

Karakterizacija hlapljivih spojeva u ginu

Mijoč, Domagoj

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:167:543001>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-22**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

KARAKTERIZACIJA HLAPLJIVIH SPOJEVA U *GINU*

DIPLOMSKI RAD

DOMAGOJ MIJOČ

Matični broj:20

Split, listopad 2021.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
DIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

KARAKTERIZACIJA HLAPLJIVIH SPOJEVA U *GINU*

DIPLOMSKI RAD

DOMAGOJ MIJOČ

Matični broj: 20

Split, listopad 2021.

**UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
GRADUATE STUDY OF FOOD TECHNOLOGY**

**CHARACTERIZATION OF VOLATILE COMPOUNDS IN
GIN**

DIPLOMA THESIS

**DOMAGOJ MIJOČ
Parent number: 20**

Split, October 2021

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijско-tehnološki fakultet u Splitu
Preddiplomski studij prehrambene tehnologija

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Tema rada je prihvaćena na 6., elektroničkoj sjednici Fakultetskog vijeća Kemijско-tehnološkog fakulteta

Mentor: doc. dr. sc. Zvonimir Marijanović

KARAKTERIZACIJA HLAPLJIVIH SPOJEVA U *GINU*

Domagoj Mijoč, 20

Sažetak:

Gin je jako, u pravilu bezbojno alkoholno piće dobiveno aromatiziranjem etilnog alkohola poljoprivrednog podrijetla bobicama borovice i drugim biljkama. Minimalni udio alkohola u *ginu* je 37,5% vol. Cilj ovog rada bio je utvrditi i usporediti profil hlapljivih spojeva četiri različita uzorka *gina*. Hlapljivi spojevi izolirani su mikroekstrakcijom vršnih para na čvrstoj fazi (HS-SPME), koristeći dva vlakna različite polarnosti, a identificirani vezanom tehnikom plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS). Identificirano je ukupno 37 hlapljivih spojeva iz skupina terpena, terpenoida, estera i fenilpropana. 14 spojeva je pronađeno u svim uzorcima, od kojih je 13 već prije identificirano u eteričnom ulju borovice (*Juniperus communis*). Etil-acetat koji je identificiran u svim uzorcima predstavlja sastavni dio destiliranih pića koji nastaje za vrijeme alkoholne fermentacije esterifikacijom etanola i octene kiseline. Razlike u aromatskim profilima uzoraka posljedica su različite recepture i proizvodnih procesa

Ključne riječi: *gin*, hlapljivi spojevi, monoterpeni, seskviterpen, HS-SPME, GC-MS

Rad sadrži: 39 stranica, 17 slika, 8 tablica, 31 literarnu referencu

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

- | | |
|--------------------------------------|-------------|
| 1. izv. prof. dr. sc. Ivica Blažević | predsjednik |
| 2. doc. dr. sc. Danijela Skroza | član |
| 3. doc. dr. sc. Zvonimir Marijanović | član-mentor |

Datum obrane: 28. listopada 2021.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u knjižnici Kemijско-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35

BASIC DOCUMENTATION CARD

DIPLOMA THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Food Technology

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, electronic session No. 6.

Mentor: Zvonimir Marijanović, PhD, Assistant Professor.

CHARACTERIZATION OF VOLATILE COMPOUNDS IN GIN

Domagoj Mijoč, 20

Abstract:

Gin is a generally colourless spirit produced by flavouring ethyl alcohol of agricultural origin with juniper berries and other plant material. The minimum alcohol content in gin is 37.5% ABV (alcohol by volume). The aim of this study was to determine and compare the volatile compound profile of four different gin samples. The volatile compounds were isolated by headspace-solid phase microextraction (HS-SPME), using two fibers of different polarity, and identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) technique. A total of 37 volatile compounds from the group of terpenes, terpenoids, esters and phenylpropanes were identified. 14 compounds were found in all samples, of which 13 had previously been identified in the essential oil of juniper berries (*Juniperus communis*). Ethyl acetate identified in all samples is commonly found in distilled spirits as a product formed during alcoholic fermentation by esterification of ethanol and acetic acid. Differences in the aromatic profiles of the samples are due to different recipes and production processes.

Keywords: gin, volatile compounds, monoterpens, sesquiterpens, HS-SPME, GC-MS

Thesis contains: 39 pages, 17 figures, 8 tables, 31 references

Original in: Croatian

Defence committee:

- | | |
|---|-------------------|
| 1. Ivica Blažević, PhD, Associate Professor | chair person |
| 2. Danijela Skroza, PhD, Assistant Professor | member |
| 3. Zvonimir Marijanović, PhD, Assistant Professor | member-supervisor |

Defence date: October 28, 2021

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35

Završni rad je izrađen u Zavodu za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Zvonimira Marijanovića, u razdoblju od rujna do listopada 2021. godine.

ZADATAK DIPLOMSKOG RADA

- Odrediti profil hlapljivih tvari četiri uzorka *gina* metodom mikroekstrakcije vršnih para na čvrstoj fazi (HS-SPME)
- Izolirane hlapljive spojeve identificirati koristeći vezani sustav plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS)
- Analizirati i usporediti dobivene rezultate ispitivanih uzoraka

SAŽETAK

Gin je jako, u pravilu bezbojno alkoholno piće dobiveno aromatiziranjem etilnog alkohola poljoprivrednog podrijetla bobicama borovice i drugim biljkama. Minimalni udio alkohola u *ginu* je 37,5% vol. Cilj ovog rada bio je utvrditi i usporediti profil hlapljivih spojeva četiri različita uzorka *gina*. Hlapljivi spojevi izolirani su mikroekstrakcijom vršnih para na čvrstoj fazi (HS-SPME), koristeći dva vlakna različite polarnosti, a identificirani vezanom tehnikom plinska kromatografija-sektrometrija masa (GC-MS). Identificirano je ukupno 37 hlapljivih spojeva iz skupina terpena, terpenoida, estera i fenilpropana. 14 spojeva je pronađeno u svim uzorcima, od kojih je 13 već prije identificirano u eteričnom ulju borovice (*Juniperus communis*). Etil-acetat koji je identificiran u svim uzorcima predstavlja sastavni dio destiliranih pića koji nastaje za vrijeme alkoholne fermentacije esterifikacijom etanola i octene kiseline. Razlike u aromatskim profilima uzoraka posljedica su različite recepture i proizvodnih procesa.

Ključne riječi: *gin*, hlapljivi spojevi, monoterpeni, seskviterpen, i HS-SPME, GC-MS

ABSTRACT

Gin is a generally colourless spirit produced by flavouring ethyl alcohol of agricultural origin with juniper berries and other plant material. The minimum alcohol content in gin is 37.5% ABV (alcohol by volume). The aim of this study was to determine and compare the volatile compound profile of four different gin samples. The volatile compounds were isolated by headspace-solid phase microextraction (HS-SPME), using two fibers of different polarity, and identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) technique. A total of 37 volatile compounds from the group of terpenes, terpenoids, esters and phenylpropanes were identified. 14 compounds were found in all samples, of which 13 had previously been identified in the essential oil of juniper berries (*Juniperus communis*). Ethyl acetate identified in all samples is commonly found in distilled spirits as a product formed during alcoholic fermentation by esterification of ethanol and acetic acid. Differences in the aromatic profiles of the samples are due to different recipes and production processes.

Keywords: gin, volatile compounds, monoterpens, sesquiterpens, HS-SPME, GC-MS

SADRŽAJ

UVOD.....	1
1. OPĆI DIO.....	2
1.1. POVIJEST.....	2
1.2. PROIZVODNJA DESTILIRANIH GINOVA.....	2
1.2.1. SASTOJCI	2
1.2.2. DESTILACIJA	4
1.3. PROIZVODNJA GINA AROMATIZIRANJEM ALKOHOLA.....	5
1.4. KEMIJSKI SASTAV	6
1.5. PROIZVODNJA I POTROŠNJA GINA.....	7
1.6. NAPITCI NA BAZI GINA.....	8
1.7. MIKROEKSTRAKCIJA NA ČVRSTOJ FAZI	9
1.8. PLINSKA KROMATOGRAFIJA SA SPEKTROMETRIJOM MASA.....	11
2. EKSPERIMENTALNI DIO	13
2.1. ANALIZIRANI UZORCI	13
2.2. APARATURA I KEMIKALIJE	14
2.3. MIKROEKSTRAKCIJA VRŠNIH PARA NA ČVRSTOJ FAZI	15
2.4. GC-MS ANALIZA HLAPLJIVIH ORGANSKIH SPOJEVA	16
3. REZULTATI.....	18
4. RASPRAVA.....	31
5. ZAKLJUČAK.....	34
6. LITERATURA.....	35

UVOD

Gin je jako, u pravilu bezbojno alkoholno piće dobiveno aromatiziranjem etilnog alkohola poljoprivrednog podrijetla bobicama borovice i drugim biljkama. Naziv *gin* potječe od imena tradicionalnog nizozemskog pića od borovice *jenever* koji je ime dobio od latinskog naziva za borovicu *juniperus*. (1)

Prema EU regulativi postoje tri vrste *gina*:

- *Gin*-jako alkoholno piće dobiveno aromatiziranje etilnog alkohola bobicama borovice (*Juniperus communis L.*)
- Destilirani *gin*-jako alkoholno piće dobiveno isključivo redestilacijom etilnog alkohola odgovarajuće kvalitete, minimalne jačine 96%, uz dodatak bobica borovice i drugih biljaka, uz uvjet da prevladava okus borovica. Za aromatiziranje destiliranog *gina* mogu se koristiti i aromatični pripravci.
- London (*dry*) *gin*-vrsta destiliranog *gina* čija je aroma dobivena isključivo redestilacijom etanola s aromatičnim biljkama. Smije se koristiti samo alkohol najvećeg udjela metanola 5 grama po hektolitr čistog alkohola. Jakost dobivenog destilata mora iznositi minimalno 70% vol. alkohola.

Minimalna jakost *gina* u EU je 37,5% vol. alkohola. (2)



Slika 1. *Old Pilot's gin* (3)

1. OPĆI DIO

1.1. POVIJEST

Prvi zapisi o proizvodnji alkoholnih pića s aromom borovice datiraju iz 11. stoljeća. Benediktinski redovnici destilirali su tonike na bazi borovice koje su koristili kao univerzalni lijek za tegobe.

U 16. stoljeću u Nizozemskoj miješanjem borovice s jeftinim alkoholom od slada nastao je *jenever*, preteča današnjeg *gina*. Engleski vojnici koji su pomagali u nizozemskom ratu za neovisnost 1585. godine donose boce *jenevera* u Englesku gdje brzo dobiva na popularnosti. U 18. stoljeću popularnost *gina* bila je na vrhuncu zbog niske cijene uzrokovane nižim porezima nego na druga alkoholna pića. Do 1743. godine konzumacija *gina* u Engleskoj i Walesu bila je veća od 8 milijuna galona (1 galon=4,546L), a 90% destilerija nalazilo se u Londonu. (4,5)

Početakom 19. stoljeća dolazi do otvaranja *gin* palača (engl. *gin palace*), raskošnih lokala čija je popularnost brzo rasla. 1950-ih godina popularnost *gina* počinje padati, sve do pojave brenda *Bombay Sapphire* 1986. godine koji je ponovno probudio znatiželju miksologa. Posljednjih godina konzumacija *gina* je u uzletu, a otvaraju se i brojne *craft* destilerije. (4,5)

1.2. PROIZVODNJA DESTILIRANIH GINOVA

1.2.1. SASTOJCI

Biljni materijal

Svaki proizvođač *gina* koristi jedinstvenu mješavinu biljaka za svoj proizvod. S obzirom da je biljni materijal glavni izvor okusa pića, njegova kvaliteta mora biti vrhunska te se mora osigurati konzistentnost konačnog proizvoda.

