenja uzorka za analizu, skopčano je sa gubitkom aromatskih materija koje se nalaze u gasnoj fazi iznad tečnog uzorka. Hromatogram 4 prikazuje aromatske materije paprike u gasnoj fazi, koje se gube kod otvaranja, iz čega se vidi da je u gasnoj fazi bilo ukupno 9 komponenti.

Kod proizvodnje kašastih proizvoda od paprike uparavanje kaše izvodi se pod vakuumom. Zato je u ovom radu ispitana i dinamika oslobađanja aromatskih komponenti iz kaše uparavane pod vakuumom u struji azota. Na osnovu izvršenih

ispitivanja i prikazanih rezultata, utvrđeno je da se kod stepena uparenja cca 20% oslobodi 46,64% od ukupne arome. Ovo predstavlja veliki gubitak aromatskih materija, što znači da će svi proizvodi, koji se uparavaju do tog stepena uparenja, biti i deficitarni za toliko aromatskih materija.

U daljem postupku uparavanja kaše do 40%, gubitak se procentualno znatno smanjuje, cca 2,69% od ukupne arome, što je verovatno posledica smanjenja koncentracije aromatskih materija u kaši paprike, koje su se oslobodile u prethodnom stepenu uparenja. Kod porasta stepena uparenja ponovo dolazi do naglog oslobađanja aromatskih komponenti - materija, tako da kod 60% stepena uparenja, procentualni gubitak aromatskih materija se povećava za 15,4%, a ukupan gubitak kod ovog stepena uparenja iznosi cca 74,73%. To u isto vreme znači da i svi proizvodi, koji se uparavaju na 60% od početne zapremine, gube cca 75% od svoje arome, koja je isparljiva.

U poslednjem stepenu uparenja, od cca 80% povećava se procentualno oslobađanje aromatskih materija za daljih 25,27%.

Dinamika oslobađanja pojedinih komponenti i ukupna količina isparene arome prikazani su na hromatogramima 7-10 i tabelama 3 i 4. Na osnovu dinamike separiranja i procentualnog izdvajanja arome iz kaše paprike, aromatske materije paprike su podeljene u tri grupe: lako, teže i teško isparljive.

Organoleptičkom ocenom dearomatizovane kaše, kod 80%-nog uparenja, utvrđeno je da kaša i dalje ima miris na

papriku, mada on nije karakterističan za ovu vrstu i sortu, pa neupućeni ocenjivač može na osnovu njenog mirisa oceniti da pripada nekoj drugoj vrsti povrća (paradajzu).

Na dijagramu 1 nanesene su neke karakteristične komponente koje su se različitom dinamikom izdvajale iz kaše paprike (hromatogram 7 do 10 i tabela 3 i 4). Za takvo ponašanje pojedinih aromatskih komponenti prilikom dearomatizacije kaše od paprike teško je dati neko teorijsko tumačenje. Prema Šulcu i saradnicima (60) na brzinu isparavanja pojedinih komponenti nekih aroma voća i povrća utiče, pored uslova dearomatizacije (normalni pritisak, vakuum, primena inertnog gasa, primenjene temperature i pritisci itd.), pre svega hemijska struktura, molekulska težina i ostala fizička i fizičko-hemijska svojstva komponente koja isparava, medju kojima su najvažnija rastvorljivost u vodi i alkoholu i drugim komponentama arome, tačka ključanja komponente i mogućnost stvaranja azeotropskih smeša. Ovo mišljenje podudara se i sa dobijenim rezultatima ispitivanja dinamike separiranja arome paprike. Tako lako isparljive komponente arome paprike (7, 15, 16, 17, 28 i 36 na dijagramu 1) poseduju srazmerno niske tačke ključanja, srazmerno nisku molekulsku težinu, dobru rastvorljivost u soku (kaši) i ne stvaraju azeotropске smeše. Teže i teško isparljive komponente poseduju višu molekulsku težinu, pa prema tome i višu tačku ključanja, težu rastvorljivost u vodi, teže se separiraju vodenom parom, a neke od njih stvaraju i azeotropске smeše. Prema tome za isparavanje tih teže isparljivih frakcija arome paprike bilo je potrebno primeniti znatno viši stepen isparenja kaše (soka). Kod toga je

na dinamiku izdvajanja pojedinih komponenti znatno uticala i njena koncentracija u kaši (soku) u datom momentu, tj. kod datog stepena isparenja kaše.

Na kraju da se kaže da je kaša paprike i nakon de-aromatizacije još uvek posedovala miris koji podseća na onšti aromatični kompleks povrća, što znači da se ove aromatične materije paprike nisu mogle pod onisanim načinom de-aromatizacije potpuno izdvojiti. Da li ove materije stvaraju samo azeotrop-ske smeše ili su čak nekako vezane za strukturu osnovnih sastojaka paprike (pektinske, celulozne, azotne, lipidne ili druge materije), ostaje otvoreno pitanje na koje mogu dati odgovor ispitivanja koja bi se u tom smeru provela. O tome za sada, koliko je nama poznato, ne postoje podaci u literaturi.

U prikazu rezultata često su navodjeni činioci od kojih zavisi kvalitet ispitivane vrste povrća. Kako je jedan veoma važan parametar kvaliteta paprike i aroma zato što ovo povrće služi za proizvodnju raznih aditiva, tražen je odgovor na pitanje da li je i u kojoj meri aromatičnost zavisna od sorte, pod uslovom da su drugi činioci aromatičnosti konstantni. Ispitane su dve grupe različite kako po nameni, tako i po spoljnom izgledu i "genetskoj čistoći", sorte koja treba da održavaju osnovna sortna svojstva. Horgoška slatka nije genetski stabilna zato što je nastala selekcijom, dok su druge ispitivane sorte genetski "čistije". Rezultati ispitivanja uticaja sorte na ukupnu aromu prikazani su hromatogramima 11 do 15 i tabeli 5 i 6.

Iz dobijenih rezultata proizlazi zaključak da je aromatičnost, kako u kvantitativnom, tako i kvalitativnom pogledu zavisna od sorte. ako su drugi faktori koji utiču na aromatičnost konstantni. Horgoška slatka I ima najveću količinu arome 129.157 mm^2 . Najveći broj komponenti koje učestvuju u formiranju ukupne arome ima sorta Rotunda zelena, što navodi na zaključak da bogatstvo u aromi ne zavisi samo od količine nego i od broja komponenti koje učestvuju u stvaranju arome, a pre svega od hemijske strukture pojedine aromatske komponente. Kada se za indeks aromatičnosti 100 uzme količina ukupne arome Horgoške slatke I onda je redosled aromatičnosti kako je naveden u tabeli 5. Drugi redosled aromatičnosti je ako se bogatstvo arome ceni po broju aromatskih komponenti kada redosled izgleda ovako: Rotunda 57, Čudo Kalifornije 54, Pazardžijska 52, Horgoška slatka 49 i Kurtovska kapja sa 42 komponente.

