

# Validacija metode za određivanje šećera po Luff Schoorlu promjenom parametara

---

**Jakupić, Mateja**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2017**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Karlovac University of Applied Sciences / Veleučilište u Karlovcu**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:128:839476>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-08**



**VELEUČILIŠTE U KARLOVCU**  
Karlovac University of Applied Sciences

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Karlovac University of Applied Sciences - Institutional Repository](#)



zir.nsk.hr



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

**VELEUČILIŠTE U KARLOVCU**  
**ODJEL PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE**  
**PIVARSTVO**

**JAKUPIĆ MATEJA**

**VALIDACIJA METODE ZA ODREĐIVANJE**  
**ŠEĆERA PO LUFF SCHOORLU PROMJENOM**  
**PARAMETARA**

**ZAVRŠNI RAD**

**Karlovac, rujan, 2017.**



**VELEUČILIŠTE U KARLOVCU  
ODJEL PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE  
PIVARSTVO**

**JAKUPIĆ MATEJA**

**VALIDACIJA METODE ZA ODREĐIVANJE  
ŠEĆERA PO LUFF SCHOORLU PROMJENOM  
PARAMETARA**

**ZAVRŠNI RAD**

Mentor: Sandra Zavadlav, dipl. ing.

Broj indeksa autora: 0314614006

Karlovac, rujan, 2017.



## ***Predgovor***

*Zahvaljujem mentorici Sandri Zavadlav, dip. ing. na pomoći koju mi je pružila tijekom izrade završnog rada, kao i pomoći i prenesenom znanju tijekom studija.*

*Također, ovim putem zahvaljujem mr. Zdenki Podhraški-Relja, dip. ing. koja mi je pružila pomoć i podršku tijekom obavljanja stručne prakse u Koprivnici u Centralno fizikalno-kemijskom laboratoriju u Podravki d.d.*

*Zahvaljujem se svim profesorima Veleučilišta u Karlovcu koji su nesebično prenijeli svoje znanje i pomogli mi uspješno završiti školovanje.*

*Neizmjerno hvala mojim roditeljima i prijateljima na podršci, povjerenju i motivaciji tijekom školovanja i izrade završnog rada.*

# **Validacija metode za određivanje šećera po Luff Schoorlu promjenom parametara**

## **Sažetak**

Za potrebe istraživanja odredivan je sadržaj šećera u industrijskim mješavinama začina univerzalnom metodom po Luff-Schoorlu te istom metodom uz promjene parametara. Napravljeni su protokoli sa promjenama u pripremi uzoraka za analizu. Promjene parametara odnose se na pripremu uzoraka, a ta promjena je odležavanje uzorka na 60°C/2h u vodenoj kupelji ili odležavanje uzorka kroz 24h nakon dodavanja otopine Carrez 1 i Carrez 2. U predmetnom istraživanju korištena su dvije mješavine začina kao dodatak jelima.

Rezultati analize pokazuju najveći udio šećera korištenjem univerzalne metode određivanja šećera, dok rezultati dobiveni metodom kod koje je došlo do promjene parametra tako što su uzorci stavljeni u vodenu kupelj na 60°C/2h pokazuju najmanji vrijednost ukupnog i prirodnog inverta.

Rezultati dobiveni prema trećem protokolu u kome se navodi da se nakon dodavanja otopine Carrez 1 i Carrez 2 uzorci ostavljaju da odstoje 24h ukazuju na prosječan udio šećera (ukupnog i prirodnog inverta).

**Ključne riječi:** metoda po Luff-Schoorlu, prirodni invert, šećeri, ukupni invert, začini

## **Validation of method for determining sugar by Luff Schoorl by change of parameters**

### **Abstract**

The purpose of the research is the determination of sugar content in industrial spice blends according to the universal Luff-Schoorl method, but also using the same method and changing the parameters. Protocols with changes in sample preparation were made for the analysis. The change of parameters refers to sample preparation, and this change means keeping the sample on water bath at 60°C for 2 hours or keeping the sample for 24 hours after adding Carrez I and II solutions. Two spice blends as food supplements were used for the research.

The results of the analysis show the highest sugar content using the universal method of determining sugar content, while the results obtained by the method in which parameters were changed by putting the samples on water bath at 60°C for 2h show the lowest value of total and natural invert.

The results obtained according to the third protocol (in which the samples are kept for 24 h in Carrez I and II solutions) show the average sugar content (total and natural invert).

**Key words:** Luff-Schoorl method, natural invert, sugars, total invert, spices



# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	3
2.1. Začini.....	3
2.2. Prehrambeni aditivi .....	4
2.3. Šećeri.....	5
2.4. Monosaharidi.....	5
2.4.1. Glukoza.....	5
2.4.2. Fruktosa.....	6
2.4.3. Galaktoza.....	6
2.5. Disaharidi .....	7
2.5.1. Saharoza.....	7
2.5.2. Laktoza .....	7
2.5.3. Maltoza .....	8
2.5.4. Celobioza.....	8
2.6. Polisaharidi.....	9
2.6.1. Škrob.....	9
2.6.2. Glikogen .....	10
2.6.3. Celuloza.....	10
2.7. Određivanje šećera u hrani .....	11
2.7.1. Fizikalne metode određivanja šećera u hrani .....	12
2.7.2. Kemijske metode određivanja šećera u hrani .....	13
2.7.3. Kromatografske tehnike određivanja šećera u hrani .....	14
2.8. Izvori ugljikohidrata.....	15
2.8.1. Šećer kao konzervans .....	15
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	16
3.1. MATERIJALI .....	16
3.2. METODE RADA .....	17
3.2.1. Priprema uzorka.....	17
3.2.2. Priprema uzorka sa promjenom parametra .....	17
3.2.3. Određivanje direktno reducirajućih i ukupnih šećera – Luff – Schoorl .....	17
3.2.4. Određivanje direktno reducirajućih i ukupnih šećera – Luff – Schoorl sa promjenom parametra .....	17
3.2.5. Određivanje prirodnog inverta.....	17

3.2.6. Određivanje ukupnog inverta .....	17
<b>4. REZULTATI .....</b>	<b>19</b>
<b>5. RASPRAVA .....</b>	<b>26</b>
<b>6. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>28</b>
<b>7. LITERATURA .....</b>	<b>29</b>



## 1. UVOD

Začini se stoljećima dodaju hrani kako bi pojačali i sakrili njen okus i miris, olakšali probavu i potaknuli apetit; u hladnim krajevima dodaju se začini koji griju, u vrućim oni koji potiču znojenje i hlade.

Gotovo svi začini su i ljekovite biljke, imaju utjecaj na okus i miris hrane, načinom kako obogaćuju doživljaj hrane i užitak za stolom. Idealna mješavina za sve vrste mesa i povrća, dat će prepoznatljiv okus pečenjima i jelima s roštilja, a možete je koristiti i kao začina za gulaše, paprikaše ili povrtna variva.

Takva jedinstvena mješavina začina osim aromatičnog ujedno i ljekovitog bilja sadrži naravno i udio konzervansa kako bi se produljio rok trajanja mješavini tako i tretiranom mesu. Jedan od nezaobilaznih konzervansa koji se dodaje gotovo svakoj mješavini začina je opće poznat šećer. Svrha dodavanja konzervansa je produženje održivosti hrane i prevencija kvarenja odnosno mikrobiološke kontaminacije.

Konzervansima se mogu smatrati sve tvari dodane u hranu koje sprečavaju rast mikroorganizama te inhibiraju enzimske i oksidacijske procese u hrani.

Konzervansi mogu biti i tvari koje djeluju na smanjenje aktivnosti vode. Najpoznatiji tradicionalno korišten konzervans, koji je ujedno i najmanje opasan je kuhinjska sol, ali se ona ne smatra aditivom.