Najzastupljenija biljka mora biti borovica (*Juniperus communis* L), vazdazeleni grm iz porodice Cupressaceae koji je rasprostranjen u Europi i Sjevernoj Americi. Bobice

borovice sadrže 0,2-3,42% esencijalnog ulja, primarno sastavljenog od monoterpena, seskviterpena, aldehida i alkohola. Borovica koja se koristi za destilaciju uglavnom je podrijetlom iz Italije ili s Balkana, unatoč širokoj rasprostranjenosti. (1, 6)

Poslije borovice, najzastupljenija biljka u proizvodnji *gina* je korijander (*Coriander sativum* L.), biljka iz porodice Apiaceae koja se može pronaći na Mediteranu. Sjemenke korijandera sadrže 0,3-1,2% esencijalnog ulja, od čega 60-70% čini monoterpen linaool. Korijander ginu daje citrusnu i cvjetnu aromu. (1)

Ostali često korišteni biljni materijal u proizvodnji *gina* je:

- kora naranče (*Citrus sinensis*),
- zlatni tuš (*Cassia fistula*),
- korijen irisa (*Iris florentina*),
- sjemenke kardamoma (*Elettaria cardamomum*),
- korijen anđelike (*Angelica archangelica*),
- kora cimeta (*Cinnamomum zeylandicum*),
- iđirot (*Acorus calamus*),
- komorač (*Foeniculum vulgare*),
- sjeme anisa (*Pimpinella anisum*),
- kora limuna (*Citrus limon*),
- kumin (*Cuminum cyminum*),
- badem (*Prunus amygdalus*),
- sladić (*Glycyrrhiza glaba*). (1)

Alkohol

U proizvodnji destiliranog *gina* koristi se neutralni alkohol poljoprivrednog podrijetla, najčešće od žitarica ili melase. Alkohol se dobiva kontinuiranom destilacijom i rektifikacijom do jakosti 96% vol., uglavnom u odvojenim pogonima. (6)

Voda

Voda se koristi u dvije faze proizvodnje *gina*, dodaje se neutralnom alkoholu prije destilacije te konačnom proizvodu kako bi se smanjila alkoholna jakost. Uzima se iz vodovoda ili vlastitih bunara te pročišćava i demineralizira. (6)

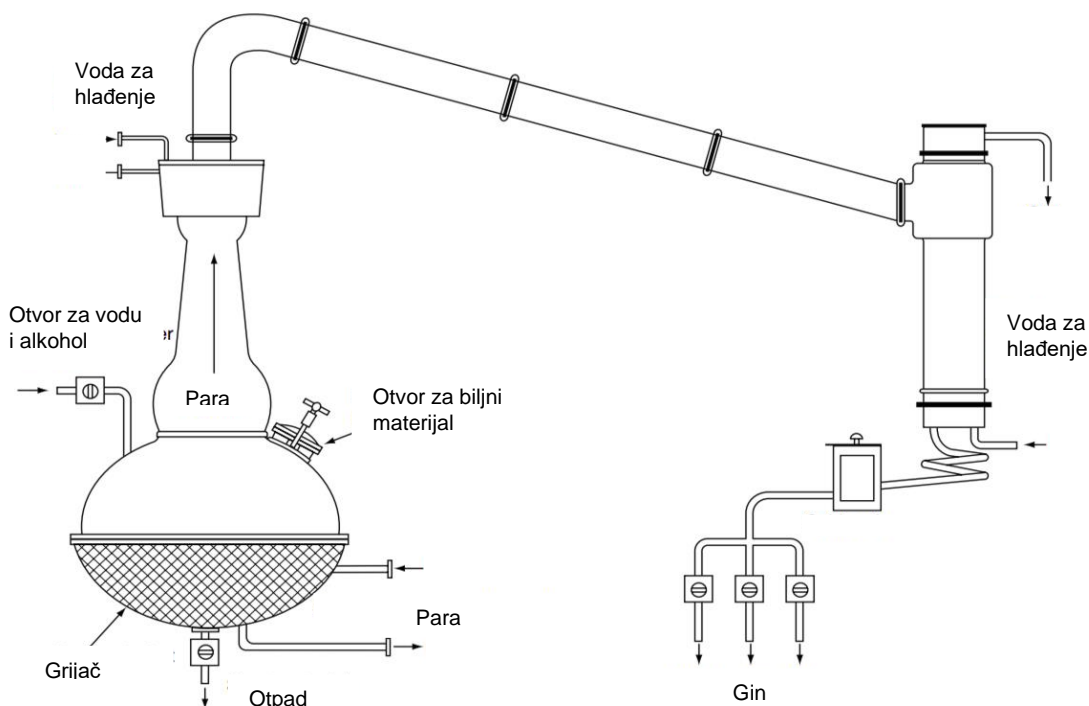
1.2.2. DESTILACIJA

Destilacija se odvija u tradicionalni bakrenim kotlovima, kao za proizvodnju whiskyja. Kotlovi se pune alkoholom i vodom do jakosti od 60% vol., dodaje se biljni materijal i počne zagrijavati do 70-80°C. Prvi tok destilacije sadrži najhlapljivije kemijske spojeve, primarno monoterpene, te se odvaja. Srednji tok je najkvalitetniji i predstavlja glavni produkt, destilat jakosti oko 80% vol. Nastavkom destilacije dolazi do porasta temperature i izdvajanja zadnjeg toka koji sadrži najmanje hlapljive kemijske spojeve. Prvi i zadnji tok se često ponovno destiliraju kako bi se dobilo više proizvoda. (6)

Destilacija u uvjetima vakuuma odvija se na nižim temperaturama, oko 60°C, što povećava udio oksigeniranih monoterpena, a snižava one toplinski degradirane. Oksigenirani monoterpeni su odgovorni za aromu *gina*, a toplinski degradirani monoterpeni mogu uzrokovati nastanak *off*-aroma. Vakuum destilirani *gin* je pikantan i više cvjetan od klasično destiliranog (1)

Destilat se potom miješa s vodom do željene jakosti (min 37,5% vol), a može se i kupažirati. Za razliku od London *gina*, u obični destilirani *gin* moguće je i dodavanje aromatskih pripravaka i alkohola nakon destilacije.

Gin se filtrira i pakira u staklenu ambalažu volumena najčešće 700 mL i 1000 mL. *Ginovi* se često izvoze kao destilati s visokim udjelom alkohola te potom razrjeđuju i pakiraju kako bi se smanjili troškovi transporta. (6)



Slika 2. Destilacija *gina* (6)

1.3. PROIZVODNJA GINA AROMATIZIRANJEM ALKOHOLA

Najjednostavnija metoda proizvodnje *gina* je aromatiziranjem neutralnog alkohola hladnom maceracijom biljnog materijala ili biljnim ekstraktima (engl. *Compound gin*). Koristi se alkohol poljoprivrednog podrijetla visoke jakosti, a kao i kod destiliranih *ginova* mora prevladavati aroma borovice. Prije punjenja potrebno ga je filtrirati i sniziti alkoholnu jakost na minimalno 37,5 % vol. Tako dobiveni *gin* općenito se smatra manje kvalitetnim, a zbog jednostavnije proizvodnje može imati nižu cijenu od destiliranih. *Compound Gin* je bio na vrhuncu za vrijeme prohibicije 1920.-ih i 30-ih godina u SAD-u, a zbog proizvodnje u kadama privatnih kuća nazivao se i *Bathtub gin*. Prema propisima Europske unije piće dobiveno ovim postupkom smije nositi samo naziv *gin*, bez prefiksa. (2,7)

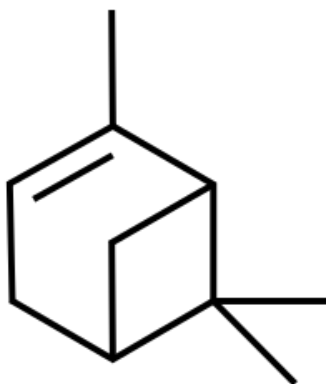
1.4. KEMIJSKI SASTAV

Kemijski sastav *gina*, kao i ostalih aromatiziranih alkoholnih pića, ovisi o biljnom materijalu korištenom u proizvodnji. Biljke sadrže eterična ulja koja se pak sastoje od stotina kemijskih spojeva. (1)

Najzastupljeniji hlapljivi aromatski spojevi u *ginu* su terpeni, nezasićeni ugljikovodici čiji skelet je izgrađen od izoprenskih jedinica $(C_5H_8)_n$ povezanih linearno ili ciklički. Terpeni su ime dobili po terpentinu, smoli borovih stabala čiji je glavni sastojak pinen. Najveća su skupina sekundarnih biljnih metabolita, a do danas ih je otkriveno više od 36 000. Terpenoidi osim ugljika i vodika sadrže i funkcionalne skupine, uglavnom s kisikom. (8)

U eteričnom ulju bobica borovice GC-MS analizom identificiran je 121 kemijski spoj, većina iz skupine terpena. (9) Terpenski spojevi borovice su monoterpeni, oksigenirani monoterpeni (monoterpenoidi), seskviterpeni i oksigenirani seskviterpeni (seskviterpenoidi). Monoterpeni su najvažniji aromatski spojevi zbog svoje visoke hlapljivosti i niskog praga percepcije. Seskviterpeni manje pridonose aromi pića zbog višeg praga percepcije u odnosu na monoterpenske spojeve. (1)

Dominantni terpeni u eteričnom ulju bobica borovice su: α -pinen, mircen, α -terpineol, α -kadinol, limonen i terpinen-4-ol. (9, 10)



Slika 3. Kemijska struktura α -pinena (11)

1.5. PROIZVODNJA I POTROŠNJA *GINA*

Najveći proizvođač *gina* na svijetu je Ujedinjeno Kraljevstvo u kojem se nalazi više od 300 destilerija, a proizvodnja je 2018. godine iznosila 54 milijuna litara. Prema projekcijama IWSR-a (*International Wines and Spirits Record*) očekivani rast potrošnje u razdoblju 2018.-2023. godine iznosi 4,4%. (12)

Hrvatska uvozi *gina* u vrijednosti 2 milijuna eura, najviše iz Njemačke i Ujedinjenog Kraljevstva, dok je izvoz relativno malen, 200 tisuća eura. U Hrvatskoj je danas desetak proizvođača *gina*, a često i dobivaju nagrade. (13)

Najveći potrošači *per capita* su Španjolci s 1,07 litara, a zemlja u kojoj se potroši najviše *gina* je SAD sa 68,9 milijuna litara. (14)

Tablica 1. Potrošnja *gina* po glavi stanovnika (14)