Aromatičnost sorti u tabeli 6 odnosi se na sorte iste tehnološke namene koje se mnogo koriste za proizvodnju različitih proizvoda i za konzumnu potrošnju. Ako se ceni prema ukupnoj aromi, onda je redosled aromatičnosti kao što je navedeno u tabeli. Prema broju komponenti redosled aromatičnosti je Rotunda zelena, Čudo Kalifornije, Pazardžijska, pa Kurtovska kapja. Potrebno je istaći da za sada ne postoji usvojen kriterijum po kome bi se cenila aromatičnost voća i povrća.

Ova ispitivanja su dokazala da je pored ostalih faktora od značaja, kako za ukupnu aromatičnost, tako i za

broj komponenti koje učestvuju u izgradnji arome, sortno svojstvo povrća, u ovom slučaju paprike.

U raspoloživoj stručnoj literaturi, koja obradjuje aromatičnost voća i povrća nije pronadjen ni jedan rad iz koga bi se dobila informacija o preraspodeli arome po pojedinim delovima plodova. Zato je u ovom radu ispitana aromatičnost pojedinih jestivih i nejestivih delova plodova paprike, na način kako je to opisano u ovom radu.

Iz dobijenih rezultata prikazanih u hromatogramima 16 do 18 i tabeli 7 vidi se da je aromatičnost pojedinih delova različita, pa će prema tome i aromatičnost gotovih proizvoda zavisiti od učešća pojedinih delova plodova u proizvodu. U tabeli 8 dati su podaci ukupne arome po pojedinim delovima ploda i procentualno učešće pojedinih delova u ukupnoj aromi.

Najveće učešće u ukupnoj aromi 41,56% ima zeleni deo ploda (peteljka i čašični listići). Ovi delovi često ulaze u sastav mnogih proizvoda od paprika (mlevena paprika, marinirana i biološki kišeljena paprika), pa je veliko pitanje da li i koliko deo arome iz ovih delova doprinosi ili umanjuje opšti utisak tj. karakteristično obeležje za aromu paprike. Aromatske materije iz ovih delova su atipične (mirišu na zeleno) i nemaju ništa zajedničko sa aromom ove vrste povrća. Prema tome mogao bi se za ocenu aromatičnosti uzeti samo onaj broj komponenti koje po svom mirisu najviše podsećaju na miris ispitivane vrste i sorte povrća. Isti je slučaj i sa delom arome koji potiče

iz semena paprike i učestvuje sa cca 33,49%. Neupućeni ocenjivači kod senzorne ocene mirisa nisu mogli identifikovati da ocenjivana aroma potiče od paprike. Neki su ocenili kao miris paradajza, drugi kao neodređen miris, samo je par ocenjivača tvrdio da ocenjivana aroma podseća na papriku. Kod ocene onog dela ukupne arome koja je izdvojena iz mesnatog dela ploda (placente) i učestvuje sa cca 24,95% u ukupnoj aromi, nije bilo dileme kod ocenjivača da miriše na zrelu papriku.

Poznato je da klimatski uslovi u godini uzgoja imaju veliki uticaj na kvalitet plodova uopšte. Ni u jednom radu nema podataka o uticaju klimatskih uslova (sume srednjih dnevnih temperatura i relativne vlažnosti) u vremenu sazrevanja plodova, kada se formira aroma karakteristična za vrstu i sortu. Iskustveno se zna da plodovi paprike kada su zeleni nemaju karakterističan miris - aromu na vrstu i sortu. Svi plodovi mirišu na zeleno bez obzira na sortu paprika. U radu je ispitivan uticaj klimatskih faktora na formiranje arome u vremenu sazrevanja plodova, na način kako je to već opisano.

Dobijeni rezultati za 1971. i 1972. godinu, koje su se po klimatskim uslovima znatno razlikovale, kod ispitivanja aromatičnosti Horgoške slatke i Rotunde zelene prikazani su na hromatogramima 19 i 20 za Horgošku slatku i 21 i 22 za Rotundu zelenu. Podaci za ukupnu aromu prikazani su na tabeli 9 za Horgošku slatku i 10 za Rotundu.

Iz prikazanih rezultata vidi se da je klimatski uticaj, kako na količinu arome, tako i na broj komponenti

koje učestvuju u ukupnoj aromi veliki.

Horgoška slatka I imala je u 1971. godini ukupnu količinu arome izraženu u mm^2 182.920 koju je činilo 87 isparljivih komponenti. Ista sorta je u 1972. godini imala mnogo manje arome tj. 52.843 mm^2 , sa ukupnim brojem komponenti 68. Razlike, kako po količini ukupne arome, tako i po broju komponenti, su velike i svakako su posledica i klimatskih faktora u periodu sazrevanja plodova.

Ovako velike razlike, kako po broju komponenti tako i po količini ukupne arome, kod sorte Rotunda zelena nisu zabeležene. Ova sorta je u 1971. godini imala ukupnu količinu arome 77.870 mm^2 koja je poticala od 78 komponenti, da bi se u narednoj godini ukupna količina arome neznatno smanjila i iznosila je 75.567 mm^2 , dok se broj isparljivih komponenti smanjio na 76.

Klimatski faktori su podjednako uticali na promenu aromatičnosti kod obe sorte, mada je ta promena manje izražena kod Rotunde. Ovo se može objasniti i genetskom čistoćom Rotunde, jer je ona sorta sa ustaljenim genetskim svojstvima, dok je Horgoška slatka nastala selekcijom pa je sklona genetskim promenama zavisno od uslova sredine. Ovo je verovatno uticalo na tako veliko kolebanje aromatičnosti u ispitivanim godinama.

Za ispitivanje ukupne aromatičnosti uzete su dve sorte koje se preradjuju u različite proizvode. Horgoška

slatka I je iz grupe sitnoplodnih izduženih sorti koja je nastala selekcijom sa ciljem da se stvori sorta sa povećanom količinom bojnih, aromatskih materija koje čine osnovu kvaliteta mlevene začinske paprike. Druga sorta uzeta za ispitivanje ukupne arome, Rotunda zelena, spada u krupnoplodne sorte, kolačarastog izgleda, podesna za preradu u razne proizvode od paprike i potrošnju u svežem stanju. Za ispitivanje ukupne aromatičnosti uzet je materijal iz 1971. godine zato što su prethodna ispitivanja pokazala da su klimatski uslovi bili pogodni za formiranje aromatskih materija u plodovima paprike.