Šećer i druga prirodna sladila dugo su tradicionalno kroz povijest korišteni kao konzervansi. Među prirodne konzervanse ubrajamo kuhinjsku sol, etilni alkohol, octenu kiselinu, šećer i druga prirodna sladila koja su korištena tradicionalno kroz povijest.

Sintetski konzervansi danas su u populaciji često percipirani kao 'opasni' te se provode brojna istraživanja o njihovoj sigurnosti, odnosno mogućim štetnim učincima po zdravlje.

Danas konzervans podsjeća na opasnost u hrani. Za konzerviranje koriste se kemijske tvari prirodni i sintetski konzervansi, a također i određeni postupci kao što su sušenje, dimljenje, zamrzavanje, pakiranje hrane, pasterizacija i sterilizacija.

Obzirom na obavezu deklariranja šećera, udio šećera se prije plasmana proizvoda, laboratorijskim metodama određuje te se navodi na deklaraciji.

Industrijski laboratoriji istražuju i uspoređuju rezultate dobivene raznim metodama te razvijaju metode kojima bi najtočnije odredili udio šećera u proizvodu.

Cilj ovoga rad bio je odrediti udio šećera u mješavinama začina metodom po Luff Schoorlu, te usporediti dobivene rezultate mjerenje kada se koristila ista metoda u čijem su protokoli promijenjeni pojedini parametri.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Začini

Upotreba začina i začinskog bilja u kuhanju i pripremanju hrane ima vrlo dugu povijest.

Začini su se nekad upotrebljavali kako bi se uklonio miris ne baš tako svježe hrane ili za poboljšanje okusa hrane. No, danas kada začini i začinsko bilje nisu skupi kao nekad i kad ih si može priuštiti svako domaćinstvo, teško je uopće zamisliti kuhanje bez njih. Danas se začini ne koriste za prikrivanje loše hrane nego za pojačanje njenog okusa i gastronomskog doživljaja i uživanja u hrani.

Začini su aromatične ili bojane materije biljnog podrijetla koji se dodaju jelima u cilju poboljšanja organoleptičkih svojstava. One ih obogaćuju, poboljšavaju aromu, daju pikantniji okus i boju, uljepšavaju izgled i doprinose utisku lijepo posluženog jela. Začini biljnog podrijetla pripadaju grupi začinskih dodataka jelima (a ne grupi namirnica jer nemaju energetske hranjive vrijednosti). Začini se dodaju pojedinačno ili kao mješavine u procesu pripreme hrane. Kombinacija pojedinačnih ili mješavina začina i dodatka ima svojstvo da naglasi karakterističan okus jela ili da ga dopuni. Imaju široku primjenu u prehrambenoj industriji, proizvodnji pića, svugdje gdje je važan miris, a njihova primjena čini specifičnim nacionalne i regionalne kuhinje. Neki začini u velikim količinama postaju štetni jer nadražuju osjetljive sluznice organa. Kao začini se koriste aromatični dijelovi začinskih biljaka i to: korijen, kora, cvijet, tučak, plod, sjeme. Neki začini se koriste u prirodnom obliku, dok se drugi pripremaju sušenjem, usitnjavanjem, pretvaranjem u prah i ekstrahiranjem aromatičnih sastojaka. U potrošnji značajno mjesto zauzimaju mljeveni začini.

Začini se prema sirovinskoj osnovi mogu biti:

- Mineralnog podrijetla (kuhinjska sol, nitritna sol)
- Biljnog podrijetla

Prema geografskom položaju začini se dijele na:

- Domaće začine
- Uvozne začine
- Mješavine

Začini prema vrsti okusa se dijele na:

- Slane
- Kisele

- Ljute i aromatične
- Slatke
- Masne
- Sastavljene

## **2.2. Prehrambeni aditivi**

Prehrambeni aditiv je svaka tvar koja se sama po sebi ne konzumira kao hrana, niti je prepoznatljiv sastojak određene hrane bez obzira na hranjivu vrijednost, a čije je dodavanje hrani namjerno zbog tehnoloških razloga u proizvodnji, preradi, pripremi, obradi, pakiranju, prijevozu ili skladištenju i ima za posljedicu, ili se može očekivati da će imati za posljedicu, da će aditiv ili njegov derivat postati izravno ili neizravno sastojak hrane. Prvi pisani tragovi o tvarima koje danas nazivamo prehrambenim aditivima potječu iz Egipta otprije 3500 godina. Tada su se za bojenje slatkog bombona u obliku štapića naziva “khad” rabila bojila prirodnog podrijetla. Moderna proizvodnja hrane ne može se zamisliti bez dodavanja aditiva pod točno utvrđenim uvjetima s točno utvrđenim razlogom. Prve zapise o prehrambenim aditivima u današnjem smislu poimanja i njihovo zakonsko uređivanje spominje se početkom 20. stoljeća u SAD-u, ali načela uređivanja uključujući i toksikološka ispitivanja postavlja šezdesetih godina prošlog stoljeća Svjetska zdravstvena organizacija.

Tanka crvena linija između nužnosti, opravdanosti uporabe aditiva nije uvijek jasno iscrtana, jer kada zdravlje nije ugroženo tada je tehnološka nužnost u najvećem broju slučajeva stvar proizvođača hrane i nije razlog za zabranu uporabe aditiva u nekoj hrani. Sve većim brojem novih proizvoda, natjecanjem na tržištu, proizvođači hrane ponekad koriste aditive ne samo radi tehnoloških potreba nego i radi razlikovanja, nuđenja ili zarade. Količine koje se rabe za postizanje tehnološkog učinka mjere se u miligramima, a samo nekoliko aditiva dodaje se u hranu u gramskim količinama. Danas su aditivi podijeljeni u 22 kategorije: bojila, konzervansi, antioksidansi, emulgatori, stabilizatori, zgušnjivači, tvari za želiranje, regulatori kiselosti, kiseline, tvari za sprječavanje zgrudnjavanja, pojačivači okusa, tvari za zaslađivanje ili sladila, modificirani škrobovi, tvari za poliranje, tvari za zadržavanje vlage, tvari za tretiranje brašna, učvršćivači, povećivači volumena, potisni plinovi, emulgatorske soli, tvari protiv pjenjenja i tvari za rahljenje (Katalenić, 2008).

## 2.3. Šećeri

Ugljikohidrati aldehidi ili ketoni koji posjeduju više –OH skupina ili tvari koje hidrolizom daju takve polihidroksilne aldehide ili polihidroksilne ketone.

Ugljikohidrati ili šećeri su organski molekule građene od ugljika, vodika i kisika, a služe kao osnovni izvor energije u našem organizmu. Dije se u dvije velike skupine: jednostavni i složeni ugljikohidrati.

Jednostavni ugljikohidrati uključuju monosaharide i disaharide, kao što su glukoza, fruktoza, saharoza i laktoza. Glukoza je glavni predstavnik jednostavnih ugljikohidrata i izvor je energije za sve organe i mišiće te je isključiv izvor energije za mozak.

Složeni ugljikohidrati ili polisaharidi su dugački lanci jednostavnih ugljikohidrata. Najpoznatiji polisaharidi su škrob i glikogen. Škrob služi biljkama kao skladište energije, a najčešći je ugljikohidrat u ljudskoj prehrani i u našem se organizmu razgrađuje se do monosaharida. Ljudski organizam skladišti ugljikohidrate u obliku glikogena, a najviše ga ima u jetri i mišićima. Također, navedene ugljikohidrate možemo skupno nazvati probavljivim ugljikohidratima. Neprobavljivi ugljikohidrati ili prehrambena vlakna se ne razgrađuju pod djelovanjem probavljivih enzima, ali su vrlo bitni jer poboljšavaju probavu.

## 2.4. Monosaharidi

Monosaharidi su jednostavni šećeri koji se sastoje od jedne molekule ili jedinice. Obično su bezbojne kristalizirane krutine topive u vodi. Monosaharidi su gradivni elementi disaharida i polisaharida, te su lako probavljivi.

Najpoznatiji monosaharidi su glukoza, fruktoza i galaktoza.