	Država	Potrošnja <i>per capita</i> (L)
1	Španjolska	1,07
2	Belgija	0,73
3	Nizozemska	0,63
4	Ujedinjeno Kraljevstvo	0,55
5	Irska	0,36
6	Kanada	0,22
7	Francuska	0,21
8	Francuska	0,19
9	Italija	0,14
10	Njemačka	0,08

1.6. NAPITCI NA BAZI GINA

Gin-tonik nastao je u 19. stoljeću u Indiji kada su britanski vojnici počeli miješati prah kinina sa soda vodom i šećerom te potom i *ginom* kako bi prikrili gorak okus kinina. Kinin je bio glavni lijek za malariju u prošlosti, a s obzirom da se tonik voda više ne koristi kao lijek kinin je danas prisutan samo u tragovima. *Gin*-tonik se poslužuje s limetom ili limunom, a često se dodaju i začini poput anisa, crvenog papra, metvice, đumbira i sl. (15)

Martini je koktel od *gina* i specijalnog aromatiziranog vina *Vermoutha*, poslužen s maslinom ili korom limuna. (16)

Vesper ili Vesper martini je koktel od *gina*, vodke i aromatiziranog vina *Kina Lillet*. Izumio ga je pisac Ian Fleming i prvi put se spominje u romanu o specijalnom agentu Jamesu Bondu, *Casino Royale*. (17)

Kuhani *gin* je topli napitak, najčešće od soka jabuke, s dodatkom *gina* i začina poput cimeta, klinčića i zvjezdastog anisa. (18)



Slika 4. Martini (19)

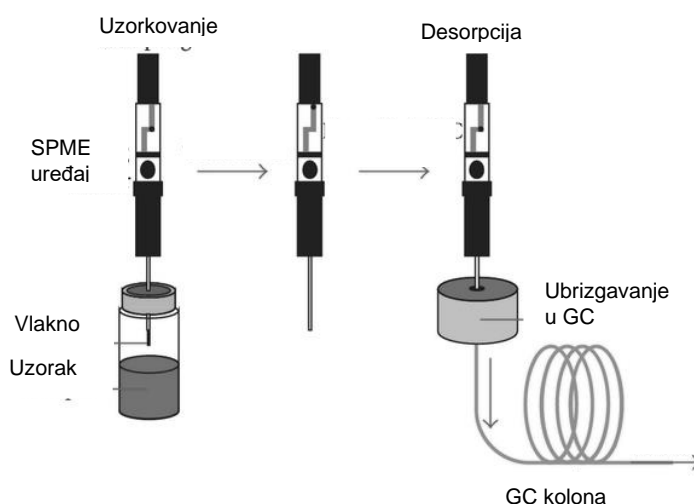
1.7. MIKROEKSTRAKCIJA NA ČVRSTOJ FAZI

Mikroekstrakciju na čvrstoj fazi (engl. *Solid-phase microextraction*, SPME) razvio je Janusz Pawliszyn sa svojim timom na sveučilištu Waterloo u Kanadi 1990-ih godina. SPME uređaj se sastoji od vlakna silicijeva dioksida (SiO₂) obloženog tankim slojem (5-100 μm) polimernog sorbensa ili imobilizirane tekućine smještenog u iglu u tvorevinu nalik šprici. Može se koristiti za direktnu ekstrakciju analita iz tekućeg ili plinovitog medija ili indirektno za ekstrakciju analita iz prostora iznad krutih i tekućih medija- mikroekstrakcija vršnih para (engl. *Headspace solid-phase microextraction*, HS-SPME). SPME ekstrakcija se može koristiti za većinu često korištenih primjenjivanih metoda poput plinske kromatografije (engl. *Gas chromatography*, GC) i tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (engl. *High performance liquid chromatography*, HPLC). (20)

SPME ekstrakcija se temelji na mehanizmu razdvajanja i uspostavljanja ravnoteže između analita i matriksa uzorka, a određena je omjerom volumena sorbensa i uzorka te koeficijentom K:

$$K = \frac{C_e}{C_s};$$

gdje C_e i C_s predstavljaju ravnotežne koncentracije analita u matriksu i sorbensu. (20)



Slika 5. SPME ekstrakcija (21)

SPME ima brojne prednosti u odnosu na druge metode ekstrakcije: jednostavnost upotrebe, nema korištenja organskih otapala, kratko vrijeme ekstrakcije, lako povezivanje s GC uređajem i mogućnost izolacije spojeva u tragovima, ali ima i neke nedostatke. Izbor ovojnica za vlakna je malen, proizvodnja je komplicirana, mehanički su slaba i slabo selektivna za polarne analite.

Odabir ovojnica ovisi o spojevima koji se očekuju u određenom uzorku. Najčešće korištene ovojnice su: polidimetilsiloksan (PDMS), divinilbenzen (DVB), karboksen (CAR), *Carbowax* polietilen glikol (CW), poliakrilat (PA) i njihove kombinacije. PDMS je nepolarna imobilizirana kapljevina na ekstrakcijskim temperaturama, često se koristi kao stacionarna faza u GC uređajima i lako identificira masenom spektrometrijom (engl. *Mass spectrometry*, MS), termostabilna je, a desorpcija je moguća na umjerenim temperaturama zbog čega se često i koristi za nepolarne analite. Danas se radi na razvoju novih ovojnica na bazi polikristalnih grafita, molekularno utisnutih polimera i imunosorbensa za ekstrakciju polarnih analita iz polarnih matriksa, posebno vode. (20)

Tablica 2. Primjena nekih komercijalno dostupnih SPME ovojnica (20)

SPME ovojnica	Debljina ovojnice (μm)	Analitička metoda	Analit
PDMS	100, 30, 7	GC/HPLC	hlapljivi organski spojevi (VOC), organoklorni i organofosforni pesticidi
PA	85	GC	organofosforni pesticidi, dušični herbicidi, triazini
PDMS/DVB	65, 60	HPLC GC/HPLC	fenoli PAH, VOC, ketoni, aldehidi, terpeni
CAR/PDMS	75, 85	GC	VOC, ugljikovodici
CW/DVB	65, 70	GC	alkoholi, ketoni, herbicidi, hlapljivi amini

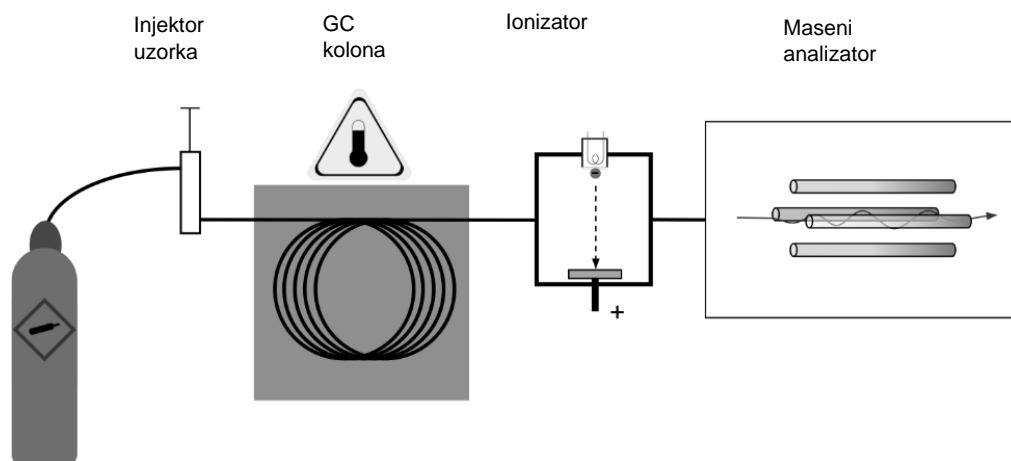
1.8. PLINSKA KROMATOGRAFIJA SA SPEKTROMETRIJOM MASA

Plinska kromatografija sa spektrometrijom masa (GC-MS) najkorištenija je analitička metoda za identifikaciju i kvantifikaciju organskih spojeva u kompleksnim matriksima. Nezamjenjiva je u forenzici, znanostima o okolišu, medicini i biologiji, industriji parfema.

Plinska kromatografija se koristi za razdvajanje kemijskih spojeva iz smjese. Plinski kromatograf se sastoji od injekcijskog bloka, termostatirane kromatografske kolone, detektora i računala. Uzorci za GC-MS analizu moraju biti hlapljivi i termostabilni kako bi identifikacija bila moguća. Uzorak se ubrizgava mikrošpicom u uređaj ili se umetne SPME vlakno s kojeg desorbira. Prevodi se u plinovito stanje te u struji mobilne faze (He, Ar) putuje do stacionarne faze u koloni (npr. 5% fenilmetilpolisiloksan) s kojom stupa u interakciju. Svaki spoj u uzorku interaktira različitom brzinom sa stacionarnom fazom, oni najbrži prvi izlaze iz kolone (eluiraju) i dolaze do detektora koji stvara elektronički signal čija jačina ovisi o koncentraciji spoja. Vrijeme zadržavanja (retencijsko vrijeme) je vrijeme od ubrizgavanja uzorka do eluiranja iz kolone koje je uvijek isto za pojedini spoj, ukoliko su uvjeti u kromatografu isti. Računalo povezano na GC uređaj obrađuje podatke i prikazuje ih u obliku grafa ovisnosti intenziteta signala o retencijskom vremenu-kromatogram. Plinskom kromatografijom se dobiju podaci o koncentraciji pojedinih spojeva u smjesi, dok se za njihovu identifikaciju uglavnom koristi maseni spektrometar ili neki od GC detektora. Retencijsko vrijeme može poslužiti za identifikaciju, ali za spojeve s vrlo sličnim svojstvima može biti isto. (22)

Nakon izlaska iz GC kolone razdvojeni spojevi ulaze u maseni spektrometar gdje se bombardiraju snopom visokonergetskih elektrona (70 eV). Molekule se ioniziraju i nastaju molekularni ioni (M^+) koji su nestabilni i često se razlažu na manje ione (fragmente). Maseni spektrometar razdvaja ione po njihovom omjeru mase i naboja (m/z), a računalo crta graf (maseni spektar) na čijoj x-osi se nalazi m/z omjer, a na y-osi relativni intenzitet signala. S obzirom da je naboj gotovo svih iona +1, m/z omjer predstavlja relativnu masu molekule, odnosno fragmenta. Spojevi imaju karakteristične masene spektre koji su pohranjeni u bazama podataka. Spektri se

uspoređuju te se na taj način spojevi identificiraju, a dobiva se i podatak o postotku podudaranja. (22)



Slika 6. Shema GC-MS uređaja (23)

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. ANALIZIRANI UZORCI

Analizirana su 4 uzorka *gina*, 3 komercijalno dostupna i jedan *craft gin* koji još nije plasiran na tržište. Osnovni podaci o uzorcima prikazani su u tablici 3.