Aroma je pripremljena i snimljena na prethodno opisani način. Rezultati dobijeni ovim ispitivanjem prikazani su na hromatogramu 19 za Horgošku slatku i 21 za Rotundu zelenu. Ukupna količina arome i pojedinih razdvojenih komponenti prikazana je na tabeli 11 za Horgošku slatku i 12 za Rotundu zelenu. Iz prikazanih hromatograma ukupne arome vidi se redosled eluiranja pojedinih komponenti. Po izgledu nekih karakterističnih pikova, tj. nesimetričnosti, može se zaključiti da kolona nije uspešno razdvajala komponente, naročito na središnjem delu hromatograma (19 i 21), o čemu će biti diskusije kasnije.

I pored izvesnih teškoća kod snimanja ukupne arome, upotrebljena kolona je iz arome Horgoška slatka I razdvojila 87 isparljivih komponenti. Izgled nekih pikova u ovoj aromi (hromatogram 19) ukazuje da su se neke isparljive komponente

medjusobno sustizale i preklapale jedna drugu, detektujući se kao jedna asimetrična komponenta. Da nije došlo do ove pojave kolona bi razdvojila komponente i dobilo bi se mnogo više pikova, o čemu će biti izvešteno kasnije. Buttery (49) i Wendell (46) su ispitivali ukupnu aromu zvonaste zelene paprike i cvetne (Tabasco peper), gasnom hromatografijom, dok su za identifikaciju koristili infracrvenu spektrofotometriju i masenu spektroskopiju. Za razdvajanje su koristili kapilarnu kolonu od 50 do 1000 foot-a. Buttery je iz zvonaste paprike izdvojio samo 68 komponenti, dok je Wendell kod ispitivanja izrazito aromatične sorte paprike razdvojio 124 komponente. Kada se uporedi ispitivana ukupna aroma Horgoške slatke I sa ispitivanjima Wendell-a, nameće se zaključak da bi na kapilarnoj koloni, kojom se u ovom radu nije raspolagalo, došlo do boljeg razdvajanja i identifikacije većeg broja isparljivih komponenti iz ukupne arome. Po količini aromatskih materija Horgoške slatka ima ukupno 182.920 mm^2 arome. Neke komponente (27, 32, 35, 36, 37 i 45) javljaju se samo u tragovima, iako su od značaja za formiranje arome.

Aromatičnost sorte Rotunda zelena je manja od prethodne po broju komponenti, jer se razdvojilo 73 komponenti (hromatogram 21, tabela 12). Ukupna količina aromatskih materija je takodje manja u odnosu na Horgošku slatku i iznosi 77.870 mm^2 . Ovakav odnos aromatičnosti može se smatrati za normalan jer je Horgoška slatka I namenjena za proizvodnju začinske mlevene paprike, dok se Rotunda preradjuje u razne proizvode

od paprike i troši u svežem stanju. Prethodno je već naglašeno da broj komponenti i ukupna količina arome nisu znak izrazite aromatičnosti na vrstu i sortu povrća. Ova ispitivanja idu u prilog mišljenju da je aromatičnost i jedne i druge sorte dovoljno izražena, kako za vrstu, tako i za sortu.

Kod preliminarnih ispitivanja aromatičnosti paprike u svim slučajevima javljaju se teškoće u razdvajanju aromatskih komponenti, i pored korišćenja različitih kolona i punjenja. U početku snimanja kolona normalno razdvaja aromatske materije, dok u središnjem delu hromatograma kod eluiranja teže isparljivih materija efikasnost razdvajanja naglo opada. Uzrok ovome je verovatno sustizanje i preklapanje isparljivih komponenti bliskih temperatura ključanja, što onemogućuje efikasno razdvajanje. Ova pojava mogla bi se uslovno nazvati zagušenje kolone, jer je detektor pod stalnim naponom i drži iglu pisača u gornjoj poziciji hromatografskog papira. Detektorski sistem detektuje samo maksimume pojedinačnih pikova, dok im površine ostaju adirane čineći zajednički izdužen pik.

Pokušaj da se ove anomalije u razdvajanju na koloni otklone promenom parametara kod snimanja na gasnom hromatografu nisu uspele. Zadovoljavajući rezultati dobijeni su uzimanjem malih količina uzorka arome i ul uz programiranu temperaturu $2^{\circ}\text{C}/\text{minut}$ i visoku osetljivost rada aparata.

Na osnovu izgleda hromatograma prethodno citiranih

autora može se zaključiti da su i oni imali slične poteškoće kod snimanja ukupne arome, o čemu u radu ne izveštavaju, te je zbog toga aroma paprike pre snimanja na gasnom hromatografu frakcionisana - o čemu će biti govora kasnije.

Da se olakšaju i izbegnu teškoće kod snimanja arome paprike, izdvojene su aromatske materije po hemijskim grupama (kisljine, fenoli, aldehidi, ketoni i alkoholi) kao što je opisano u poglavlju II.2.9. Aromatske materije po hemijskim grupama su snimljene na gasnom hromatografu, pri čemu je dobijeno poboljšano razdvajanje aromatskih materija na korišćenoj koloni. Razdvajanje ukupne arome po hemijskim grupama korišćeno je i za identifikaciju aromatskih materija, kako po hemijskoj pripadnosti, tako i pojedinačnih komponenti na osnovu retencionih vremena poznatih model supstanci.

Razdvajanjem arome na hemijske grupe, alkohole i kisljine jedan deo estara u aromi izdvojio se sa kisljinama dok je drugi deo estara iz arome ostao u alkoholnoj frakciji.

Pokušaj čišćenja alkoholnih ili kiselih komponenti arome od estara nije uspeo jer je kod čišćenja došlo do gubitka alkohola ili kiselina iz arome, a one se nalaze u ovim frakcijama u tragovima. Do ovakve pretpostavke došlo se snimanjem prečišćenih alkoholnih i kiselih frakcija arome na gasnom hromatografu i tom prilikom su dobijeni takozvani prazni hromatogrami (hromatogram sa nekoliko komponenti i dobrom baznom linijom).

Alkoholi i pripadajući estri ispitani su na gasnom hromatografu kako je to već opisano zajedno sa test supstancama alkohola i estara, koji su poslužili za identifikaciju. Rezultati snimanja ove hemijske grupe prikazani su na hromatogramu 23 za test supstance alkohola i hromatogramu 24 za ispitivane supstance alkohola i estara. Osobine test supstanci alkohola prikazane su na tabeli 13, a test supstance estara na tabeli 17. Površine komponenti i ukupne površine alkohola i estara iz arome paprike prikazani su na tabeli 14.