### 2.4.1. Glukoza

Glukoza je najrasprostranjeniji šećer u biljnom i životinjskom svijetu. Naziva se groždani šećer jer se nalazi u grožđu, krvni šećer jer se nalazi u krvi, a također i dekstroza zbog desne (pozitivne) optičke aktivnosti. Slatki plodovi voća, sjemenke, korijenje, lišće i cvijeće raznih biljaka sadržavaju glukozu. U biljkama se vrlo često nalazi u smjesi sa fruktozom, a rjeđe sa saharozom. Glukoza ulazi u sastav disaharida, npr: saharoze ili repina šećera te laktoze i mliječnog šećera. Najviše je rasprostranjenija kao osnovna strukturna jedinica polisaharida: škroba, celuloze i glikogena, a u golemim količinama nastaje i u procesu fotosinteze.



Glukoza je najvažniji šećer u ljudskom organizmu i glavni izvor energije u organizmu. Koncentraciju glukoze u krvi kontrolira hormon inzulin. Normalna koncentracija glukoze u krvi je 70-100 mg/100ml, ako se u krvi pojavi višak glukoze inzulin je prevodi u polisaharid glikogen. Šećerna bolest javlja se kada je količina inzulina u krvi nedovoljna, što rezultira povećanjem koncentracije glukoze u krvi.

#### **2.4.2. Fruktosa**

Fruktosa (lat. fructus- voće) je jedina prirodna ketoheksosa. Nalazi se u voću, a zajedno sa glukozom u medu. Lijevo je optički aktivna pa se naziva i levuloza. Zajedno s glukozom sastojak je mnogih slatkih plodova. Uz glukozu sastojak je disaharida saharoze; s glukozom i galaktozom čini trisaharid rafinozu.

Iako je fruktoz jedan od najsladših šećera, rabi se, za razliku od drugih šećera u dijetalnoj prehrani jer se u organizmu iskorištava brzo i brz djelovanja inzulina pa to omogućuje i dijabetičarima uzimanje slatke hrane. Zbog brze razgradnje i oslobađanja energije, fruktoza se također preporučuje sportašima, kao i ljudima izloženim velikim naporima.

Također se upotrebljava u infuzijama.

Fruktosa u bolesnoj jetri omogućuje stvaranje znatnih količina glikogena koji osigurava normalnu funkciju jetrenih stanica i stalnu koncentraciju šećera u krvi.

#### **2.4.3. Galaktoza**

Opća formula galaktoze je  $C_6H_{12}O_6$ , monosaharid je sličan glukozu od koje se razlikuje po konfiguraciji na četvrtom ugljikovom atomu. Galaktoza vezana na glukozu čini disaharid laktozu. Česta je komponenta biljnih disaharida, te životinjskih glikoproteina i glikolipida. Derivati galaktoze nazivaju se galaktozidi. Galaktoza se smatra nutritivnim zaslađivačem jer ima hranjivu energiju. Galaktoza je manje slatka od glukoze. U čovjekovom tijelu glukoza se pretvara u galaktozu kako bi mliječne žlijezde mogle da luče laktozu.

## 2.5. Disaharidi

Oligosaharidi, kristalične tvari topive u vodi, sastoje se od dva do deset monosaharida međusobno povezanih glikozidnom vezom. Među oligosaharidima najpoznatiji su disaharidi. Disaharide čine dvije molekule monosaharida, dok tri molekule monosaharida čine molekulu trisaharida itd. Među najpoznatije disaharide ubrajamo: saharozu, laktozu, maltozu i celobioza.

### 2.5.1. Saharoza

Saharoza (šećer šećerne repe ili šećerne trske) najvažniji je disaharid. Kada kažemo šećer obično mislimo na saharozu. To je bijela kristalična tvar, dobro topiva u vodi, koja se tali pri 160°C, a daljnjim zagrijavanjem razlaže (karamel, šećerna boja, ugljen). Saharoza je najrasprostranjeniji disaharid u biljnom svijetu, nalazi se općenito u svim biljkama i svim dijelovima biljaka, u malim količinama se nalazi u lišću i sjemenkama, a više u slatkim plodovima npr: u šljivi, marelici, kruški, breskvi i dr. Također ima je u znatnim količinama u medu, zajedno s glukozom i fruktozom. Zbog dobre topljivosti u vodi, saharoza se lako transportira staničnim sokovima biljke. Životinje ne mogu sintetizirati saharozu.

Saharoza je disaharid  $\alpha$ -D-glukoze i  $\beta$ -D-fruktoze. Glikozidna veza nastaje između poluacetalne skupine  $\alpha$ -D-glukoze i poluketalne skupine  $\beta$ -D-fruktoze. Naziva se glikozidna veza jer je skupina –OH C-1 atoma  $\alpha$ -D-glukoze povezana sa skupinom –OH C-2 atoma  $\beta$ -D-fruktoze.

Ljudski organizam ne može iskorištavati saharozu ili bilo koji drugi disaharid direktno, zato što su molekule prevelike da bi mogle proći kroz stanične membrane. Stoga treba prvo disaharid razložiti hidrolizom u monosaharide od kojih su izgrađeni.

### 2.5.2. Laktoza

Laktoza (mliječni šećer) javlja se u prirodi u slobodnom stanju. Nalazi se u mlijeku sisavaca: mlijeko čovjeka sadržava oko 5-8% laktoze, kravlje mlijeko oko 4-6% laktoze. Nastaje u mliječnim žlijezdama iz glukoze u krvi. To je tipičan životinjski šećer i ne javlja se u biljnom svijetu. Laktoza lako kristalizira, te je jedan od najmanje slatkih šećera. Komercijalno se proizvodi iz sirutke (nusprodukta pri proizvodnji sira).

Laktoza je izgrađena od jedne molekule  $\beta$ -D-galaktoze i jedne molekule bilo  $\alpha$  ili  $\beta$ -D-glukoze. Galaktoza se razlikuje od glukoze samo po položaju C-4 –OH skupine u piranoznom prstenu ta –OH skupina kod galaktoze je gore, a kod glukoze dolje.

Laktoza čini znatan dio hrane u prvoj godini djetetova života. Bebe obično imaju oblik laktoze koja efikasno hidrolizira laktozu. Međutim, neke odrasle osobe imaju manje aktivan oblik laktoze, te ne mogu probaviti laktozu (bolest netolerancije laktoze). Neprobavljena laktoza u crijevima uzrokuje grčeve, nadimanje i proljev, što rezultira dehidriranjem organizma. Te osobe trebaju izbjegavati mlijeko i mliječne proizvode.

### **2.5.3. Maltoza**

Maltoza ili sladni šećer rijetko se nalazi u prirodi u slobodnom stanju.

Njezin glavni izvor je škrob. Maltoza se dobiva nepotpunom hidrolizom škroba pomoću enzima amilaze ili diastaze. Ta hidroliza obavlja se npr pri klijanju žitarica. Maltozu čine dvije molekule D-glukoze koje su povezane  $\alpha(1\rightarrow4)$ -glikozidnom vezom.

Maltoza je komponenta slada, supstanca koja se dobije u procesu omogućava žitaricama da u vodi omekšaju i kliju. Nalazi se u raznim pićima, pivu, tjestenini, krumpiru i mnogim zaslađenim prerađenim proizvodima.

Kod ljudi, maltoza se razlaže enzimom maltaza, tako da nastaju dvije molekule glukoze iz kojih metabolizam glukoze dobiva energiju.

### **2.5.4. Celobioza**

Celobioza je disaharid, koji, kao i maltozu izgrađuju dvije molekule glukoze. Razlika je jedino u tome što je jedna molekula  $\beta$ -D-glukoze s drugom molekulom  $\beta$ -D-glukoze povezana  $\beta(1\rightarrow4)$ -glikozidnom vezom.

Enzim celobioza (čovjek nema taj enzim) hidrolizira celobiozu u dvije molekule glukoze.

