



Istraživački rad za natjecanje iz biologije

ožujak, 2014.

---

ADRIANA MATIĆ, 3.PG

IVA ŠUMONJA, 3.PG

---

Mentor:  
GORAN GOTLIBOVIĆ, PROF.

---

# Utjecaji na intenzitet alkoholnog vrenja

---

Prirodoslovna i grafička škola Rijeka

Vukovarska 58, 51000 Rijeka

pgsri@hi.t-com.hr

051/678-740

**Primorsko-goranska županija**

---

Pregledano



Agencija za odgoj i obrazovanje



Istraživački rad za natjecanje iz biologije

ožujak, 2014.

---

**TREĆI RAZRED**

**TREĆI RAZRED**

---

# Utjecaji na intenzitet alkoholnog vrenja

---



Agencija za odgoj i obrazovanje

## SADRŽAJ

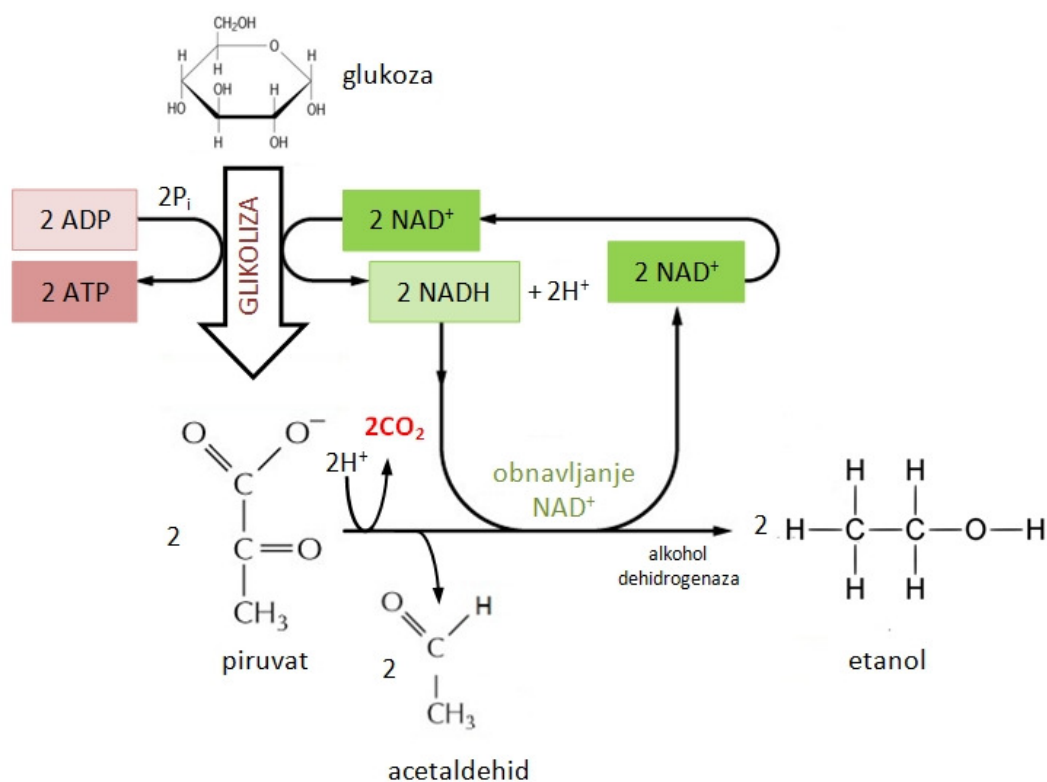
1. Uvod.....	4
2. Obrazloženje teme.....	6
3. Materijali i metode rada.....	7
4. Rezultati.....	9
5. Rasprava.....	12
6. Zaključci.....	13
7. Sažetak.....	14
8. Popis literature.....	15

## 1. UVOD

Kvaščeve gljivice (*Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex. E.C.Hansen) pripadaju skupini gljiva mješinarke koje se u povoljnim uvjetima razmnožavaju vegetativno pupanjem (Dolenec i Rusak, 2010). Kvaščeve gljivce najčešće koristimo u kućanstvima pri izradi raznih jela od dizanog tijesta pri čemu ugljikov(IV) oksid uzrokuje nastanak rupica u tijestu. Nadalje, kvaščeve gljivice vrlo su važne i pri proizvodnji alkoholnih pića kao npr. piva i vina.