Iz hromatograma i tabele alkohola i estara iz arome paprike vidi se, da je kolona uspešno razdvojila komponente, pošto se detektovalo ukupno 49 komponenti sa površinom od $104.368,18 \text{ mm}^2$ (tabela 14). Na osnovu retencionih vremena test supstanci u ispitivanoj aromi identifikovano je 12 različitih alkohola i 15 estara od 49 eluiranih komponenti.

Procertualno učešće alkoholnih i estarskih komponenti je različito kako se to vidi na tabeli 14, ali je njihova uloga u formiranju arome kod ove vrste povrća za sada nepoznata.

Kod snimanja model supstanci estara, tabela 17, uzeta je grupa od 39 različitih estara sa veoma bliskim tačkama ključanja i snimljena na istom gasnom hromatografu i koloni kao i komponente alkoholno-estarske frakcije arome paprike. Zapaženo je identično ponašanje kolone u središnjem delu hromatograma tj. kod onih retencionih vremena i tački ključanja kada se razdvajaju estri bliskih hemijsko-fizičkih

osobina. Kolona nije efikasno razdvojila estere bliskih tački ključanja, jer su se oni međusobno sustizali i preklapali kod izlaska sa kolone, pa je detektor detektovao samo maksimume pojedinih estera, dok su površine ostale zajedničke-adirane.

Ovakvo ponašanje estera navelo je na zaključak da oni ometaju normalno razdvajanje aromatskih komponenti paprike, jer se prema retencionim vremenima i tačkama ključanja nalaze baš na tom delu hromatograma gde su se eluirale test supstance aldehida, kod istih uslova gasnohromatografskog snimanja.

Odredjivanje kiselina i dela estera iz arome paprike izvršeno je na sličan način, uz primenu odgovarajuće kolone, kako je to prethodno opisano i istovremeno odredjivanje test supstanci kiselina koje su poslužile za identifikaciju kiselina u aromi paprike. Iz prikazanog hromatograma 25 vidljivo je da primenjena kolona i runjenje ima dobro razdvajanje organskih kiselina. Hromatogram 26 je takodje dobra ilustracija razdvajanja aromatskih komponenti kiselina i estera iz paprike. Iz prikazane tabele 16 vidljivo je da u ovoj grupi ima ukupno 24 komponente površine 91.424 mm^2 , od čega je na osnovu test supstanci identifikovano samo 7 kiselina (sirćetna, buterna, izobuterna, izovalerijanska, kapronska, kaprilna i kaprinska).

Pripadajući estri u ovoj aromatskoj grupi nisu mogli biti identifikovani zato što su test supstance snimljene na drugoj koloni, jer kolona za kiseline nije razdvajala test estre.

Fenolne komponente iz arome paprike i test supstance fenola snimljene su na gasnom hromatografu kako je to prethodno opisano, pod istim uslovima, pa se medjusobno mogu uporedjivati i identifikovati. Iz hromatograma 29 i tabele 18 vidljivo je da ovu hemijsku grupu aromatskih materije grade 33 komponente sa površinom od 26.002 mm². Identifikovana je samo jedna komponenta (2,5-ksilenol) zato što test supstance fenola nisu odgovarale fenolima u aromi paprike.

Aldehidi i ketoni su odredjeni metodom gasne hromatografije kao test supstance na način kako je to prethodno opisano. Kod gasnehromatografskog odredjivanja aldehyda i ketona izdvojilo se ukupno 11 komponenti sa površinom od 91.652 mm². Identifikovano je ukupno 4 aldehyda (tabela 21) i samo jedan keton (izopropilmetil keton).

Na osnovu hromatograma 31 može se zaključiti da korišćena kolona nije efikasno razdvojila sve aldehyde u aromi paprike, zbog čega je za razdvajanje aldehyda u formi hidrazona korišćena hromatografija na tankom sloju.

Razdvajanje aldehyda bilo je dobro, što se vidi iz slike tankoslojnog hromatograma (slika 7). Na osnovu Rf vrednosti test supstance aldehyda u aromi paprike tankoslojnom

hromatografijom je identifikovano ukupno 11 aldehida (tabela 22). Komponente 1 i 12 nisu identifikovane jer ih nije bilo u test supstanci. Propionalaldehid je potvrđen i identifikacijom na tankom sloju, pa je prema tome ukupan broj identifikovanih aldehida u aromi paprike 14.

Ova ispitivanja su pokazala da je identifikacija preko retencionih vremena uz primenu identifikacije na tankom sloju moguća i da se one međusobno dopunjuju.

Razdvajanjem aromatskih materija na hemijske grupe, kako je to opisano u ovom radu, i ispitivanjem pojedinačnih hemijskih grupa arome metodom gasne hromatografije postignuto je bolje i potpunije razdvajanje pojedinačnih isparljivih komponenti iz arome paprike. Primenom ovakvog načina određivanja arome paprike razdvojeno je ukupno 117 komponenti sa površinom od 313.446 mm^2 . Kada se ovi rezultati uporede sa rezultatima prikazanim na tabeli 12, gde se iz ukupne arome razdvojilo samo 78 komponenti od mogućih 117, koje su dobijene snimanjem razdvojene arome po komponentama. Gasnohromatografskim ispitivanjem ukupne arome bez razdvajanja na komponente detektovano je samo 66% aromatskih komponenti od ukupno mogućih, pa je prema tome daleko bolje razdvojiti aromatske materije po hemijskim grupama i u njima ispitivati aromatske materije. Bolja prednost ovakvog načina ispitivanja arome dobija se uporedjenjem količina izdvojene arome. Prema podacima iz tabele 12 vidi se da je količina izdvojene arome iz paprike Rotunda, bez razdvajanja 77.870 mm^2 , dok je kod

snimanja razdvojene arome po grupama ova površina mnogo veća, 313.446 mm². Praktično to znači da se zbog nerazdvajanja pojedinih komponenti na koloni i preklapanja površina nerazdvojenih komponenti, kod snimanja ukupne arome detektovalo samo 24,84%. Ostali deo arome tj. 75,16% izgubio se u preklopljenim i nerazdvojenim komponentama. Procentualno učešće pojedinih hemijskih grupa iznosi: grupa kiselina 29,17%, alkoholna 33,36%, fenolna 8,29%, aldehidi i ketoni 29,18%.

Drugi deo teže isparljivih estara odlazi sa alkoholima.

Primenom gasne i tankoslojne hromatografije bilo je moguće, uz model supstance preko retencionih vremena i Rf vrednosti, identifikovati 51 komponentu u aromi paprike (7 organskih kiselina, 12 alkohola, 15 estara, 15 aldehida, 1 fenol i 1 keton).