Iz strukturne formule celobioze vidi se da je reducirajući šećer.

Celobioza se u prirodi ne nalazi u slobodnom stanju već se dobiva kao produkt nepotpune razgradnje celuloze.

## 2.6. Polisaharidi

Polisaharidi su polimeri monosaharida. Molekule polisaharida izgrađene su od vrlo velikog broja molekula monosaharida (monomeri) međusobno povezane glikozidnim vezama u jedan ili više lanaca kojima duljina nije strogo određena. Molekulska masa polisaharida je iznimno velika; kreće se i do 15 000 000. Potpuno hidrolizom polisaharida dobiju se monosaharidi.

Glikan je genetičko ime za polisaharid sastavljen od jedne vrste monosaharida. Zamjenom završetka –oza u imenu monosaharida nastavkom –an dobije se ime polisaharida. Tako su npr., škrob, celuloza i glikogen glukani jer su sastavljeni od glukoznih jedinica.

Svojstva polisaharida se razlikuju od disaharida i monosaharida. Na primjer, polisaharidi su nereducirajući šećeri, nisu slatkog okusa i ne pokazuju mutarotaciju. Bez okusa su, netopivi u vodi, ne mogu proći kroz staničnu membranu itd. Polisaharidi su daleko najzastupljeniji ugljikohidrati u prirodi. Oni služe kao rezervne hranjive tvari (škrob, glikogen) i kao strukturna komponenta stanice (celuloza).

### 2.6.1. Škrob

Škrob je smjesa dvaju polimera glukoze: amiloze i amilopektina. Amiloza ima molekulsku masu oko 150 000 do 600 000, slatkog je okusa i vrlo slabo topiv u vodi. Amilopektin ima molekulsku masu od 1 000 000 do 6 000 000, nije sladak i nešto bolje je topiv u vodi. Sadržaj amiloze i amilopektina u škrobu raznih biljaka je različit i obično iznosi: 20-25% amiloze i 75-80% amilopektina. Potpuno hidrolizom amiloze i amilopektina dobije se samo molekula  $\alpha$ -D-glukoze. Razlika je između amiloze i amilopektina u načinu povezivanja glukoznih jedinica u makromolekuli.

Škrob je glavni izvor energije u stanici biljke. Razgradnja škroba u glukozu pohranjuje biljka u vrijeme reducirane fotosintetičke aktivnosti. Škrob se nalazi u sjemenkama i gomoljima biljke, te je najvažniji izvor ugljikohidrata u hrani čovjeka (više od 50%).

Škrob je bijeli amorfni prah, higroskopan je pa uvijek sadrži malo vlage. U hladnoj vodi nije topiv, a u vrućoj vodi granule škroba se raskidaju te nastaje ljepljiva masa koja hlađenjem prelazi u gel (škrobno lijepilo).

Postojanje škroba u nekom uzorku dokazuje se vrlo osjetljivom reakcijom s otopinom joda u kalijevu jodidu, koja ga bolji intenzivno plavo.

### 2.6.2. Glikogen

Glikogen je polimer u kojem se glukoza skladišti u životinjama. Stoga se naziva i životinjski škrob. Struktura glikogena slična je strukturi amilopektina. Molekule glukoze u osnovnom lancu glikogena povezane su  $\alpha(1\rightarrow4)$ -glikozidnim vezama. Glikogen se razlikuje od amilopektina po tome što ima više lanaca, a koji su kraći nego lanci u amilopektinu te granaju se nakon svakih šest glukoznih jedinica.

Glikogen se praktički nalazi u svim stanicama sisavaca. U obliku granula najviše ga ima u jetri i mišićima, gdje služi kao rezervni izvor glukoze. Odrasla osoba ima oko 350g glikogena, podjednako raspodijeljenog između jetre i mišića. Glikogen stvara koloidnu disperziju u vodi, a daje crveno-smeđu boju s jodom. Ne reagira s blagim oksidansima, tj. nereducirajući je saharid.

### 2.6.3. Celuloza

Celuloza je najrasprostranjeniji polisaharid. To je organski spoj kojeg ima u najvećoj količini. Celuloza izgrađuje stjenke biljnih stanica. Drvo sadrži 40-50% masenog udjela celuloze. U suhom lišću ima oko 10%, a pamuk je gotovo čista celuloza jer sadrži do 98%. Makromolekula celuloze izgrađena je od  $\beta$ -D-glukoznih jedinica povezanih  $\beta(1\rightarrow4)$ -glikozidnom vezom. Celuloza se odlikuje velikom kemijskom postojanošću. Ona se ne otapa ni u hladnoj ni u toploj vodi, a ni u razrijeđenim kiselinama, lužinama ili ogranskim otapalima.

Celuloza je važan polazni materijal u mnogim industrijskim granama, naročito u proizvodnji papira i umjetne svile. Proizvodi se u velikim količinama od drva. Drvo valja usitniti tako da se drugi sastojci drva mogu ukloniti odgovarajućim postupcima kuhanja. Čista je celuloza vlaknaste mikrokristalne strukture.

U našem organizmu ne postoje enzimi koji bi razgradili celulozu pa je celuloza iz hrane za ljude, kao i za većinu sisavaca neprobavljiva i nije izvor energije. Međutim, celuloza potiče peristaltiku crijeva i zato ju je potrebno unositi u organizam.

## 2.7. Određivanje šećera u hrani

Maseni udio šećera u hrani u nekim je slučajevima propisan Pravilnicima, kao kod meda, likera i vina. U proizvodnji vina važno je poznavati koncentraciju šećera u moštu, jer na temelju toga moguće je predvidjeti volumni udio alkohola u vinu. Kod voćnih prerađevina nema graničnih vrijednosti za udio ukupnih šećera, ali je ograničen udio šećera u masti upotrijebljenog voća (npr. kod pekmeza najviše 25%) ili u masi gotovog proizvoda (npr. kod voćnog nektra najviše 20%). Udio šećera u prehrambenom proizvodu navodi se u okviru osnovne varijante nutritivne deklaracije, neposredno nakon podatka o udjelu ukupnih ugljikohidrata.

Pripremni koraci u određivanju šećera obuhvaćaju njihovu ekstrakciju iz hrane (ovisno o tipu hrane) te pročišćavanje ekstrakta (ovisi o tipu analize koja će se provesti). Ekstrakcija je nužna kod čvrstih, polučvrstih i kremastih proizvoda ili onih sastavljenih od više faza. Kod homogenih tekućina (npr. mlijeko, sok, vino) ekstrakcija nije potrebna.

Čvrstu hranu u pravilu treba osušiti pri niskim temperaturama (da se izbjegne karamelizacija), usitniti, ukloniti masti organskim otapalima i na kraju ukloniti otapalo. Iz tako pripremljenog uzoraka šećeri se mogu ekstrahirati polarnim otapalom. Jedan od najčešćih postupaka sastoji se u kuhanju u 80%-tnoj vodenoj otopini etanola.

Monosaharidi, disaharidi i oligosaharidi topivi su u etanolnoj otopini, dok su bjelančevine, polisaharidi i biljna vlakna netopivi. U etanolnu otopinu mogu prijeći i neki druge polarne tvari (npr. aminokiseline, organske kiseline, pigmenti, vitamini, minerali) koji mogu interferirati u određivanju šećera. Ove tvari mogu se ukloniti dodatkom tvari za taloženje ili propuštanjem otopine kroz kolone s ionskim izmjenjivačem (monosaharidi, disaharidi i oligosaharidi prolaze kroz takve kolone jer su nenabijene tvari).

Šećeri se u pročišćenom ekstraktu ili tekućem uzorku mogu određivati fizičkim, kemijskim, kromatografskim ili enzimskim i imunološkim metodama.

### 2.7.1. Fizikalne metode određivanja šećera u hrani

U fizičke metode ubrajaju se određivanja šećera u otopinama na temelju mjerenja indeksa refrakcije, gustoće, zaokretanja linije polariziranog svjetla ili spektra u bliskom infracrvenom području.