Vrenje je općenito proces kojim nastaje ATP pri čemu organski spojevi djeluju kao elektron donori i elektron akceptori. Alkoholno vrenje je anaerobni proces kojemu prethodi razgradnja glukoze do piruvata procesom glikolize u citoplazmi pri čemu nastaje piruvat koji ulazi u proces alkoholnog vrenja (Stryer i sur., 2002). Produkti alkoholnog vrenja su etanol i ugljikov(IV) oksid uz oslobađanje energije (prilog 1).

Jednadžba alkoholnog vrenja (Stryer i sur., 2002):



**Slika 1** – Shematski prikaz slijeda reakcija alkoholnog vrenja (prilagođeno prema Voet i Voet, 2011)

Pri pripremanju suspenzija kvasaca u kućanstvu, vrlo često dodajemo ugljikohidrat saharozu kako bismo ubrzali proces dizanja tijesta. Ugljikohidrati su složeni organski spojevi sastavljeni od ugljika, kisika i vodika. Kemijski sastav ugljikohidrata je isti, ali međusobno se razlikuju po složenosti svoje građe pa razlikujemo jednostavne šećere ili monosaharide i složene šećere - disaharide i polisaharide. Najpoznatiji monosaharidi su glukoza i fruktoza. Monosaharidi se sastoje od samo jedne monosaharidne jedinice (mono = jedan). Glukoza i fruktoza imaju istu molekulsku formulu, ali različitu strukturu što je razlog različitosti nekih svojstava. Disaharidi se sastoje od dvije monosaharidne jedinice (di = dva), a najznačajniji su saharoza, maltoza i laktoza. Saharozu se sastoji od jedne molekule glukoze i jedne molekule fruktoze, a laktoza ili mliječni šećer sastoji se od jedne molekule glukoze i jedne molekule galaktoze. Polisaharidi se sastoje od velikog broja povezanih glukoznih jedinica (poli = više), a jedan od najpoznatijih je škrob koji tvori rezervnu hranjivu tvar biljaka.

Saharin je prvo kemijski sintetizirano sladilo koje je oko 500 puta slađe od saharoze. Prvotno se dobivao iz toluena, ali danas se proizvodi kemijskom sintezom iz o-klortoluena ili iz ftalne kiseline. Nemaju nikakvu energijsku vrijednost, a često se rabe u kombinaciji s ostalim umjetnim sladilima.

Pregledavajući literaturu pronašli smo podatke da se povećanjem koncentracije saharoze i glukoze povećava količina nastalog etanola te oslobođenog ugljikova(IV) oksida, tj. utječu pozitivno na intenzitet alkoholnog vrenja (Togarepi i sur. 2012).

Za utjecaj pH na aktivnost kvašćevih gljivica pronašli smo različite podatke. Togarepi i sur. (2012) navode kako optimalan pH iznosi 6, dok je najmanje ugljikova(IV) oksida nastalo pri pH 2. Lin i sur. (2012) navode pH 4 kao optimalan za metabolizam kvašćevih gljivica.

## 2. OBRAZLOŽENJE TEME

Cilj ovog projekta je istražiti kako ugljikohidrati (glukoza, fruktoza, laktoza, saharoza i škrob) te zaslađivač saharin utječu na metabolizam kvašćevih gljivica. Nadalje, cilj je i dokazati utjecaj povećanja koncentracije glukoze na intenzitet alkoholnog vrenja. Time bismo dokazali koji bi dodatak za pripremu suspenzije kvašćevih gljivica u kućanstvu bio najučinkovitiji, a time rezultirao najbržim dizanjem tijesta. Taj podatak je koristan pekarskoj industriji.

Nadalje, želimo istražiti i utjecaj koncentracije ugljikohidrata te promjene pH vrijednosti na intenzitet alkoholnog vrenja. Time bismo saznali optimalan pH za maksimalni intenzitet alkoholnog vrenja što je vrlo korisno u industrijskim procesima. Naime, prilagođavanjem optimalnog pH postigao bi se najveći intenzitet alkoholnog vrenja, a time i veća produktivnost procesa proizvodnje.

Neovisne varijable u istraživanju su koncentracija glukoze i promjena pH vrijednosti. Ovisne varijable u istraživanju je volumen oslobođenog ugljikova(IV) oksida. Kontrolirane varijable u istraživanju su: koncentracija suspenzije kvasca, volumeni suspenzije kvasca u uzorcima, volumeni dodanih otopina ugljikohidrata i saharina u uzorcima te vrijeme prikupljanja plina (30 min.).