Tablica 3. Osnovni podaci o korištenim uzorcima *gina*

Red. Br.	1	2	3	4
Vrsta gina	<i>craft gin</i>	<i>gin</i>	<i>gin</i>	London <i>dry gin</i>
Alk.vol.(%)	37,5	42,7	37,5	37,5
Zemlja podrijetla	Hrvatska	Španjolska	Hrvatska	Ujedinjeno Kraljevstvo
Biljni materijal	-*	borovica, korijander, kardamom, naranča, limun, maslina, ružmarin, bosiljak, timijan	-*	borovica, korijander, anđelika, naranča, limun, mandarina, kopar, cimet, kamilica, limunska trava, muškatni oraščić, sladić

*Podaci nisu poznati

2.2. APARATURA I KEMIKALIJE

Za provođenje eksperimentalnog dijela ovog rada korištena je sljedeća aparatura:

- Uređaj za mikroekstrakciju vršnih para na čvrstoj fazi
- Plavo vlakno s ovojnicom polidimetilsiloksan/divinilbenzen (PDMS/DVB) duljine 5 cm (Supelco Co., SAD)
- Sivo vlakno s ovojnicom divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan (DVB/CAR/PDMS) duljine 5 cm (Supelco Co., SAD)
- Magnetske miješalice i vodena kupelj s termostatom (Heidolph EKT 3001, Njemačka)
- Vezana tehnika plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS); plinski kromatograf (Agilent Technologies, SAD), model 7820A, u kombinaciji s Agilent Technologies (SAD) masenim detektorom, model 5977E
- Kolona HP-5MS ((5% fenil)-metilpolisiloksan; 30 m × 0,25 mm; debljina sloja stacionarne faze 0,25 μm).J&W, SAD)

Od kemikalija upotrijebljen je:

- NaCl (Kemika, Zagreb, Hrvatska)

2.3. MIKROEKSTRAKCIJA VRŠNIH PARA NA ČVRSTOJ FAZI

Ekstrakcija hlapljivih organskih spojeva provedena je HS-SPME metodom, korištenjem plavog vlakna s PDMS/DVB ovojnicom i sivog vlakna s DVB/CAR/PDMS ovojnicom. Vlakna je prije upotrebe potrebno kondicionirati zagrijavanjem u injektoru GC-MS uređaja. Sivo vlakno se aktivira zagrijavanjem na 270°C u trajanju 60 minuta, a plavo vlakno 30 minuta na 250°C. Ekstrakcija se mora vršiti odmah nakon kondicioniranja vlakana.



Slika 7. Vlakna s ovojnicama PDMS/DVB (plavo vlakno) i DVB/CAR/PDMS (sivo vlakno)

Volumen od 5 mL uzorka *gina* se stavi u staklenu bočicu od 20 mL uz dodatak NaCl-a te hermetički zatvori politetrafluoretilen (PTFE, teflon)/silikon septom. Zagrijava se u vodenoj kupelji na 60°C 15 minuta, a za miješanje se koristi magnetna mješalica. Nakon 15 minuta SPME igla se postavlja u bočicu i izvuče se vlakno. Ekstrakcija se provodi 40 minuta uz konstantnu brzinu miješanja uzorka (1000 o/min). Nakon uzorkovanja, vlakno se uvlači u iglu, uklanja iz bočice s uzorkom i postavlja u injektor GC-MS uređaja. U GC koloni se odvija toplinska desorpcija ekstrahiranih spojeva na 250°C u trajanju od 7 minuta.



Slika 8. Aparatura za mikroekstrakciju vršnih para na čvrstoj fazi (HS-SPME)

2.4. GC-MS ANALIZA HLAPLJIVIH ORGANSKIH SPOJEVA

Analiza ekstrahiranih hlapljivih organskih spojeva provedena je koristeći vezani sustav plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS).

Uvjeti rada plinskog kromatografa za HP-5MS kolonu:

- temperaturni program kolone: 2 min izotermno na 70 °C, zatim porast temperature do 200 °C za 3 °C min⁻¹,
- „solvent delay“: 1,8 min (vrijeme u kojem izlazi etanol),
- temperatura injektora: 250 °C,
- omjer cijepanja je 1 : 50,

- plin nositelj: helij s protokom 1 mLmin⁻¹.

Uvjeti rada masenog spektrometra:

- energija ionizacije: 70 eV,
- temperatura ionskog izvora: 280 °C,
- interval snimanja masa: 30-350 masenih jedinica.

GC-MS analizom uzoraka *gina* dobiveni su sljedeći podaci:

- kromatogram ukupne ionske struje
- naziv spoja ili spojeva čiji spektar ili spektri su najsličniji spektru nepoznate komponente pojedinog pika iz kromatograma ukupne ionske struje; sličnosti spektara koji se uspoređuju izraženi su postotkom
- retencijsko vrijeme pojedinog kemijskog spoja
- relativni udio pojedine komponente izražen u postotcima



Slika 9. Vezani sustav plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS)

3. REZULTATI

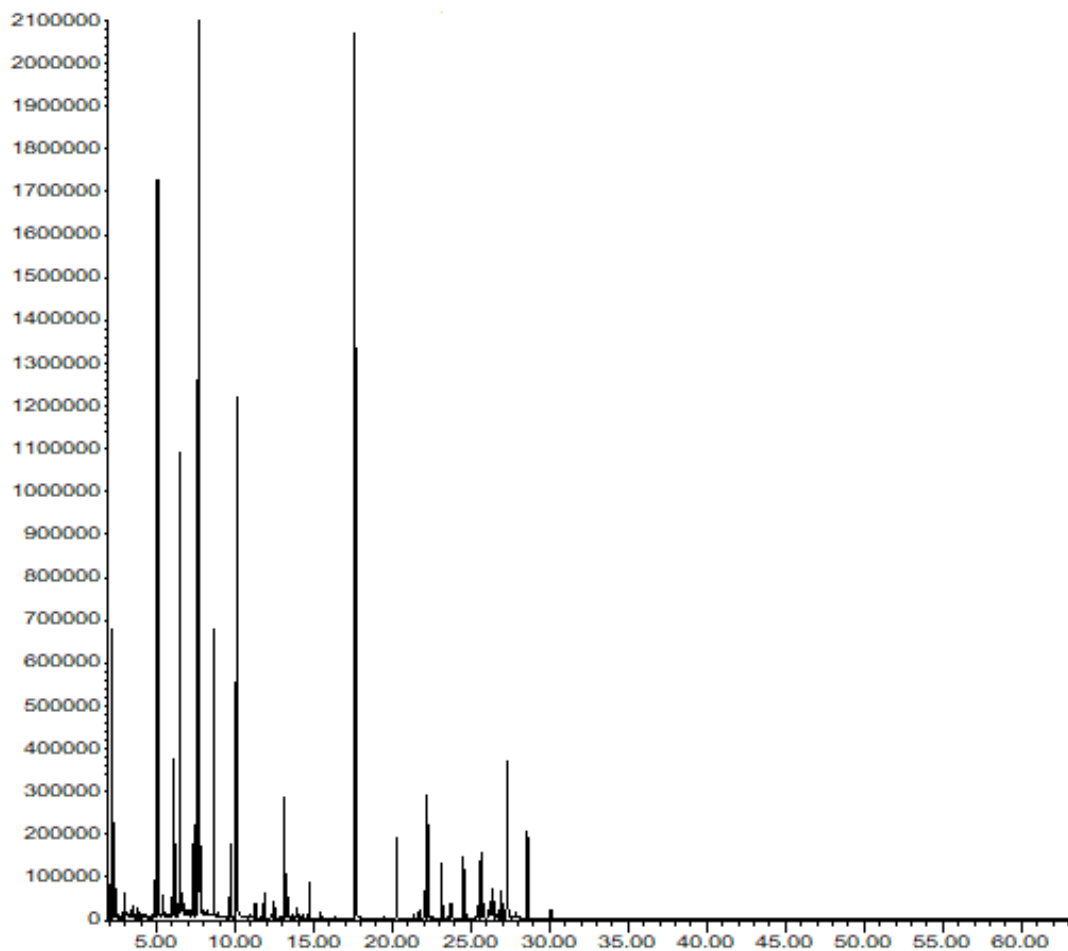
Rezultati GC-MS analize uzoraka prikazani su u tablicama i u obliku kromatograma. U tablicama su navedeni identificirani spojevi, njihov udio te retencijski indeks na HP-5MS koloni (RI).

Tablica 4. Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva uzorka *gina* 1 izoliranog pomoću plavog (P) i sivog vlakna (S)

Red. broj	RI	Spoj	Udio P (%)	Udio S (%)
1.	<900	etil-acetat	-	2,6
2.	930	α -thujen	3,1	-
3.	940	α -pinen	3,7	9,3
4.	957	kamfen	0,3	-
5.	981	sabinen	2,2	0,9
6.	985	β -pinen	1,1	-
7.	994	β -mircen	6,5	8,8
8.	996	etil-heksanoat	0,4	0,2
9.	1023	α -terpinen	1,1	-
10.	1030	<i>p</i> -cimen	2,2	2,5
11.	1035	limonen	14,1	20,8
12.	1039	1,8-cineol	2,2	0,5
13.	1065	γ -terpinen	4,7	3,9
14.	1092	α -terpinolen	1,4	-
15.	1103	linalol	8,9	-
16.	1150	kamfor	0,5	-
17.	1181	terpinen-4-ol	2,8	2,6
18.	1198	etil-oktanoat	-	0,3