#### A. Mjerenje indeksa refrakcije:

Zrak svjetlosti pri prolazu iz zraka u bistru otopinu šećera lomi se pri određenim kutom. Kod konstantne standardne temperature i valne duljine kut loma ovisi o koncentraciji šećera u otopini. Omjer sinusa kuta upada i kuta loma zraka svjetlosti je indeks refrakcije, a mjeri se refraktometrom po Abbeu. Radi se o brzoj i jednostavnoj metodi kod koje je dovoljno na optički dio refraktometra staviti nekoliko kapi otopine šećera te u vidnom polju tražiti graničnu liniju između svijetlog i tamnog dijela. Metoda se često koristi kod određivanja šećera u moštu, sirupima, medu, marmeladi i sl. U tu svrhu koriste se ručni refraktomeri sa prilagođenom skalom na kojoj se umjesto indeksa refrakcije može očitati postotni udio šećera ili stupnjevi Brix.

#### B. Mjerenje gustoće otopine:

Jedan od najčešćih mjerenja gustoće otopine je primjenom aerometra (denzimetra ili gustomjera). Dubina uranjanja aerometra u otopinu ovisi o temperaturi otopine i koncentraciji šećera. Na skali aerometra očita se vrijednost do koje je aerometar uronio, a ono može biti iskazano u g/l ili drugim jedinicama. Najčešće služi za određivanje šećera u moštu, sokovima i drugim pićima.

#### C. Polarimetrijsko određivanje:

U molekuli šećera postoje asimetrični atomi ugljika zbog kojih su šećeri optički aktivni. Optička aktivnost je sposobnost zaokretanja ravnine polariziranog svjetla na desnu (+) ili lijevu (-) stranu, za točno poznati kut zaokretanja. Specifični kut zaokretanja predstavlja kut za koji neka otopina, koncentracije 1 g/ml otopljene tvari, mjereno u cijevi duljine 10 cm, kod 20°C, zaokreće D liniju natrijevog spektra (589,3 nm). Specifični kut zaokretanja karakterističan je za svaki pojedini šećer, po brojčanoj vrijednosti i po smjeru zaokretanja.

Specifični kut zaokretanja glukoze je  $+52,3^\circ$ , fruktoze  $-92,3^\circ$ , a saharoze  $+66,5^\circ$ . Hidrolizom saharoze nastaje tzv. invertni šećer (smjesa glukoze i fruktoze u podjednakom omjeru). U smjesi ove vrijednosti bivaju kompenzirane, pa otopina saharoze tijekom hidrolize postupno mijenja smjer zaokretanja iz desne u lijevu stranu.

U praktičnoj primjeni, koncentracija šećera izračunava se dijeljenjem očitane vrijednosti kuta zaokretanja na polarimetru sa specifični kutom zaokretanja šećera koji se određuje i duljinom puta zrake svjetlosti. Metodu je moguće primijeniti samo kada se radi o otopini jednog šećera poznatog identiteta, tj. metoda se ne može primijeniti na određivanje koncentracije smjese različitih šećera. U praksi se najčešće koriti za određivanje saharoze u pojedinim fazama proizvodnje šećera u šećeranaama ili za određivanje laktoze u serumu mlijeka.

### **2.7.2. Kemijske metode određivanja šećera u hrani**

Kemijske metode određivanja šećera prvenstveno se temelje na reducirajućim svojstvima šećer, tj. na sposobnosti redukcije iona metala iz vrućih alkalnih otopina soli metala. Ovo svojstvo imaju samo oni šećeri koji u molekuli imaju slobodnu poluacetalnu ili poluketalnu skupinu.

Tipični reagens za određivanje reducirajućih šećera je Fehlingov reagens: otopina Fehlinga A sadrži  $\text{Cu}^{2+}$  ione (iz  $\text{CuSO}_4$ ), otopina Fehling B sadrži  $\text{NaOH}$  (koji daje alkalnu sredinu), te natrijev kalijev tartarat (koji omogućuje održavanje  $\text{Cu}^{2+}$  iona u otopini u suprotnom bi zbog bazične sredine došlo do flokulacije u obliku  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ ).

Koncentracija šećera u otopini može se odrediti:

1. Gravimetrijski (npr. metoda po Munson-Walkeru)
  2. Titrimetrijski (npr. metoda po Lane-Eynonu ili jodometrijska metoda po Luff-Schoorlu)
  3. Kolorimetrijski (npr. metoda Anthronu)
- Metoda po Munson-Walkeru:

Temelji se na određivanju mase taloga  $\text{Cu}_2\text{O}$  koji nastaje u reakciji šećera s komponentama Fehlingovog reagensa. Talog se od otopine odvaja filtracijom kroz filtarski lončić propisane poroznosti te ispire i suši do konstantne mase.

- Metoda po Lane-Eynonu:

Može se primijeniti kod vina, seruma mlijeka i sličnih otopina reducirajućih šećera. Vinom ili serumom mlijeka titrira se točno određeni volumen Fehlingovih otopina A i B iz metilen plavo kao indikator, u stanju ključanja. Šećeri tijekom titracije postepeno reduciraju  $\text{Cu}^{2+}$  ione, a prva kap vina ili seruma mlijeka u suvišku dovodi do reakcije indikatora koji se obezboji.



- Metoda po Luff-Schoorlu:

Upotrebljava se Luffova otopina kao reagens. Luffov reagens više je specifičan za šećere nego Fehlingov reagens jer reagira samo s aldozama i ketozama, dok Fehlingov reagens može reagirati i s ostalim reducirajućim tvarima u otopini.

Udio saharoze koja nije reducirajući šećer može se odrediti metodama po Munson-Walkeru, Lane-Eynonu, Luff-Schoorlu tako da se izvrši kiselinska hidroliza, pri čemu nastaje invert. Razlika u rezultatu s kiselinskom hidrolizom i bez nje, pomnožena s faktorom 0,95, predstavlja udio saharoze u uzorku.

- Metoda po Anthronu:

Šećeri iz uzorka reagiraju s Anthronovim reagensom kuhanjem u kiseloj sredini (dodatak  $H_2SO_4$ ), uz nastajanje zeleno-plave boje čiji se intenzitet nakon hlađenja mjeri pri 620 nm. Zbog snižavanja oksidacijskog učinka  $H_2SO_4$ , na ovaj način bivaju obuhvaćeni reducirajući i nereducirajući šećeri. Općenito, redukcijske metode su vrlo nespecifične, budući da na rezultat može utjecati i niz dodatni čimbenika (koncentracija reagensa, pH otopine, koncentracija i vrsta šećera u uzorku i dr.), u provedbi analize potrebno je striktno se držati propisanog postupka.

### **2.7.3. Kromatografske tehnike određivanja šećera u hrani**

Više informacija o šećerima i njihovim međusobnim odnosima u hrani može se dobiti kromatografskim tehnikama – tankoslojnom, plinskom i tekućinskom kromatografijom. Razdvajanje pojedinih šećera iz smjese ostvaruje se zahvaljujući njihovim međusobnim razlikama u polarnosti, dimenzijama molekule ili koeficijentu raspodjele između stacionarne i pokretne tekuće faze. Kod plinske kromatografije, hidroksilne skupine šećera iz pročišćenog ekstrakta ili uzora potrebno je prethodno derivatizirati silirajućim reagensima. Detekcija pojedinih šećera pri izlasku iz kolone plinskog kromatografa provodi se u pravilu plameno-ionizacijskim detektorom, uz kvantifikaciju na temelju baždarenih krivulja pripremljenih s otopinama različitih koncentracija pojedinih šećera. Prednost tekućinske kromatografije u odnosu na plinsku je u tome što šećere prije razdvajanja nije potrebno derivatizirati. Detekcija pojedinih šećera na izlasku iz kolone tekućinskog kromatografa u pravilu se provodi mjerenjem indeksa refrakcije.