U cilju potpunije identifikacije i lakšeg razdvajanja aromatskih materija na raspoloživoj koloni, aroma paprike je, po već opisanom postupku, razdeljena na frakcije - kiselu, neutralnu i baznu, po Praag-u (81). Aromatske frakcije su snimljene na gasnom hromatografu, a rezultati su prikazani na tabeli 25 i hromatogramu 33 (bazna frakcija).

Razdvojeno je ukupno 26 komponenti u baznoj frakciji, ali se iz površina pojedinih i ukupnih komponenti i izgleda hromatograma može zaključiti da kolona nije efikasno razdvojila komponente bazne frakcije, koju čine amini.

Bolje razdvajanje je bilo kod neutralne frakcije

arome (hromatogram 34 i tabela 24). Ovo je razumljivo, jer ovu frakciju čine komponente estara, aldehida, ketona, kao i alkohola. Razdvojeno je ukupno 27 komponenti, sa površinom od 28.969 mm^2 . Iz izgleda hromatograma može se zaključiti da, i pored efikasnijeg razdvajanja na primenjenoj koloni i punjenju, postoje veoma slične poteškoće kao i kod snimanja ukupne arome. I u ovom slučaju je potvrđena pretpostavka da prisustvo heterogenih supstanci, sličnih hemijsko-fizičkih svojstava, otežava razdvajanje, te ih je bolje razdvojiti na hemijske grupe, a zatim hromatografisati, kako je to u prethodnom postupku uradjeno.

Neutralna frakcija je snimljena na istoj koloni i uslovima rada kao i model supstance estara i alkohola, što je omogućilo identifikaciju 17 isparljivih komponenti neutralne frakcije arome. Kisela frakcija arome snimljena je pod istim uslovima kao i prethodne dve, a rezultati su prikazani na hromatogramu 35 i tabeli 25. Razdvojeno je ukupno 27 komponenti, površine 5.352 mm^2 . Identifikacija pojedinačnih komponenti iz ove frakcije nije bila moguća, jer je model supstanca snimljena na drugoj koloni i drugim uslovima rada. Može se sa sigurnošću tvrditi da kiselu frakciju čine kiseline i fenoli, pa je ovaj broj komponenti verovatan, jer je potvrđen u prethodnom ispitivanju arome. Procentualno učešće pojedinih frakcija bilo je sledeće: 75,65% čini neutralna frakcija, 13,93% kisela frakcija i 10,42% bazna frakcija.

Ovakav postupak kod odredjivanja arome i broja komponenti koje čine aromu, nije olakšao rad kod snimanja.

Teškoće kod razdvajanja su bile slične, a ukupan broj razdvojenih komponenti je samo za dve komponente veći, tj. ovim načinom ispitivanja razdvojeno je 80 komponenti, dok je snimanjem ukupne arome, bez razdvajanja, dobijeno 78 komponenti iz arome paprike Rotunda zelena.

Instrumentalnom analizom aromatskih materija u paprici nije moguće dobiti informaciju o mirisu komponente. Korišćeni gasni hromatografi nisu raspolagali spliterskim izvodom za senzornu analizu. Zato je u radu senzorna ocena izvršena mirisanjem pojedinih hemijskih grupa kod razdvajanja, uz uporedno mirisanje aromatskog ostatka posle izdvajanja pojedinih grupa. Kiseline su, od većine neupućenih ocenjivača, senzorno ocenjene da mirišu na zelenu papriku, dok je manji broj tvrdio da mirišu na sveže košenu travu. Ocenjeno je da ostatak posle izdvajanja kiselina miriše i dalje na papriku.

Fenoli su mirisali na dimljeno meso. Ostatak posle izdvajanja fenola mirisao je i dalje na papriku.

Aldehidi i ketoni nisu senzorno ocenjivani, jer su mirisali na hidrazone, koji nemaju ništa zajedničko sa mirisom paprike.

Ostatak arome, posle izdvajanja kiselina, fenola, aldehida i ketona, imao je miris na papriku, ali ne potpuno karakterističan, kao što je miris kompletne arome. Ova alkoholna frakcija je još uvek mirisala na papriku, ali se ne može tvrditi da tipičnu aromu ispitivane paprike daju samo alkoholi, pošto postoji verovatnoća da se u ovoj frakciji nalaze i estri, amini i acetalni.

Senzorna ocena aromatskih frakcija (neutralna, bazična i kisela) data je u prikazu rezultata. Kako ove frakcije čine više hemijskih grupa, to se ne može sa sigurnošću reći šta je to što daje miris frakciji, tj. koja je to hemijska grupa isparljivih materija iz arome ispitivane paprike.

Na kraju se može reći da su izvršena višegodišnja i veoma opsežna ispitivanja aromatskih materija paprike dala veoma vredan doprinos nauci i praksi tog područja i da su ukazala na put i način u daljnjim ispitivanjima, ne samo arome paprike, nego i uopšte aromatskih sastojaka i aromatičnosti voća i povrća.

Na osnovu podataka u opštem delu, rezultata i diskusije iznesene u eksperimentalnom delu ovoga rada, mogu se dati sledeći zaključci:

- Paprika (*Capsicum annum*, L), mada ima veliki značaj u ishrani i međunarodnoj trgovini, nije dovoljno proučena s obzirom na sistematiku sorti i njihovu tehnološku vrednost. Naročito nisu proučavane aromatske osobine koje su značajan tehnološki faktor, te je zbog toga proučavanje aromatskih materija u ovoj vrsti povrća doprinos nauci i praksi.

- Za ispitivanje aromatičnosti uzete sorte pripadaju različitim tehnološkim grupama, prema tome i aromatičnost gotovih proizvoda sa izvesnim odstupanjima zavisiće od ishodne sirovine.

Ispitivane sorte su veoma kvalitetne, što ilustruju podaci u tabeli 1., pa je i aromatičnost došla do punog izražaja.

- Primenjeni način pripreme materijala bio je, obzirom na sezonski karakter prispeća sirovine, neophodan.

Svi uzorci su pripremljeni i čuvani pod istim uslovima, pa su i promene u aromatičnosti od berbe do ispitivanja svedene na približno istu meru.

- Dearomatizacija uzoraka pod različitim uslovima prodiskutovana je u radu i date su prednosti i mane oba načina dearomatizacije (dearomatizacija vodenom parom i pod vakuumom u struji azota). Za egzaktnije ispitivanje preporučuje se dearomatizacija pod vakuumom.