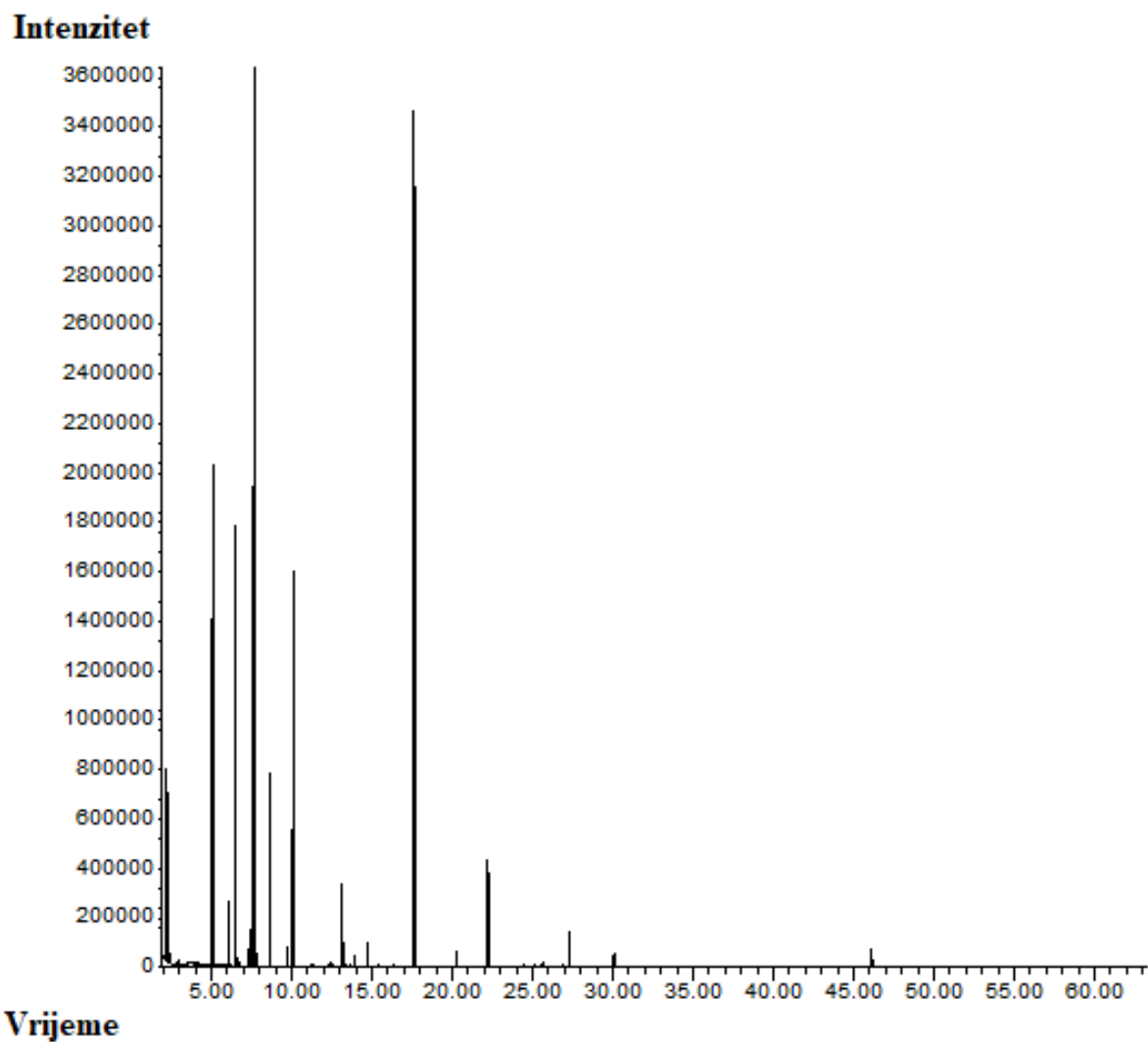
19.	1292	<i>trans</i> -anetol	18,1	30,2
20.	1354	α -terpenil-acetat	1,6	-
21.	1394	β -elemen	0,6	-
22.	1397	etil-dekanoat	2,5	3,6
23.	1422	<i>trans</i> - β -kariofilen	1,2	-
24.	1457	α -humulen	1,3	-
25.	1478	α -amorfen	0,4	-
26.	1483	germakren-D	1,6	-
27.	1489	β -selinen	0,4	-
28.	1502	α -murolen	0,7	-
29.	1516	γ -kadinen	0,6	-
30.	1525	δ -kadinen	3,7	1,1
31.	1556	germakren-B	1,9	-
32.	1593	etil-dodekanoat	-	0,4
<i>Ukupno identificirano</i>			87,8%	97,4%

Intenzitet



Vrijeme

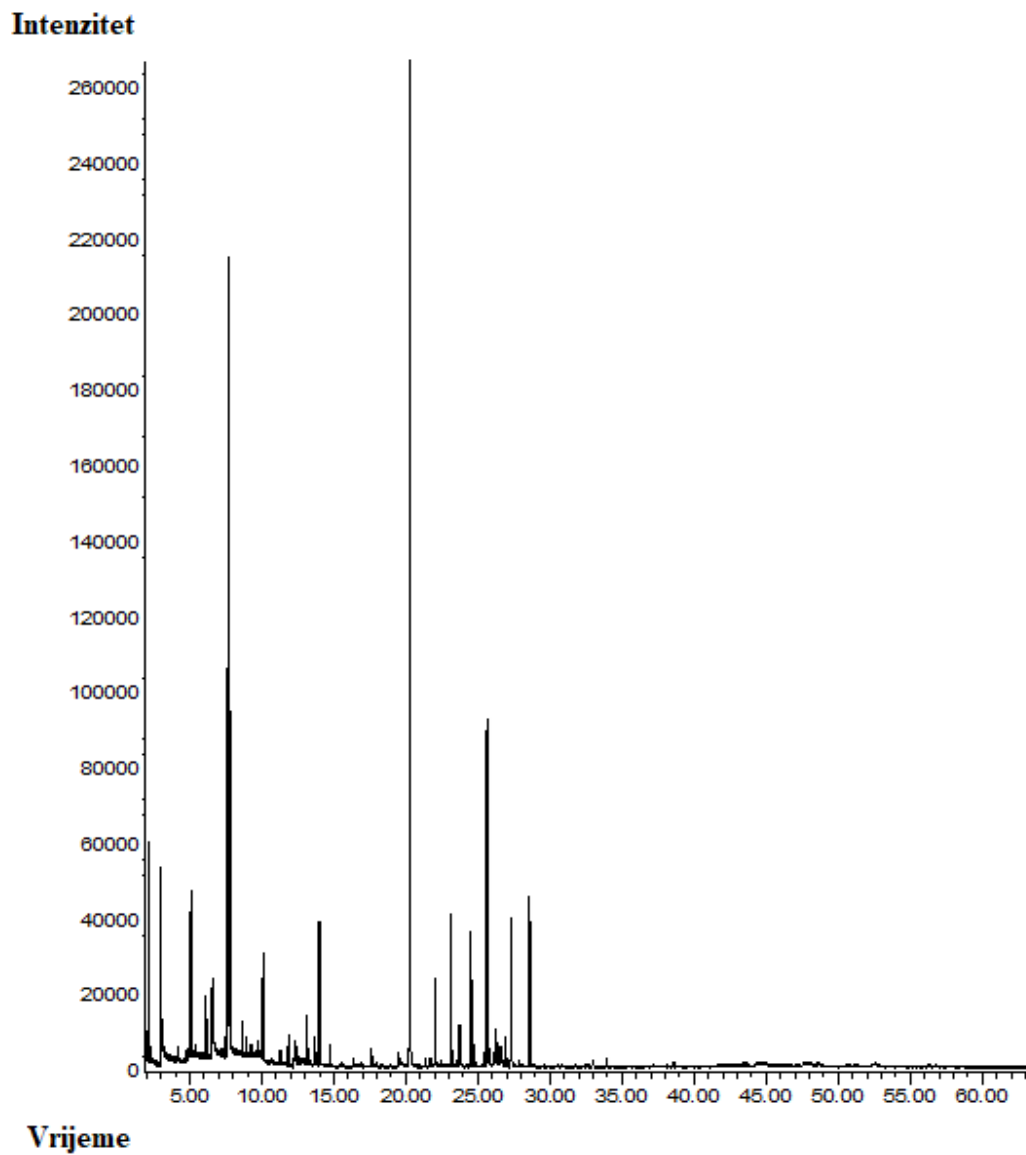
Slika 10. Kromatogram ukupne ionske struje hlapljivih spojeva uzorka *gina 1* izoliranih HS-SPME metodom s ovojnicom polidimetilsiloksan/divinilbenzen (PDMS/DVB) (plavo vlakno).



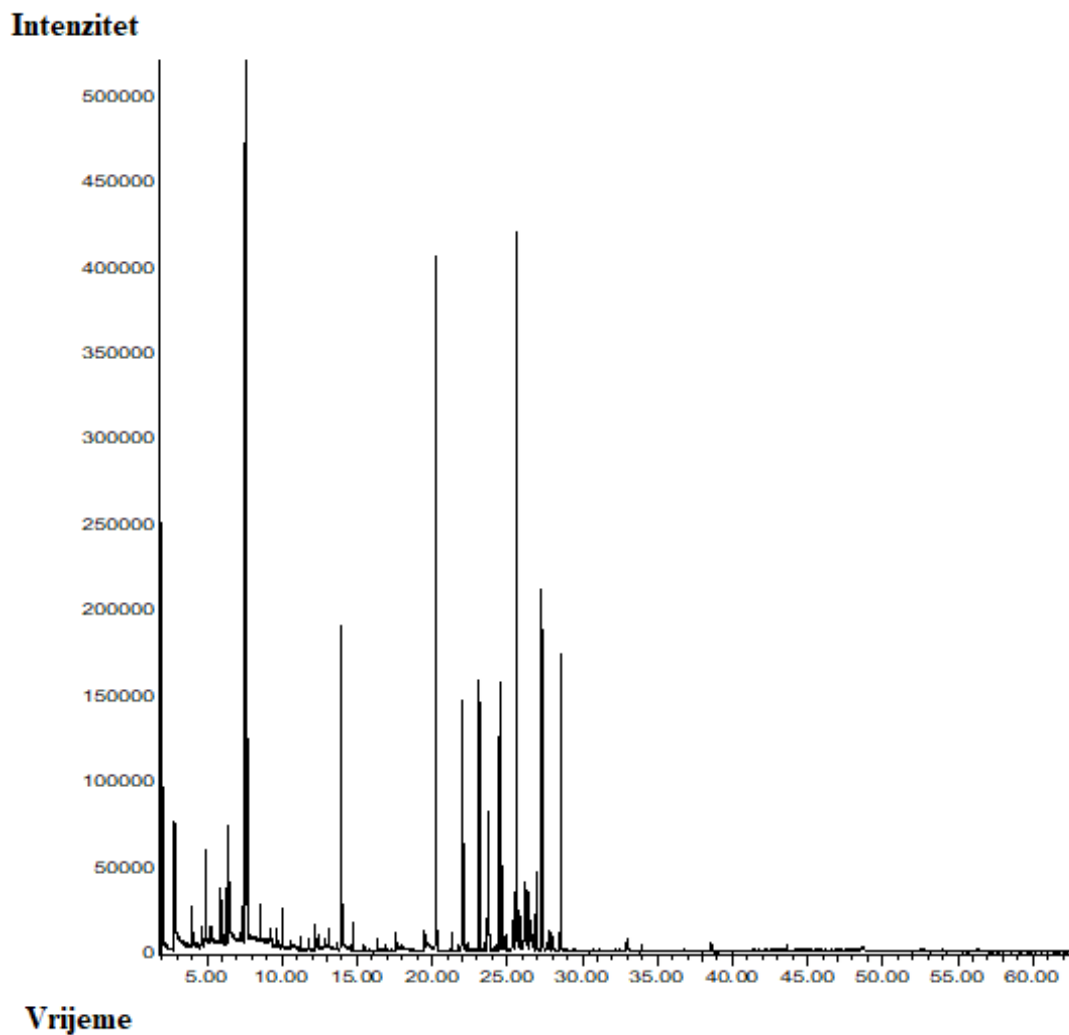
Slika 11. Kromatogram ukupne ionske struje hlapljivih spojeva uzorka *gina* 1 izoliranih HS-SPME metodom s ovojnicom divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan (DVB/CAR/PDMS) (sivo vlakno).