## **2.8. Izvori ugljikohidrata**

Izvori ugljikohidrata u svakodnevnoj prehrani su: kruh, tjestenina, riža, žitne pahuljice, voće, povrće, mlijeko, mliječni proizvodi, šećer i slastice, a najčešći su škrob i šećeri - saharoza i laktoza.

Škrob i šećeri razgrađuju se u organizmu do jednostavnih šećera uz pomoć enzima, resorbiraju se u tankom crijevu i prelaze u krvotok i jetru gdje se konvertiraju u glukozu. Razinu šećera (glukoze) u krvi regulira hormon inzulin, koji luči gušterača a koji snižava razinu šećera u krvi i glukagon koji djeluje na oslobodjenje šećera iz jetre, tj. iz glikogena kada koncentracija u krvi padne ispod dopuštene razine. U krvi treba biti konstantna razina šećera – glukoze, bez prevelikih oscilacija hormona inzulina. Ako je nivo glukoze niži od normalne, dolazi do hiperglikemije, koja se očituje umorom, glađu i drhtavicom, ako je nivo viši od normalne, dolazi do hiperglikemije, koja izaziva umor i pospanost. Oba su stanja opasna i ako potraju duže vrijeme, dovode do kome. Jedan dio glukoze opskrbljuje mozak, živčani sustav i mišiće, a drugi dio se pretvara u glikogen (rezerva energije) koji se nalazi u jetri i mišićima. Nakon što su rezerve popunjene, preostali se dio pretvara u mast i ako energetska rezerva pohranjuje u masno tkivo. Ugljikohidrati štede bjelančevine i masti, pa dokle god ih unosimo dovoljno (minimalno 50-100 g dnevno) bjelančevine i masti će biti pošteđene razgradnje i upotrebe u energetske svrhe.

### **2.8.1. Šećer kao konzervans**

Konzervirajuće djelovanje šećera bazira se na principu osmoanabioze potrebna je odgovarajuća koncentracija. Kod 65% šećera u kiseli medij potrebno je blago termičko tretiranje i zaštita od zraka (proizvodi na bazi pektinskog gela kao što su mermelada, džem, sirupi i slično).

Koncentracija viša od 70% šećera ne iziskuje kiseli medij i dodatno tretiranje primjerice kandirano voće i kondenzirano zaslađeno mlijeko.

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. MATERIJALI

##### Uzorci za analizu:

Mješavine začina za dodatak jelima

##### Pribor:

1. Analitička vaga, s točnošću  $\pm 0,1$  mg
2. Pipete, obujma 1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml, 25 ml
3. Erlenmeyer tikvice s brušenim grlom, obujma 300 ml
4. Odmjerne tikvice, obujma 1000 ml, 250 ml, 100 ml
5. Vodena kupelj

##### Kemikalije:

Svi reagensi moraju biti analitičke čistoće, a voda destilirana ili ekvivalentne čistoće.

1. Luffov reagens
2. Bakreni sulfat, otopina
3. Limunska kiselina, otopina
4. Natrijev karbonat, otopina
5. Natrijev tiosulfat,  $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,1$  mol/l
6. Škrob, otopina
7. Sumporna kiselina,  $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 3$  mol/l
8. Kalijev jodid, otopina 30% (m/v)
9. Izopentanol
10. Natrijev hidroksid,  $c(\text{NaOH}) = 0,1$  mol/l
11. Klorovodična kiselina,  $c(\text{HCl}) = 0,1$  mol/l
12. Fenolftalein

## **3.2. METODE RADA**

### **3.2.1. Priprema uzorka**

Odvagne se određena količina uzorka u čašu (5-10g) i doda oko 75 ml vode zagrijane na 60-70 °C. Sadržaj se nakon toga kvantitativno prenese u odmjerenu tikvicu od 250 ml te dalje dodaju otopine po propisanoj metodi.

### **3.2.2. Priprema uzorka sa promjenom parametra**

Odvagne se određena količina uzorka u čašu (5-10g), uzorak odleži na 60°C/2h u vodenoj kupelji te se doda oko 75ml vode zagrijane na 60-70 °C. Sadržaj se nakon toga kvantitativno prenese u odmjerenu tikvicu od 250 ml te dalje dodaju otopine po propisanoj metodi.

### **3.2.3. Određivanje direktno reducirajućih i ukupnih šećera – Luff – Schoorl**

Nakon pripreme uzorka tikvica se ohladi, doda se otopina **Carrez I** i otopina **Carrez II**. Nakon svakog dodavanja sadržaj se lagano pomiješa. Tikvica se dopuni vodom do oznake i njezin sadržaj promiješa i filtrira ako je potrebno. To je filtrat I.

### **3.2.4. Određivanje direktno reducirajućih i ukupnih šećera – Luff – Schoorl sa promjenom parametra**

Nakon pripreme uzorka tikvica se ohladi, doda se otopina **Carrez I** i otopina **Carrez II** te pripremljena otopina odleži 24 sata nakon dodavanja Carrez I i otopina Carrez . Nakon svakog dodavanja sadržaj se lagano pomiješa. Tikvica se dopuni vodom do oznake i njezin sadržaj promiješa i filtrira ako je potrebno. To je filtrat I.

### **3.2.5. Određivanje prirodnog inverta**

U Erlenmeyer tikvicu odpipetira se 25 ml Luffove otopine, 25 ml filtrata I, te se Elenmeyer tikvica zagrijava na azbestnoj mrežici sa povratnim hladilom. Od trenutka vrenja kuha se točno 10 minuta nakon čega se sadržaj tikvice hladi. Nakon što se ohladi doda se otopina kalij jodida i postepeno 25 ml otopine sumporne kiseline. Zatim se titrira otopinom natrij tiosulfata uz neprekidno miješanje sve dok boja ne postane žuta. Tome se doda nekoliko ml otopine škroba i nastavi titrirati natrijevim tiosulfatom, kap po kap do potpunog nestanka plave boje.

### **3.2.6. Određivanje ukupnog inverta**

U čašu otpipetirati odgovarajući volumen filtrata I i razrijedi sa 30 ml vode. Doda se 0,5 ml otopine klorovodične kiseline i invertira 30 minuta na vrućoj vodenoj kupelji.

Sadržaj se ohladi i neutralizira otopinom natrijeva hidroksida. Kvantitativno se prenese sadržaj u odmjernu tikvicu od 100 ml, dopuni do oznake vodom i filtrira (filtrat II).

U Erlenmeyer tikvicu odpipetira se 25 ml Luffove otopine, 25 ml filtrata II i doda do 50 ml vode. Erlenmeyer tikvica se zagrijava na azbestnoj mrežici sa povratnim hladilom. Od trenutka vrenja kuha se 10 minuta, nakon čega se sadržaj hladi, a zatim se doda otopina kalij jodida i postepeno 25 ml otopine sumporne kiseline. Nakon toga nastavlja se titrirati otopinom natrij tiosulfata uz neprekidno miješanje sve dok boja ne postane žuta. Tome se doda nekoliko ml otopine škroba i nastavi titrirati natrijevim tiosulfatom, kap po kap do potpunog nestanka plave boje.