- Ekstrakcija tečno-tečno, kao i destilacija rastvarača, tj. koncentrisanje arome, izvedeni su uspešno, sa minimalnim gubicima (hromatogrami 2 i 3).

- Dearomatizacijom pod vakuumom izdvojeno je ukupno 32 komponente, sa površinom 12.866 mm^2 , dok je pomoću vodene pare izdvojeno znatno više komponenti 45, sa površinom od 19.675 mm^2 (hromatogram 6 i tabela 2). S obzirom da je izrečena pretpostavka da se drugim načinom dearomatizacije može izazvati pirolitičko raspadanje komponenti i stvaranje novih, dearomatizacija pod vakuumom je prihvaćena kao bolja.

- Ispitivanja dinamike oslobadjanja aromatskih materija iz kaše paprike, pa prema tome i većine proizvoda od paprike, pokazala su (hromatogram 7-9, tabela 3 i 4) da se kod različitog stepena uparenja kaše aromatske materije oslobadja-ju različitim intenzitetom. Tako se kod uparenja od 20% izdvoji najveći deo aromatskih materija, cca 46,64%, zatim se količina isparenih materija smanjuje. Od 20-40% uparenja oslobodi se samo 2,69%, a zatim ponovo raste za 15,40% (kod 60% uparenja) da bi na 80% postigla vrednost od 35,25%, računato na ukupnu količinu oslobodjenih isparljivih materija koje čine aromu paprike.

- Neke komponente se kod uparenja od 20% potpuno oslobode, što praktično znači da svi proizvodi, koji se uparavaju pod vakuumom neće imati ove aromatske komponente.

Shodno ovoj konstataciji i proizvodi koji se uparavaju na različitim stepenima uparenja, neće posedovati onaj

deo aromatskih materija koje se pri tom izdvoje, dok će učes-
će komponenti koje se postepeno izdvajaju biti smanjeno pro-
porcionalno stepenu uparenja finalnog proizvoda.

- Na osnovu dinamike isparavanja, sve isparljive materije arome paprike podeljene su na lako, teže i teško is-
parljive. Neisparljive su one koje u primenjenim uslovima ra-
da ne otparavaju, nego ostaju u proizvodu. Ove materije su
nazvane "atipične aromatske materije", jer ne daju karakte-
rističan miris ni vrste, ni sorte.

- Na osnovu dijagrama 1 za sada se ne može dati
nikakvo teoretsko obrazloženje ponašanja isparljivih materija
iz paprike, pošto je u pitanju polikomponentni sistem, koji se
tokom ispitivanja kvalitativno i kvantitativno menja, pa se
shodno tome menjaju i fizičko-hemijska svojstva sistema.

- Preliminarna ispitivanja i ispitivanja u ovom
radu (hromatogrami 11-15 i tabele 5 i 6) su pokazala da je
aromatičnost u direktnoj vezi sa sortom, pod uslovom da su
sorte gajene u istim klimatskim i zemljišnim uslovima. Odstu-
panja unutar sorte mogu biti zavisna od godine ili od genetske
čistoće sorte. One sorte koje su genetski čistije tj. imaju
ustaljena genetska svojstva (Rotunda zelena), manje su pod-
ložne promenama, dok su sorte stvorene selekcijom (Horgoška
slatka I) izložene većim promenama aromatičnosti.

- Ispitivanja raspodele aromatičnosti po delovima
ploda (hromatogrami 16-18, tabele 7 i 8) pokazala su da je
ukupna količina arome u pojedinim delovima ploda različita

po količini i broju komponenti. Najmanje aromatskih materija, cca 24,95% (računato na ukupnu količinu arome celog ploda) ima placenta - mesnati deo ploda. Senzornom ocenom konstatovano je da intenzitet arome nije zavistan od broja komponenti i ukupne količine isparljivih materija arome, nego od broja i količine "tipičnih" komponenti koje daju karakterističan miris na vrstu i sortu.

- Klimatski uslovi su se pokazali veoma značajnim (hromatogrami 19-20, tabele 9 i 10). Veću aromatičnost imale su sorte iz 1971. godine, kada su klimatski uslovi za formiranje arome bili povoljniji, tj. suma srednjih dnevnih temperatura iznosila je $675,5-698,8^{\circ}\text{C}$ i srednje dnevne temperature oko 22°C . Drugi faktor, koji je značajan za formiranje arome, broj sunčanih časova, iznosio je 3.252, sa sumom srednje relativne vlažnosti od 2.267%, tj. srednjom dnevnom vlažnošću od 73%. U isto vreme kada se formira aroma, tj. u avgustu 1972, bili su znatno nepovoljniji klimatski uslovi, sa sumom srednjih dnevnih temperatura od 612°C i srednjih mesečnih temperatura od 19°C . Broj sunčanih časova je bio takodje nepovoljniji i iznosio je cca 2.440 sati, uz povećanu relativnu vlažnost od 2.492 %, koju su uslovile visoke srednje relativne vlažnosti od 80%.

Uticao klimatskih uslova na formiranje arome, kako u kvalitativnom, tako i u kvantitativnom smislu, bio je manji kod sorte koja je genetski stabilnija (Rotunda zelena).

- Ukupna aroma odredjena je na sortama Horgoška slatka I i Rotunda zelena iz roda 1971, kada su bili povoljniji uslovi za formiranje arome (hromatogrami 19 i 21, tabele 11 i 12).

Ispitivanja su pokazala da je aromatičnost Horgoške slatke I veća jer je čini 87 komponenti, sa površinom od 182.920 mm^2 , dok ukupnu aromu Rotunde zelene čini manji broj komponenti, 78, i manja površina arome, 77.870 mm^2 . Ovaj odnos je i logičan, s obzirom da se Horgoška slatka I uzgaja isključivo za proizvodnju začina, dok se Rotunda zelena, koristi za potrošnju u svežem stanju i prerađuje u razne proizvode.

- Heterogeni sastav arome paprike, tj. veći broj hemijskih grupa, koje čine aromu paprike, izaziva kod snimanja teškoće koje su diskutovane u radu. Egzaktniji podaci i olakšano gasnohromatografsko ispitivanje arome dobijeno je razdvajanjem hemijskih grupa iz arome paprike i pojedinačnim snimanjem izdvojenih grupa.

Ovakav prilaz problemu određivanja aromatskih materija pomoću gasne hromatografije omogućio je da se primenom model supstanci, preko retencionih vremena, izvrše i identifikacije nekih komponenti iz arome paprike.

- Gasnohromatografskim određivanjem alkohola i estara, uz primenu model supstanci, omogućeno je razdvajanje na podesnoj koloni 49 komponenti, od kojih je identifikovano 27 (hromatogram 24 i tabela 14).