Tablica 5. Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva uzorka *gina 2* izoliranog pomoću plavog (S) i sivog (S) vlakna

Red. broj	RI	Spoj	Udio P (%)	Udio S (%)
1.	<900	etil-acetat	2,9	4,2
2.	940	α -pinen	2,6	-
3.	981	sabinen	-	0,7
4.	994	β -mircen	-	1,4
5.	1035	limonen	12,4	12,3
6.	1039	1,8-cineol	15,6	6,7
7.	1065	γ -terpinen	-	0,5
8.	1103	linalol	2,8	0,5
9.	1203	<i>p</i> -alilanol	3,7	-
10.	1292	<i>trans</i> -anetol	-	5,8
11.	1354	α -terpenil-acetat	25,3	12,2
12.	1394	β -elemen	2,4	4,5
13.	1422	<i>trans</i> - β -kariofilen	4,2	5,0
14.	1434	γ -elemene	-	2,0
15.	1457	α -humulen	3,6	5,1
16.	1460	<i>trans</i> - β -farnezen	-	1,4
17.	1478	α -amorfen	-	0,7
18.	1483	Germakren-D	-	13,6
19.	1489	β -selinen	-	0,7
20.	1502	α -murolen	-	1,2
21.	1516	γ -kadinen	4,2	1,4
22.	1525	δ -kadinen	3,7	7,1
23.	1556	Germakren-B	4,7	5,5
<i>Ukupno identificirano</i>			88,1%	93,7%



Slika 12. Kromatogram ukupne ionske struje hlapljivih spojeva uzorka *gina 2* izoliranih HS-SPME metodom s ovojnicom polidimetilsiloksan/divinilbenzen (PDMS/DVB) (plavo vlakno

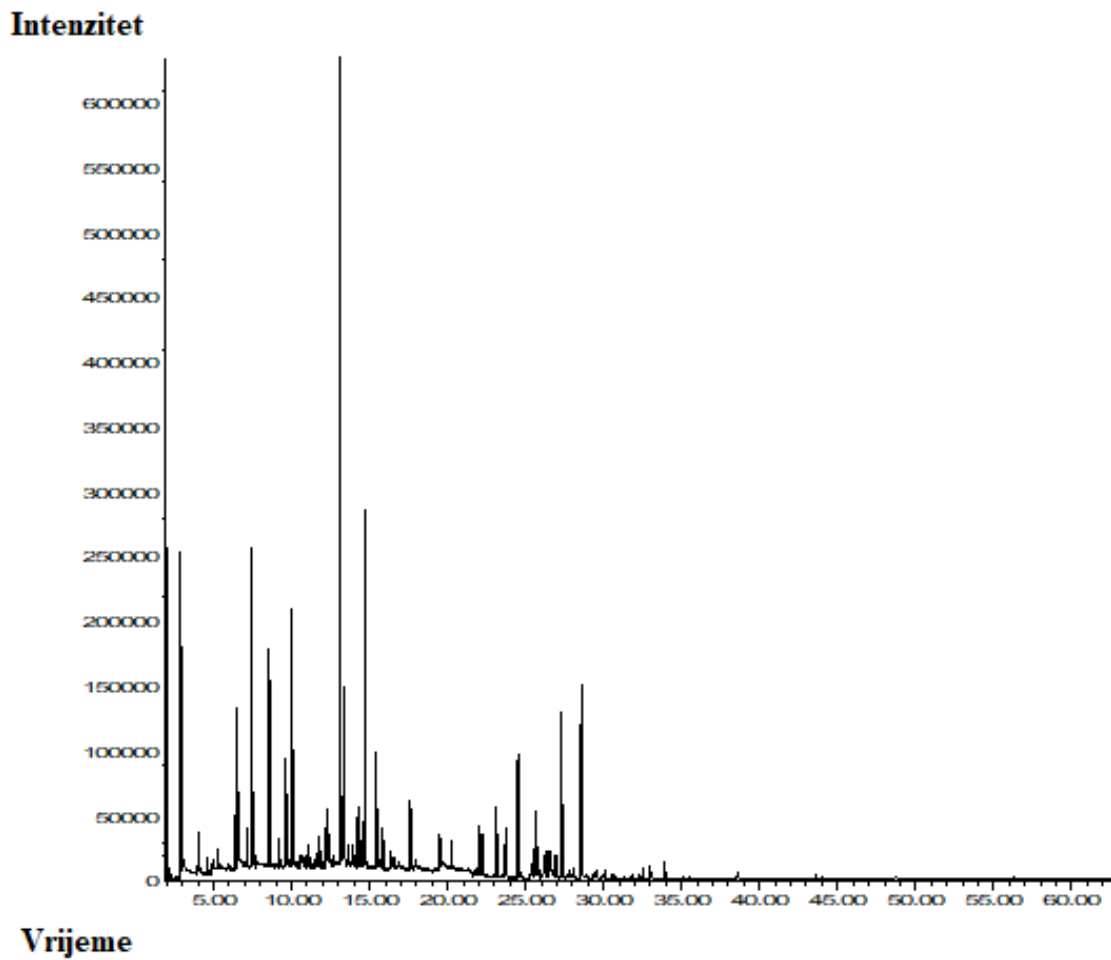


Slika 13. Kromatogram ukupne ionske struje hlapljivih spojeva uzorka *gina 2* izoliranih HS-SPME metodom s ovojnicom divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan (DVB/CAR/PDMS) (sivo vlakno).

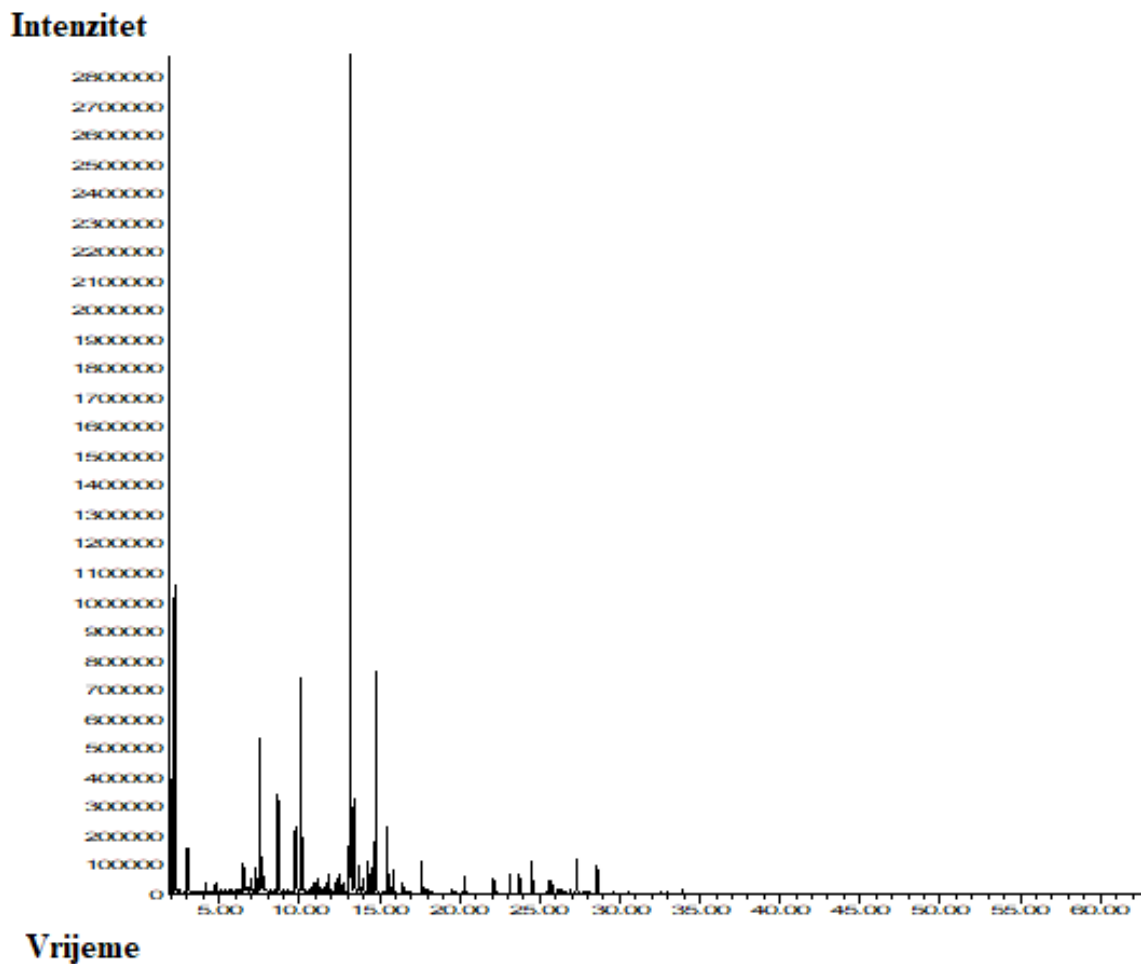
Tablica 6. Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva uzorka *gina* 3 izoliranog pomoću plavog (S) i sivog (S) vlakna

Red. broj	RI	Spoj	Udio P (%)	Udio S (%)
1.	<900	etil-acetat	4,0	8,7
2.	940	α -pinen	0,6	-
3.	994	β -mircen	0,8	0,8
4.	996	etil-heksanoat	2,7	-
5.	1009	α -felandren	-	0,4
6.	1023	α -terpinen	0,6	0,9
7.	1030	<i>p</i> -cimen	5,3	4,6
8.	1035	limonen	1,3	1,2
9.	1065	γ -terpinen	3,9	3,2
10.	1092	α -terpinolen	2,9	-
11.	1103	linalol	5,1	10,8
12.	1150	kamfor	0,7	0,8
13.	1181	terpinen-4-ol	21,6	32,2
14.	1198	etil-oktanoat	-	0,1
15.	1236	nerol	7,2	8,4
16.	1288	bornil-acetat	1,8	-
17.	1354	α -terpenil-acetat	-	0,8
18.	1394	β -elemen	1,1	0,7
19.	1397	etil-dekanoat	0,9	0,5
20.	1422	<i>trans</i> - β -kariofilen	1,7	0,9
21.	1434	γ -elemen	1,1	0,8
22.	1457	α -humulen	3,0	1,5
23.	1483	Germakren-D	1,9	0,6
24.	1502	α -murolen	0,6	-
25.	1525	δ -kadinen	4,3	1,6

26.	1556	Germakren-B	4,7	1,3
Ukupno identificirano			85,8%	80,7



Slika 14. Kromatogram ukupne ionske struje hlapljivih spojeva uzorka *gina* 3 izoliranih HS-SPME metodom s ovojnicom polidimetilsiloksan/divinilbenzen (PDMS/DVB) (plavo vlakno)