#### **Izračunavanje prirodnog inverta :**

$$\text{Prirodni invert (\%)} = \frac{250 \cdot d \cdot 100}{c \cdot b \cdot 1000} \cdot F = 25 \cdot \frac{d}{c \cdot b} \cdot F$$

Gdje je:

b = volumen filtrata uzet za određivanje prirodnog inverta, u (ml)

c = masa uzorka, u (g)

d = masa invertnog šećera koji odgovara razlici ml natrijevog tiosulfata urošenih za slijepu probu i uzorak učitano iz tablice, u (mg)

F = faktor korekcije koncentracije

#### **Izračunavanje ukupnog inverta:**

$$\text{Ukupni invert (\%)} = \frac{250 \cdot 100 \cdot d \cdot 100}{c \cdot e \cdot f \cdot 1000} \cdot F = 2500 \cdot \frac{d}{c \cdot e \cdot f} \cdot F$$

Gdje je:

c = masa uzorka, u (g)

d = masa invertnog šećera koji odgovara razlici ml natrijevog tiosulfata urošenih za slijepu probu i uzorak učitano iz tablice, u (mg)

F = faktor korekcije koncentracije

f = volumen filtrata uzetog za određivanje ukupnog šećera, u ml

e = volumen filtrata uzetog za hidrolizu, u ml

## 4. REZULTATI

Tablica 1. Provedba metode bez promjene parametra

Bez promjene parametra u metodi / 11.4.2017.		
	<b>Rezultat ukupni invert (%)</b>	<b>Rezultat prirodni invert (%)</b>
Uzorak br.1.	21,89	9,81
Uzorak br.1.	22,18	9,76
<b>Srednja vrijednost</b>	<b>22,035</b>	<b>9,785</b>
Standardna devijacija	0,205	0,035
RSD	0,931	0,361

Tablica 2. Provedba metode bez promjene parametra

Bez promjene parametra u metodi / 11.4.2017.		
	<b>Rezultat ukupni invert (%)</b>	<b>Rezultat prirodni invert (%)</b>
Uzorak br.2.	32,68	8,62
Uzorak br.2.	32,13	8,04
<b>Srednja vrijednost</b>	<b>32,405</b>	<b>8,330</b>
Standardna devijacija	0,389	0,410
RSD	1,200	4,923

Tablica 3. Provedba metode bez promjene parametra

Bez promjene parametra u metodi / 18.4.2017.		
	<b>Rezultat ukupni invert (%)</b>	<b>Rezultat prirodni invert (%)</b>
Uzorak br.1.	19,89	8,20
Uzorak br.1.	19,33	7,98
<b>Srednja vrijednost</b>	<b>19,610</b>	<b>8,090</b>
Standardna devijacija	0,396	0,156
RSD	2.019	1,923

Tablica 4. Provedba metode bez promjene parametra

Bez promjene parametra u metodi / 18.4.2017.		
	<b>Rezultat ukupni invert (%)</b>	<b>Rezultat prirodni invert (%)</b>
Uzorak br. 2.	32,76	7,65
Uzorak br. 2	31,49	7,14
<b>Srednja vrijednost</b>	<b>32,125</b>	<b>7,395</b>
Standardna devijacija	0,898	0,361
RSD	2,795	4,877

Tablica 5. Promjene kod pripreme uzorka- uzorci stavljeni u vodenu kupelj na 60°C /2h

Promjena kod pripreme uzorka- uzorci stavljeni u vodenu kupelj (60°C)/2h 11. 4.2017.		
	<b>Rezultat ukupni invert (%)</b>	<b>Rezultat prirodni invert (%)</b>
Uzorak br. 1.	20,50	9,27
Uzorak br. 1.	21,40	9,38
<b>Srednja vrijednost</b>	<b>20,950</b>	<b>9,325</b>
Standardna devijacija	0,636	0,078
RSD	3,038	0,834

Tablica 6. Promjene kod pripreme uzorka- uzorci stavljeni u vodenu kupelj na 60°C /2h

Promjena kod pripreme uzorka- uzorci stavljeni u vodenu kupelj (60°C)/2h 11.4 2017.		
	<b>Rezultat ukupni invert (%)</b>	<b>Rezultat prirodni invert (%)</b>
Uzorak br.2.	33,12	7,89
Uzorak br 2.	33,95	8,07
<b>Srednja vrijednost</b>	<b>33,535</b>	<b>7,980</b>
Standardna devijacija	0,587	0,127
RSD	1,750	1,595



Tablica 7. Promjene kod pripreme uzorka- uzorci stavljeni u vodenu kupelj na 60°C /2h

Promjena kod pripreme uzorka- uzorci stavljeni u vodenu kupelj (60°C)/2h 18.4.2017.		
	<b>Rezultat ukupni invert (%)</b>	<b>Rezultat prirodni invert (%)</b>
Uzorak br .1.	20,62	8,90
Uzorak br. 1.	19,85	8,89
<b>Srednja vrijednost</b>	<b>20,235</b>	<b>8,895</b>
Standardna devijacija	0,544	0,007
RSD	2,691	0,079

Tablica 8. Promjene kod pripreme uzorka- uzorci stavljeni u vodenu kupelj na 60°C /2h

Promjena kod pripreme uzorka- uzorci stavljeni u vodenu kupelj (60°C)/2h 18.4.2017		
	<b>Rezultat ukuni invert (%)</b>	<b>Rezultat prirodni invert (%)</b>
Uzorak br.2.	32,82	7,65
Uzorak br.2.	32,58	7,56
<b>Srednja vrijednost</b>	<b>32,700</b>	<b>7,605</b>
Standardna devijacija	0,170	0,064
RSD	0,519	0,837

Tablica 9. Promjene kod pripreme uzorka- uzorci stavljeni u vodenu kupelj na 60°C /2h

Promjena kod pripreme uzorka- uzorci stavljeni u vodenu kupelj (60°C)/2h 19.4.2017.		
	<b>Rezultat ukupni invert (%)</b>	<b>Rezultat prirodni invert (%)</b>
Uzorak br. 1.	18,68	8,07
Uzorak br. 1.	20,30	8,29
<b>Srednja vrijednost</b>	<b>19,490</b>	<b>8,180</b>
Standardna devijacija	1,146	0,156
RSD	5,877	1,902

Tablica 10. Promjene kod pripreme uzorka- uzorci stavljeni u vodenu kupelj na 60°C /2h

Promjena kod pripreme uzorka- uzorci stavljeni u vodenu kupelj (60°C)/2h 19.4.2017.		
	<b>Rezultat ukupni invert (%)</b>	<b>Rezultat prirodni invert (%)</b>
Uzorak br 2.	32,48	7,24
Uzorak br 2.	33,24	7,74
<b>Srednja vrijednost</b>	<b>32,860</b>	<b>7,490</b>
Standardna devijacija	0,537	0,354
RSD	1,635	4,720

Tablica 11. Promjene kod pripreme uzorka- nakon dodavanja otopine Carrez I i Carrez II uzorci odstajali 24h

Promjene kod pripreme uzorka –nakon dodavanja otopine Carrez I i Carrez II uzorci ostavljeni stajati 24h , 11.4.2017.		
	<b>Rezultat ukupni invert (%)</b>	<b>Rezultat prirodni invert (%)</b>
Uzorak br 1.	22,32	9,41
Uzorak br 1.	19,94	9,40
<b>Srednja vrijednost</b>	<b>21,130</b>	<b>9,405</b>
Standardna devijacija	1,683	0,007
RSD	7,965	0,075

Tablica 12. Promjene kod pripreme uzorka- nakon dodavanja otopine Carrez I i Carrez II uzorci odstajali 24h

Promjene kod pripreme uzorka- nakon dodavanja otopine Carrez I i Carrez II uzorci ostavljeni stajati 24h, 11.4.2017.		
	Rezultati ukupni invert (%)	Rezultati prirodni invert (%)
Uzorak br.2.	33,27	9,61
Uzorak br 2.	33,02	9,73
<b>Srednja vrijednost</b>	<b>33,145</b>	<b>9,670</b>
Standardna devijacija	0,177	0,085
RSD	0,533	0,877

Tablica 13. Promjene kod pripreme uzorka- nakon dodavanja otopine Carrez I i Carrez II uzorci odstajali 24h

Promjene kod pripreme uzorka- nakon dodavanja otopine Carrez I i Carrez II uzorci ostavljeni stajati 24h, 18.4.2017.		
	Rezultati ukupni invert (%)	Rezultati prirodni invert (%)
Uzorak br.1.	21,32	9,03
Uzorak br .1.	20,98	9,34
<b>Srednja vrijednost</b>	<b>21,150</b>	<b>9,185</b>
Standardna devijacija	0,240	0,219
RSD	1,137	2,387

Tablica 14. Promjene kod pripreme uzorka- nakon dodavanja otopine Carrez I i Carrez II uzorci odstajali 24h

Promjene kod pripreme uzorka- nakon dodavanja otopine Carrez I i Carrez II uzorci ostavljeni stajati 24h, 18.4.2017.		
	Rezultati ukupni invert (%)	Rezultati prirodni invert (%)
Uzorak br.2.	33,38	9,25
Uzorak br.2.	33,64	9,09
<b>Srednja vrijednost</b>	<b>33,510</b>	<b>9,170</b>
Standardna devijacija	0,184	0,113
RSD	0,549	1,234

## 5. RASPRAVA

Tijekom proizvodnje, u određenim danima, nasumice su uzimana po dva uzorka te su određeni udjeli šećera metodom po Luff Schoorlu.