- Određivanjem kiselina i estara, izdvojeno je ukupno 24 komponente, dok je sa model supstancama kiselina identifikovana samo 7 organskih kiselina (hromatogram 25, tabela 16).

- Odredjivanjem fenola u aromi paprike (hromatogram 29, tabela 18), razdvojeno je ukupno 33 fenolne komponente, a identifikovana je, usled neadekvatne kompozicije model supstanci fenola, samo jedna komponenta, (2,5-ksilenol).

- Aldehidi i ketoni odredjeni su u obliku hidrazona (hromatogram 31 i 32, tabela 21). Razdvojeno je ukupno 11 komponenti a identifikovano je, preko retencionih vremena, 4 aldehida i 1 keton.

- Razdvajanje aldehida metodom gasne hromatografije, u obliku hidrazona, nije bilo potpuno, te su aldehydi odredjeni i metodom hromatografije na tankom sloju, u obliku hidrazona. Ova metoda se pokazala veoma dobrom, upotpunila je gasnohromatografska odredjivanja jer se na tankom sloju izdvojilo ukupno 13 komponenti (tankoslojni hromatogram, slika 7 i tabela 22). Preko Rf vrednosti model supstanci i ispitivanih aldehida, identifikovano je 11 aldehida u aromi paprike.

- Korišćenjem ove dve metode, uslovi identifikacije su poboljšani i izdvojeno je ukupno 14 aldehida iz arome paprike.

- Razdvajanje arome na frakcije (kiseline, fenoli, estri, aldehydi, ketoni i alkoholi), dalo je dobre rezultate, olakšani su uslovi snimanja i poboljšano razdvajanje na koloni, kao i identifikovanje pojedinih komponenti. Ovim načinom rada izdvojeno je ukupno 117 komponenti sa površinom od 313.446 mm^2 , što je za 39 komponenti više nego kod ukupne arome.

- Razdvajanjem aromatskih materija na frakcije (bazna, kisela i neutralna, hromatogrami 33-35 i tabele 23-25) dobijeno je ukupno 80 komponenti, od čega 26 čini baznu frakciju, 27 neutralnu i 27 kiselu frakciju.

- Ovim načinom identifikovano je samo 17 aromatskih komponenti u neutralnoj frakciji, s obzirom da smo raspolagali samo sa model supstancama aldehida, estara, ketona i alkohola, koji se nalaze u ovoj frakciji.

- Kiseline u kiselj frakciji nisu identifikovane jer su model supstance kiselina snimljene na drugoj koloni i uslovima rada.

- Ovakvim frakcionisanjem arome na kiselu, baznu i neutralnu frakciju, dobijeni su slabiji rezultati, te se zbog toga ovaj način rada ne može preporučiti.

- Senzorno ocenjivanje ukupne arome, pojedinih hemijskih grupa i frakcija, upotpunilo je gasnehromatografska i odredjivanja tankoslojnom hromatografijom dajući informaciju na šta pojedine frakcije ili grupe mirišu, što nije moguće nijednom instrumentalnom metodom utvrditi.

- Miris na papriku zadržao se u alkoholnoj grupi, ali on nije imao pun miris na papriku, nego je samo najviše podsećao na aromu paprike. Za sada nije moguće dati odgovor da li karakterističan miris paprike pripada samo alkoholima, ili ga nose sa sobom i neki estri koji su se izdvojili sa alkoholima. Postoji mogućnost da se u ovoj grupi nalaze i neka diazo-jedinjenja, kao i acetali, koji verovatno upotpunjuju miris na papriku.

- Senzornim ocenjivanjem ukupne arome dobijen je nedvosmislen utisak na papriku, te se može zaključiti da sve komponente, koje su identifikovane, ili ostale neidentifikovane, svojim zajedničkim delovanjem, daju tj. formiraju aromu paprike.

- Ovim radom je otvoren niz problema i ukazana mogućnost primene gasne hromatografije i tankoslojne hromatografije kod određivanja aromatskih materija u paprici, koje su predmet daljih ispitivanja.

V. S P I S A K L I T E R A T U R E

1. BENEDEK, L., "A magyar fűszerpaprika". Elemezési kiadó, Budapest, 1954.
2. HRISTOVA, S., "Piper", Zemizdat, Sofija, 1966.
3. ANGELI, L., "Paprika termesztés". Mezőgazdasági kiadó, Budapest, 1955.
4. PÉNZES, I., "A magyar fűszerpaprika". Akadémiai kiadó, Budapest, 1967.
5. BALINT, S., "A szegedi paprika". Akadémiai kiadó, Budapest, 1962.
6. ŠPALDO, E., "Koreniova paprika". Publikacie poluhospodazstvo, svezok 10 (1948), Bratislava.
7. SOO, R., "Fejlődéstörténeti növényrendszertak". Tankönyv kiadó, Budapest, 1963.
8. HISTOV, D., A. NAIČO, "Apresacija na zelenčukovite kulturi".
9. ĆIRIĆ, D., "Mogućnost iskorišćenja otpadaka kod prerade paprike". Referisano na Jugoslovenskom savetovanju industrije za preradu voća i povrća, Beograd, 1973.
10. SLEPIH, D.A., "Vitamin C v svežih ovoščah". Ovošćarstvo, Moskva, 1940.
11. MILOVANOVA, N.V., "Biohemija kulturnih rastenija". Tom 2, Selhaizdat, Moskva, 1961.
12. SKARBORO, G. i sar. "Biologija i fiziologija vitamina". Naučna knjiga, Beograd, 1950.

13. MURRI, K.I., "Biohemija kulturnih rastenija, Selihaizdat, Moskva 1958
14. CHOLNOKY, L., Kisérletügyi közlem, 40(1937) 173.
15. BAJMI, S.N. I. KRINOSKY, J. Biological chem. 240 (1965) 476.
16. CHMELAR, F., Sbornik česke akademie zemědělské. 84 (1941) 7.
17. BRACONOT N., Anal. Chem. 6 (1917) 122.
18. MICKO, N., Zeitschrift Nahr. Gennossenschaft, 1 (1968) 813.
19. NELSON, K.K., J. Am. Soc. 41 (1927) 419.
20. SPATH, K., F. Darling. Ber. 63 (1930) 737.
21. NEUKOM, H., Aroma u. Geschmacksstoffe in. Lebensmitteln. Veroster, Verlag, Zürich (1967) 103.
22. GIDELMEISTER, F., i sar., Die Aetherische Öle. Akademie Verlag, Berlin 1 (1956) 110.
23. GIERSCHER, K., G. BAUMAN, Reichstoffe-Aromen-Körperfleagemittel. 18 (1968) 3.
24. GIERSCHNER, K., G. BAUMAN, Reichstoffe-Aromen-Körperfleagemittel. 18 (1968) 1.
25. Ćirić, D.V., "Razrada Tehnoloških postupaka za nove proizvode od paprika" Magistarski rad. Tehnološki fakultet, Novi Sad, 1969.
26. BÜCHI, W., "Jahresbericht der Schweiz Obst." Weinschule. Wäneswill, 16 (1967) 25.