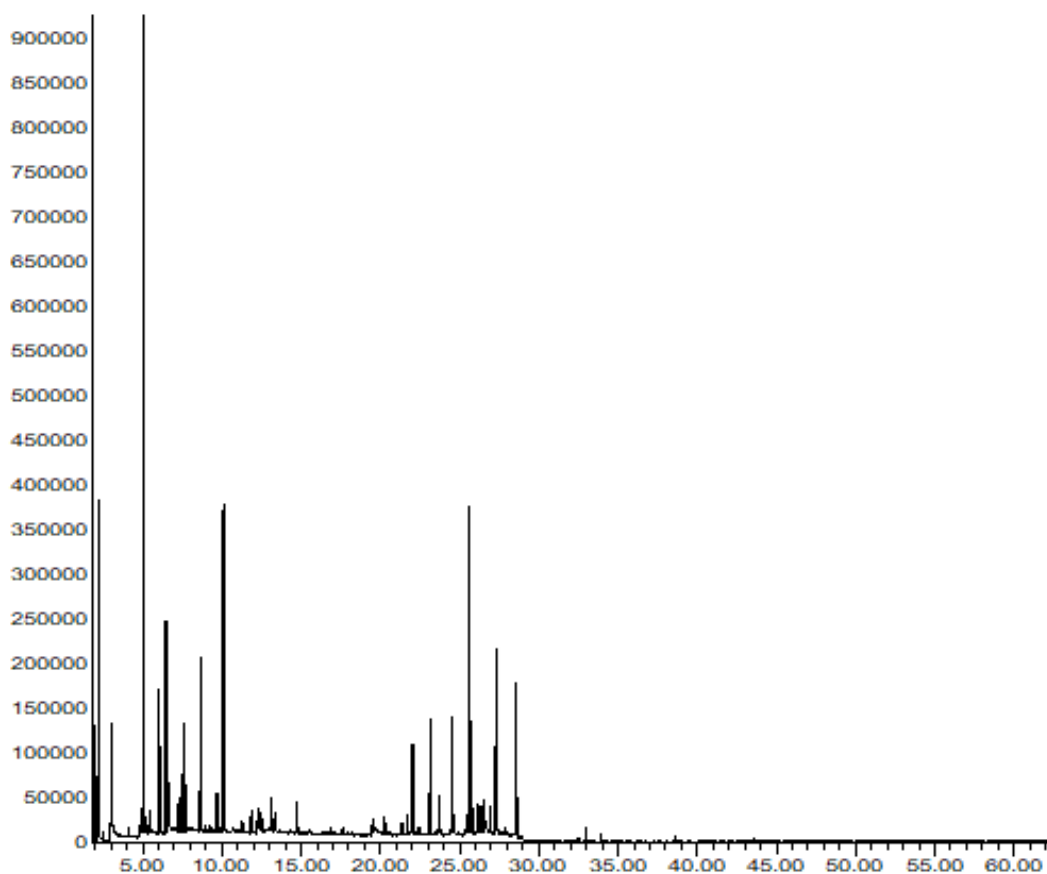
Slika 15. Kromatogram ukupne ionske struje hlapljivih spojeva uzorka *gina* 3 izoliranih HS-SPME metodom s ovojnicom divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan (DVB/CAR/PDMS) (sivo vlakno)

Tablica 7. Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva uzorka *gina* 4 izoliranog pomoću plavog (S) i sivog (S) vlakna

Red. broj	RI	Spoj	Udio P (%)	Udio S (%)
1.	<900	etil-acetat	4,6	-
2.	930	α -thujen	-	0,6
3.	940	α -pinen	15,4	15,3
4.	957	kamfen	0,5	0,5
5.	981	sabinen	2,9	2,9
6.	985	β -pinen	1,6	1,6
7.	994	β -mircen	4,2	7,3
8.	1023	α -terpinen	0,7	1,1
9.	1030	<i>p</i> -cimen	1,3	1,7
10.	1035	limonen	2,6	4,2
11.	1065	γ -terpinen	4,2	5,1
12.	1092	α -terpinolen	1,4	1,3
13.	1103	linalol	8,4	10,1
14.	1150	kamfor	0,6	0,6
15.	1181	terpinen-4-ol	1,0	1,2
16.	1354	α -terpenil-acetat	0,6	0,7
17.	1394	β -elemen	2,9	4,1
18.	1422	<i>trans</i> - β -kariofilen	3,8	4,1
19.	1434	γ -elemen	-	2,4
20.	1457	α -humulen	3,8	4,3
21.	1460	<i>trans</i> - β -farnezen	0,6	0,6
22.	1478	α -amorfen	0,8	0,9
23.	1483	Germakren-D	10,4	8,6
24.	1489	β -selinen	0,8	1,9
25.	1502	α -murolen	0,9	1,4

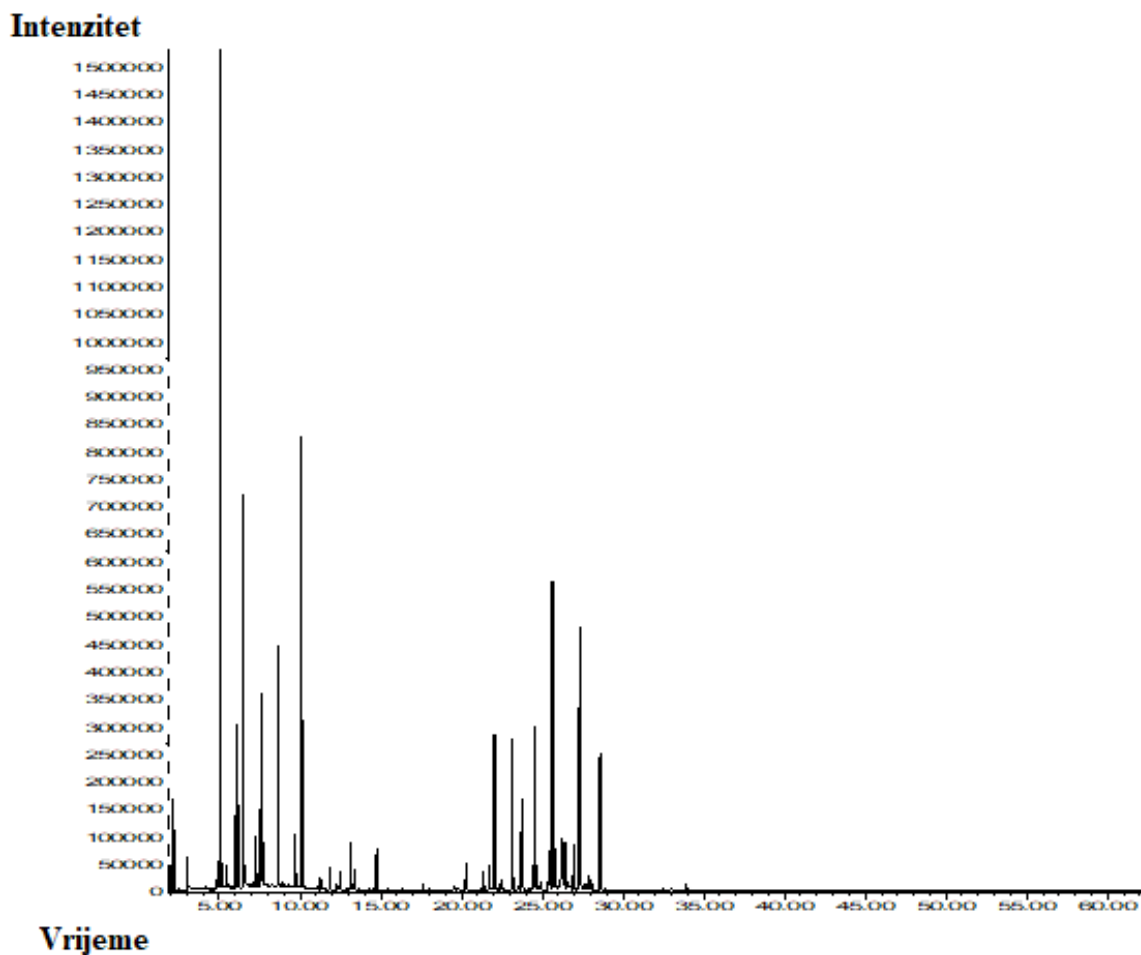
26.	1516	γ -kadinen	0,8	-
27.	1525	δ -kadinen	6,2	7,4
28.	1556	Germakren-B	5,4	3,7
Ukupno identificirano			86,4 %	93,0

Intenzitet



Vrijeme

Slika 16. Kromatogram ukupne ionske struje hlapljivih spojeva uzorka *gina 4* izoliranih HS-SPME metodom s ovojnicom polidimetilsiloksan/divinilbenzen (PDMS/DVB) (plavo vlakno)



Slika 17. Kromatogram ukupne ionske struje hlapljivih spojeva uzorka *gina 4* izoliranih HS-SPME metodom s ovojnicom divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan (DVB/CAR/PDMS) (sivo vlakno)

4. RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je izolirati hlapljive spojeve četiri uzorka *gina* mikroekstrakcijom vršnih para na čvrstoj fazi koristeći dva vlakna različite polarosti: plavo (PDMS/DVB) i sivo (DVB/CAR/PDMS) vlakno. Za identifikaciju je korišten vezani sustav plinska kromatografija-spektrometrija masa na nepolarnoj HP-5MS koloni, a rezultati su prikazani u obliku tablica i kromatograma.

GC-MS analizom uzoraka identificirano je ukupno 37 hlapljivih spojeva: 12 monoterpena, 6 monoterpenoida, 11 seskviterpena, 6 estera i dva fenilpropana. Velik broj monoterpenskih spojeva može se objasniti njihovom velikom hlapljivošću, a zbog niskog praga percepcije imaju značajan utjecaj na aromu proizvoda. (1) 27 spojeva je već prije identificirano u eteričnom ulju bobica borovice u određenom udjelu.(9). Plavim vlaknom su identificirana 34 spoja (osim α -felandrena, etil-oktanoata i etil-dodekanoata), a sivim 35 spojeva (osim bornil-acetata i *p*-alilanisola). 14 spojeva bilo je prisutno u svim uzorcima u različitim udjelima: etil-acetat, α -pinen, β -mircen, limonen, γ -terpinen, linalol, α -terpenil-acetat, β -elemen, *trans*- β -kariofilen, α -humulen, germakren-D, α -murolen, δ -kadinen i germakren-B. Svi osim etil-acetata su već prije identificirani u borovici.(9). Etil-acetat je sastavni dio destiliranih alkoholnih pića, a nastaje za vrijeme alkoholne fermentacije esterifikacijom etanola i octene kiseline. Zbog karakterističnog mirisa koji podsjeća na ljepilo, veliki udio etil-acetata smatra se manom.(24) Limonen i γ -terpinen su glavni sastojci eteričnog ulja citrusa (25), a linalol eteričnog ulja sjemenki korijandera (1) pa mogu ukazivati na povećanu upotrebu tog biljnog materijala u proizvodnji. Razlike u aromatskim profilima ovih *ginova* mogu se objasniti različitim recepturama i proizvodnim procesima.

U uzorku *gina* 1 identificiran je najveći broj hlapljivih spojeva, njih 32, a ester etil-dodekanoat je pronađen jedino u tom uzorku. Sastav biljnog materijala nije poznat, ali visoki udio limonena ukazuje da su jedan od glavnih sastojaka, pored borovice i korijandera, citrusi. (24) Najzastupljeniji spoj je *trans*-anetol, aromatični spoj iz skupine fenilpropana, a čini većinu esencijalnog ulja komorača (*Foeniculum vulgare*

Mill.). (26) Prisutnost *trans*-anetola pretpostavljena je i prije same analize zbog posebno izraženog mirisa ovog uzorka po komoraču.