Kao što je opisano te vidljivo iz rezultata, oba uzorka analizirana su prema univerzalnoj metodi te nastavno prema modificiranim metodama (promjena parametara).

Korištene metode razlikovale su se u tome što je u drugom protokolu došlo do promjene kod pripreme uzorka- uzorci su stavljeni u vodenu kupelj na 60°C /2h te u trećem protokolu došlo je do promjene kod pripreme uzorka tako što su uzorci nakon dodavanja otopine Carrez I i Carrez II odstajali 24 sata.

Rezultati analiza pokazuju najveće udjele šećera korištenjem univerzalne metode određivanja šećera kod uzorka 1, prvi dan mjerenja ( Tablica 1) dok rezultati koji su dobiveni metodom kod koje je došlo do promjene parametara tako što su uzorci stavljeni u vodenu kupelj na 60°C /2h (Tablica 5) pokazuju najmanje udjele prirodnog i ukupnog inverta. Rezultati dobiveni prema trećem protokolu (Tablica 3), u kome se navodi da se nakon dodavanja otopine Carrez I i Carrez II uzorci ostave da odstoje 24h, ukazuju na prosječan udio šećera (ukupni i prirodni invert). Univerzalnom metodom udio ukupnog inverta kod uzorka 1 iznosio je 22,035% te prirodnog inverta 9,785%, a rezultati dobiveni prema drugom protokolu iznose 20,950% ukupnog i 9,325 prirodnog inverta dok analize rađene prema treće protokolu dale su rezultate 21,130% ukupnog i 9,405 prirodnog inverta.

Kod uzorka 2 koji je analiziran istoga dana (Talica 2), najveći udio ukupnog inverta dobiven je korištenjem drugog protokola ( 33,535%) dok prirodni invert pokazuje najmanju vrijednost (7,980%) Analiza vršena prema univerzalnom protokolu dala je rezultat ukupnog inverta 32,405%, a prema trećem protokolu 33,145%, što nije u skladu sa rezultatima dobivenim analizama uzorka broj 1. Rezultati udjela prirodnog inverta su najveći pri korištenju trećeg protokola 9,670%, dok su najmanji korištenjem drugog protokola 7,980%.

Rezultati analize rađeni 18.4.2017. bez promjene parametra dali su slijedeće rezultate ukupni invert 19,610, a prirodni invert 8,090 (tablica 3). Uzorak broj 2 koji je rađen isti dan ukupni invert iznosi 32,125, a prirodni invert 7,395 (Tablica 4).

Usporedbom rezultata uzorka broj 1 vidimo da su prirodni i ukupni invert smanjeni (Tablica 3). Usporedbom uzorka broj 2 može se zaključiti da su rezultati jednaki za prirodni i ukupni invert.

Rezultati rađeni sa promjenom u pripremi uzorka tj, uzorci su stavljeni u vodenu kupelj na 60°C/2h iz (Tablica 7) vidljivi su rezultati ukupnog inverta 20,235, a prirodnog inverta 8,895, dok rezultati govore da je ukupni invert 32,700, a prirodni invert 7,605 (Tablica 8).

Usporedbom rezultata uzorka 1 nema značajnih promjena samo se prirodni invert malo smanjio, a kod uzorka broj 2 nema promjena.

Rezultati kod pripreme uzorka nakon dodavanja otopine Carrez 1 i Carrez 2 vidi se da ukupni invert iznosi 21,150, a prirodni invert 9,185 (Tablica 13). Kod uzorka broj 2 rađenog isti dan rezultati su slijedeći ukupni invert 33,510, a prirodni invert 9,170.

Rezultati analize rađeni 19.4.2017. govore da je prirodni invert 8,180, a ukupni invert 19,490 (Tablica 9). Uzorak broj 2 ukupni invert iznosi 32,800, a prirodni invert 7,490.

Vidljivo je da je najmanja vrijednost ukupnog inverta uzorka broj 1 koja iznosi 19,490 (Tablica 9), dok su rezultati uzorka broj 2 ponovljivi.

## 6. ZAKLJUČCI

1. Najviši udio šećera kod analizirane mješavine začina dobiven je korištenjem univerzalne metode za određivanje šećera po LUFF SCHOORLU.
2. Rezultati dobiveni metodom kod koje je došlo do promjene parametra tako što su uzorci stavljeni u vodenu kupelj na 60°C/2h pokazuju najmanji udio ukupnog i prirodnog inverta kod analizirane mješavine začina.
3. Rezultati dobiveni prema trećem protokolu u kome se navodi da se nakon dodavanja otopine Carrez 1 i Carrez 2 uzorci ostave da odstoje 24h ukazuju na prosječan udio šećera (ukupnog i prirodnog inverta) kod analizirane mješavine začina.
4. Nije moguće uspoređivati rezultate dobivene prema navedena tri protokola te je ovakva validacija metode neostvariva.

## 7. LITERATURA

1. Amić, D. (2008) Organska kemija za studente agronomске struke, Školska knjiga, Zagreb
2. Anonymus 1. <http://definicijahrane.hr/definicija/hranjive-tvari/ugljikohidrati/> (pristupljeno 3.8. 2017.)
3. Anonymus 2. <http://www.sraspopovic.com/> (pristupljeno 3.8.2017.)
4. Anonymus 3. [https://bib.irb.hr/datoteka/746006.kvaliteta\\_sigurnost\\_i\\_konzerviranje\\_hrane.pdf](https://bib.irb.hr/datoteka/746006.kvaliteta_sigurnost_i_konzerviranje_hrane.pdf) (pristupljeno 4.8.2017.)
5. Anonymus 4. <http://studenti.rs/skripte/biologija-ekologija/zacini-i-zacinko-bilje/> (pristupljeno 4.8.2017.)
6. Anonymus 5. <https://www.scribd.com/document/120204444/Zacini>, (pristupljeno 4.8.2017.)
7. Anonymus 6., <http://www.zasladizivot.com/hr/posts/vrste-secera>, (pristupljeno 5.8.2017.)
8. Anonymus 7. <https://www.podravka.hr/clanak/134002/ugljikohidrati/>, (pristupljeno 5.8.2017.)
9. Hus, M., Hus, D. N. (2008) Kemija 2, udžbenik kemije za strukovne škole, Školska knjiga, Zagreb.
10. Matasović, D. (1995) Poznavanje prehrambene robe, Školska knjiga, Zagreb.
11. O'Brien, R. D., Farr, W., Wan, P.J. (2000) Introduction to Fats and Oils Technology, 2 izd., AOCS Press, Champaign, SAD.
12. Rade, D., Mokrovčak, Ž., Štruelj, D. (2001) Priručnik za vježbe iz kemije i tehnologije lipida, Durieux, Zagreb.
13. Stričević, D., Sever, B., Čičak, H (2007) Organska kemija, udžbenik za zdravstvene i strukovne škole, Tisak, Zagreb.
14. Šupe, A. (2012) Istine i laži o hrani, Dujmašić (ur), Tisak Denona d.o.o. Zagreb.