27. WEURRMAN, C., Food Techn. 15 (1961) 531.
28. ATAWAY, A.J., METCALF, J.F., Citrus Industrija, 48 (1967) 21.
29. SOLMS, J., H. NEUKOM, Aroma u. Geschmæcktstoffe in. Lebensmittel. Vorster, Verlag, Zûrick, (1967) 103.
30. NEUKOM, H., Aroma u. Geschmæcktstoffe in. Lebensmittel. Vorster, Verlag, Zûrick (1967) 107.
31. DRAWERT, F., i sar. Lebens. Anal. Chem. 694 (1966) 200.
32. OSMAN, A.E., W. HÖfner, Zeitschrift Lebensmittel-untersuhung u. Forschungs, 129 (1065-66) 139.
33. ROTHE, M., Ernährungsforschung, 5 (1960) 131.
34. NEUKOM, M., Aroma u. Geschmæcktstoffe in Lebensmittel, Vorster, Verlag, Zûrick (1967) 105.
35. FEISER, F.L., M. FEIZER, "Organische Chemie". Verlag Chem. Weinhem, 1965.
36. DAVIES, T.J., i sar. J. Agr. Food Chem. 15 (1967) 7.
37. MORE, E.J., Die Sterechemische Theorie Des Gerchus. umschau, 64. (1964) 600.
38. GIERSCHNER, K., Disertacija Tehn. Univerzitet, Berlin, D83 (1964).
39. ROGER, F.N., Food Techn. 15 (1961) 309.
40. HAGEN-SMITH, J.A., Food Res. 14 (1949) 472.
41. KAZENIOC, J., R.M.HALL, Food Science 35 (1970) 519.
42. FLAT, A.R. i sar. J.Agr. Food. Chem. 15 (1967) 29.

43. JENNINGS, W.G. i sar. J. Food Sci. 29 (1964) 730.
44. HAAGEN-SMITH, A.J., i sar. J. Am. Chem. Soc. 67 (1945) 1945.
45. RODIN, J.O., i sar. J. Food Sci. 31 (1966) 723.
46. WENDELL, L. i sar. J. Agr. Food 6 (1971) 1131.
47. SOLMS, J., Aroma u. Geschmecktstoffe in Lebensmittel,
Vorster, Verlag, Zürich, 1967.
48. SYDOW, E., A. KLAS, Lebensm. Wiss. Technolog. 2 (1969) 78.
49. BUTTERY, G.R. i sar. J. Agr. Food. Chem. 17 (1969) 1322.
50. MANDY, A., i sar. J. Agr. Food Chem. 7 (1959) 721.
51. MANDY, A. i sar. J. Agr. Food Chem. 9 (1959) 143.
52. HEISS, R., Chemie u. Technolog. 25 (1953) 711.
53. NIKKILA, O.E. i sar. Acta Chem. Scand. 20 (1966) 197.
54. NAWAR, W.W., Food Technolog. 21 (1966) 213
55. WEINTTES, A.G., J. Food Sci 33 (1968) 12.
56. PILNIK, W., Flüssiges Obst, 11 (1965) 582.
57. ŠULC, D., IFU. Bd. 1. Symposium Fruchtsaftconcentrate 57
(1962) Jutis, Verlag, Zürich.
58. ŠULC, D., Fette-Seifen, Ernährungsindustrie, 8 (1963) 650.
59. ŠULC, D. i sar. Flüssiges Obst, 4 (1970) 135.
60. ŠULC, D., i sar. Ispitivanja dinamike separiranja voćnih
aroma. Tema za naučni rad fonda SAP Vojvodine
(1970)

61. TANG, C.S., G.W. JENNINGS, *Agricultural and Food Chem.* 16 (1968) 252.
62. ĆIRIĆ, D.V., *Hem. ind.* 8 (1970) 387.
63. VOJINOVIĆ M., "Odredjivanje aldehida u vinu" Magistarski rad, Tehnološki fakultet, Novi Sad, 1971.
64. PETROVIĆ, S., "Skrob kao nosač u hromatografiji na tankom sloju". Doktorska disertacija. Tehnološki fakultet, Novi Sad, 1971.
65. JOSLYN, M.A., i sar. *Methods in Food analysis.* Academic Pres, New York 1970.
66. STRAIN, H.H., *J.Am.Soc.* 57 (1935) 758.
67. METCALF, L.D., *J. Gas. Chrom.* 1 (1963) 7.
68. WALSH, T.J., *Anal. Chem.* 32 (1960) 1378.
69. FRANC, F., S. Miheilova, *J. Chrom.* 12. (1963) 22.
70. JANAK, J., *J. of Gas. Chrom.* 10 (1963) 20.
71. KAISER, R., *Chromatographie in der Gasphase*, Bd. 1, 2 and 3, 1965.
72. WALS, D.H. i sar. *J. of Gas. Chrom.* 3 (1969) 125.
73. DRAWERT, F., G. KUPFER, *Angew. Chem.* 72 (1963) 33.
74. ĆIRIĆ, D. i sar. *Zbornik radova tehnološkog fakulteta* 3 (1972) 123.
75. KARL, O., S. STEPHEN *Journal of Food Sci.* 31 (1966) 937.
76. JOSLYN, M.A., *Methods in Food Analysis.* Academic Pres, New-Jorck 1970.

77. BURCHFIELD, P.H. i sar. Biochemical Application of Gas.
Chrom. Academic Press, New York, 1962.
78. NAVES, Y.R., France et ses parfums, Februari istne-p.p.
23 (1959) 27.
79. STERETT, F.S., The preparation of derivatives of essential
Oil, val. 1 (1969) 771.
80. VOGEL, A., Practical Organic Chem. Lonmaus-London, 1959.
81. PRAAG, M., J. Agr. Food Chem. 16 (1968) 1005.
82. DJUKOVIĆ, J., Prilog ispitivanju prirodne šljivovice pomoću
gasne hromatografije. Doktorska teza, Biotehno-
loški fakultet, Zagreb, 1971.
83. URBACH, G.J., Chrom. 12 (1963) 196.

1943

1943

1943

1943

1943

1943

1943

1943

1943

1943

1943

1943

1943

1943

1943

1943

1943

1943

1943

1943