U uzorku *gina* 2 identificirana su 23 hlapljiva spoja, a *p*-alilanol (estragol) je pronađen samo u *ginu* 2. *p*-Alilanol i izomer anetol prisutni su u eteričnom ulju bosiljka i timijana. (27) Dominantni spojevi u *ginu* 2 su: limonen, 1,8-cineol (eukaliptol), α -terpenil-acetat i germakren-D. Eukaliptol se u značajnim količinama nalazi u eteričnom ulju ružmarina (28), α -terpenil-acetat potječe iz sjemenki kardamoma (29), a zajedno s germakrenom-D iz borovice (9) je odgovoran za posebno izraženu biljnu aromu ovog *gina*. (10). *trans*- β -Kariofilen također vjerojatno potječe iz ružmarina. (28) Pronađena je relativno mala količina linalola (2,8%) što ukazuje na manju upotrebu korijandera nego kod ostalih proizvođača. (1) Analizom nije pronađen nijedan spoj koji se može isključivo povezati s maslinom, niti timol koji je glavni sastojak eteričnog ulja timijana (27)

U uzorku *gina* 3 identificirano je 26 hlapljivih spojeva, a α -felandren, nerol i bornil-acetat su pronađeni samo u tom uzorku. Biljni materijal korišten u proizvodnji ovog *gina* nije poznat, nije naveden ni na ambalaži ni na *web* stranicama proizvođača. U *ginu* dominiraju terpinen-4-ol, prirodno prisutan u borovici (8) i linalol. Nerol je monoterpenoid koji je sastavni dio esencijalnog ulja cvijeta gorke naranče (*Citrus aurantium* L.)(30), ali s obzirom na njegovu visoku cijenu, a nisku cijenu ovog proizvoda te povećani udio terpinen-4-ola i estera, može se pretpostaviti da su u proizvodnji ovog *gina* korištene umjetne arome.

U *ginu* 4 pronađeno je 28 hlapljivih spojeva, a svi su već identificirani u prethodno analiziranim uzorcima. Dominiraju α -pinen i germakren-D, a treći najzastupljeniji spoj je linalol iz sjemenki korijandera. (1) α -Pinen je najzastupljeniji spoj u eteričnom ulju borovice (9), ali za znatno veći udio nego u ostalim uzorcima je odgovaran i korijen anđelike (*Angelica archangelica*) korišten u proizvodnji (31)

U tablici 8 prikazano je 7 najzastupljenijih spojeva u uzorcima (udio iznad 10%), njihov maksimalni udio i broj uzorka u kojem je pronađen, aromatski dojam tih spojeva te biljni materijal iz kojeg potječu.

Tablica 8. Najzastupljeniji hlapljivi spojevi u uzorcima *gina*

Red.br.	Hlapljivi spoj	Maksimalni udio (%)	Red.br. uzorka	Aromatski dojam (9)	Podrijetlo (1,8,20-24)
1.	terpinen-4-ol	32,2	3	začinski	borovica
2.	<i>trans</i> -anetol	30,2	1	anis	komorač
3.	α -terpenil-acetat	25,3	2	biljni	kardamom
4.	limonen	20,8	1	citrusni	kora citrusa
5.	1,8-cineol	15,6	2	drveni, citrusni	ružmarin
6.	α -pinen	15,4	4	drveni, smola	borovica
7.	germakren-D	13,6	2	biljni, začinski	borovica
8.	linalol	10,8	3	cvjetni	korijander

S obzirom na relativno malen broj pronađenih spojeva (37) trebalo bi koristiti više analitičkih tehnika kako bi se dobio potpuni aromatski profil ovih uzoraka. Ekstrakcijom tekuće-tekuće mogli bi se izolirati manje hlapljivi spojevi, a promjena parametara HS-SPME ekstrakcije (temperatura, vrijeme izolacije, razrjeđenje itd.) bi također dala drugačiji profil aromatskih spojeva *gina*.

5. ZAKLJUČAK

Uzimajući u obzir dobivene rezultate i raspravu ovog rada mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- HS-SPME metodom ekstrakcije izoliraju se hlapljivi spojevi male molekulske mase.
- GC-MS analizom četiri uzorka *gina* identificirano je 37 hlapljivih spojeva, od kojih je 27 već prije pronađeno u eteričnom ulju bobica borovice.
- 32 spoja su izolirana pomoću oba korištena vlakna. Plavim vlaknom nisu izolirani α -felandren, etil-oktanoat i etil-dodekanoat, a sivim bornil-acetat i p-alilanol.
- Najvažniji hlapljivi aromatski spojevi u *ginu* pripadaju skupini terpenskih spojeva
- Razlike u aromatskim profilima uzoraka mogu se objasniti različitim recepturama i proizvodnim procesima.
- Potrebno je promijeniti uvjete HS-SPME ekstrakcije te provesti ekstrakciju tekuće-tekuće kako bi se dobio potpuni aromatski profil uzoraka *gina*.

6. LITERATURA

1. Riu-Aumatell M. Gin: Production and sensory properties. U: Piggott J, urednik. Alcoholic beverages: Sensory evaluation and consumer research. Cambridge, UK: Woodhead Publishing; 2012:267-280.
<https://doi.org/10.1533/9780857095176.3.267>
2. Uredba (EZ) br. 110/2008 Europskog parlamenta i vijeća o definiciji, opisivanju, prezentiranju, označavanju i zaštiti zemljopisnih oznaka jakih alkoholnih pića i stavljanju izvan snage Uredbe Vijeća (EEZ) br. 1576/89. Službeni list Europske unije.
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/ALL/?uri=CELEX:32008R0110>
3. <https://webshop.rotodynamic.hr/image/cache/cache/3001-4000/3254/main/6cb1-4434-0-2-800x1200.jpg> [Pristupljeno 12.10.2021]
4. The scandalous history of gin: the story behind everyone's favourite spirit. 2020. [Pristupljeno 11.10.2021]
<https://www.delicious.com.au/drinks/spirits-cocktails/article/history-distilling-drinking-gin/d272z8oq>
5. Gin ili Džin: Mala povijest alkoholnog ljepotana. 2015. [Pristupljeno 11.10.2021]
<https://punkufer.dnevnik.hr/clanak/gin-ili-dzin-mala-povijest-alkoholnog-ljepotana---376520.html>
6. Aylott RI. Gin: The product and its manufacture. U: Caballero B, urednik. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. Cambridge, SAD: Academic Press; 2003:2889-2893.
<https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00555-1>

7. Compound gin. [Pristupljeno 11.10.2021]
<http://www.the-complete-gentleman.com/SpiritsGinCategoriesCompoundGin.html>
8. Ashour M, Wink M, Gershenzon J. Biochemistry of terpenoids: monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes. U: Wink M, urednik. Annual plant reviews volume 40: Biochemistry of plant secondary metabolism. Oxford, UK: Blackwell Publishing;2010
<https://doi.org/10.1002/9781444320503.ch5>
9. Butkienė R, Nivinskienė O, Mockutė D. Volatile compounds of ripe berries (black) of *Juniperus communis* L. Growing wild in north-east Lithuania, J. Essent. Oil-Bear. Plants. 2005;8:2:140-147.
<https://doi.org/10.1080/0972060X.2005.10643434>
10. Einfalt D. Characterization of volatile compounds in quality-ranked gins. Mitteilungen Klosterneuburg 2020;70. 278-291
11. <http://www.chemspider.com/ImagesHandler.ashx?id=6402&w=250&h=250>
[Pristupljeno 12.10.2021]
12. Provenance and profits: The future of the gin industry. IWSR. [Pristupljeno 11.10.2021]
<https://www.theiwsr.com/news-and-comment-provenance-and-profits-the-future-of-the-gin-industry/>
13. Grgić I. Proizvodnja gina s domaćim sastojcima prilika za male hrvatske destilerije. 2019. [Pristupljeno 11.10.2021]
<https://www.agrobiz.hr/agrovijesti/proizvodnja-gina-s-domacim-sastojcima-prilika-za-male-hrvatske-destilerije-13135>
14. Top 10 countries that drink the most gin. [Pristupljeno 11.10.2021]
<https://allgin.com/which-country-drinks-the-most-gin/>

15. The imperial cocktail: How the gin and tonic became the british empire's secret weapon. 2013. [Pristupljeno 11.10.2021]
<https://slate.com/technology/2013/08/gin-and-tonic-kept-the-british-empire-healthy-the-drinks-quinine-powder-was-vital-for-stopping-the-spread-of-malaria.html>
16. Martini (cocktail). [Pristupljeno 11.10.2021]
[https://en.wikipedia.org/wiki/Martini_\(cocktail\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Martini_(cocktail))
17. Vesper (cocktail). [Pristupljeno 11.10.2021]
[https://en.wikipedia.org/wiki/Vesper_\(cocktail\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Vesper_(cocktail))
18. Božićni kuhani gin. [Pristupljeno 11.10.2021]
<https://www.coolinarika.com/recept/bozicni-kuhani-gin-5fa7fa62-6391-11eb-9131-0242ac120022>
19. <https://www.top50cocktailbars.com/wp-content/uploads/2018/05/Martini.jpg>
[Pristupljeno 12.10.2021]
20. Spieltun A, Pilarczyk M, Kloskowski A, Namieśnik J. Current trends in solid-phase microextraction (SPME) fibre coatings. *Chem. Soc. Rev.* 2010; 39:4524-4537.
<https://doi.org/10.1039/C003335A>
21. https://www.researchgate.net/figure/Diagram-of-analysis-with-solid-phase-microextraction-gas-chromatography-mass-spectrometry_fig2_274709453
[Pristupljeno 12.10.2021]
22. Sparkman OD, Penton ZE, Kitson FG. *Gas chromatography and mass spectrometry: A practical guide*. Oxford, UK: Academic Press; 2011.
<https://doi.org/10.1016/C2009-0-17039-3>
23. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/bf/Electron_ionization_G-C-MS.png [Pristupljeno 13.10.2021]

24. Spaho N. Distillation techniques in the fruit spirits production. U: Mendes M, urednik. Distillation innovative applications and modeling. London UK: IntechOpen; 2017.
<https://doi.org/10.5772/66774>
25. González-Mas MC, Rambla JL, López-Gresa MP, Blázquez MA, Granell, A. Volatile compounds in citrus essential oils: A comprehensive review. *Front. Plant Sci.* 2019;10.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00012>
26. Díaz-Maroto MC, Díaz-Maroto Hidalgo IJ, Sánchez-Palomo E, Pérez-Coello MS. Volatile components and key odorants of fennel (*Foeniculum vulgare Mill.*) and thyme (*Thymus vulgaris L.*) oil extracts obtained by simultaneous distillation-extraction and supercritical fluid extraction. *J Agric Food Chem.* 2005;53(13):5385-9
<https://doi.org/10.1021/jf050340+>
27. Lee S, Umano K, Shibamoto T, Lee K. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum L.*) and thyme leaves (*Thymus vulgaris L.*) and their antioxidant properties. *Food chem* 2005;91:131-137.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.05.056>
28. Jiang Y, Wu N, Fu YJ, Wang W, Luo M, Zhao CJ, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2011;32(1):63-68.
<https://doi.org/10.1016/j.etap.2011.03.011>
29. Noumi E, Snoussi M, Alreshidi MM, Rekha PD, Saptami K, Caputo L, et al. Chemical and biological evaluation of essential oils from cardamom species. *Molecules.* 2018;23(11):2818
<http://dx.doi.org/10.3390/molecules23112818>

30. Bonaccorsi I, Sciarrone D, Schipilliti L, Trozzi A, Fakhry HA, Dugo G. Composition of Egyptian neroli oil. *Nat Prod Commun.* 2011;6(7):1009-14.
<http://dx.doi.org/10.1177/1934578X1100600723>
31. Paroul N, Rota L, Frizzo C, Santos A. dos Moyna P, Gower A, et al. Chemical composition of the volatiles of Angelica root obtained by hydrodistillation and supercritical CO₂ extraction. *J. Essent. Oil Res.* 2002;14:282-285.
<http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2002.9699855>
- .