Početne hipoteze istraživanja su:

1. Alkoholnim vrenjem nastaje ugljikov(IV) oksid.
2. Nastali volumen ugljikova(IV) oksida upravo je proporcionalan koncentraciji otopine glukoze.
3. Dodatkom monosaharida nastaje veći volumen ugljikova(IV) oksida u usporedbi s ostalim ugljikohidratima.
4. Dodatak škroba ne utječe na intenzitet alkoholnog vrenja.
5. Dodatak saharina otopini kvasca ne utječe na intenzitet alkoholnog vrenja.
6. Smanjenje i povišenje pH vrijednosti smanjuje intenzitet alkoholnog vrenja.

### 3. MATERIJAL I METODE RADA

Suspenzija kvasaca korištena kao materijal istraživanja pripravljena je od suhog kvasca u vrećici (7g dehidriranog kvasca u vrećici) u omjeru četiri vrećice u 150 mL vode. Intenzivnim miješanjem tako pripravljene suspenzije dobivena je homogena suspenzija.

Otopine ugljikohidrata (glukoze, fruktoze, laktoze, saharoze i škroba) potrebne za istraživanje pripravljene su otapanjem 4,8 g pojedinog ugljikohidrata u 80 mL vode. Time su pripravljene otopine masenog udjela ugljikohidrata ( $w=6\%$ ). Otopina saharina pripravljena je otapanjem jedne i pol granule za otopinu ( $w\approx 6\%$ ).

Aparatura za prikupljanje plinova sastavljena je pričvršćivanjem epruveta na metalne hvataljke postavljene na stativu. Epruvete su začepljene koljenastim cjevčicama s pripadajućim čepom i gumenim nastavcima. Staklena kadica je ispunjena vodom do  $1/3$  ukupnog volumena. Menzure od 25 mL uronjene su u kadice s vodom te okrenute na obrnutu stranu otvorom prema dolje tako da ostanu ispunjene vodom u okomitom položaju. Krajevi gumenih nastavaka sa savijenim cjevčicama u obliku slova „U“ uronjeni su u pripadajuće označene menzure ispunjene vodom.

Pripravljena suspenzija kvasaca razdijeljena je za svaku seriju od tri mjerenja u prethodno označene epruvete (1, 2, 3) u volumenima od 10 mL suspenzije po epruveti. Prva serija uzoraka predstavlja kontrolni uzorak budući da u njega nije dodana niti jedna druga otopina osim suspenzije kvasaca. Nakon dodatka suspenzije u epruvetu, ista je dobro pričvršćena na stativ i začepljena. Gumeno crijevo je usmjereno u menzuru ispunjenu vodom pazeći da nema niti jednog mjehurića zraka u menzuri prije početka mjerenja. Početak mjerenja vremena prikupljanja plina za svaki uzorak (30 min) započelo je nakon pojavljivanja prvog mjehurića plina u menzuri. Nakon što je vrijeme mjerenja prošlo, gumeno crijevo s „U“ cjevčicom je izvučeno iz menzure, a volumen prikupljenog plina je očitavan pomoću oznaka na menzuri. Rezultati očitavanja zapisani su u dnevnik istraživanja.

Svi uzorci u dijelu istraživanja utjecaja ugljikohidrata i saharina pripremljeni su na isti način s razlikom u tome što je u svaku epruvetu (1, 2, 3) dodano 10 mL suspenzije kvasca i 6 mL pripadajuće otopine masenog udjela 6% (glukoze, fruktoze, laktoze, saharoze, škroba i saharina) za svaku seriju od tri mjerenja. Nakon što su otopine dodane u suspenziju, sadržaj epruvete je dobro protresen, epruveta je pričvršćena na stalak i začepljena te spojena s menzutom ispunjenom vodom u kadici.

U drugom dijelu istraživanja pripremljene su otopine glukoze različitih masenih udjela ( $w=2\%$ ,  $w=4\%$ ,  $w=6\%$ ,  $w=8\%$ ,  $w=10\%$ ). Za svaku pripremljenu otopinu odrađena su tri mjerenja pripremivši uzorke u epruvetama ulijevanjem 10 mL suspenzije kvasca i 6 mL pojedine otopine. Pripremljeni uzorci za svaku seriju od tri mjerenja pričvršćeni su na već pripremljenu aparaturu te je prikupljan plin u menzuri tijekom 30 minuta.

U završnom dijelu istražen je utjecaj promjene pH vrijednosti na intenzitet alkoholnog vrenja. Pripremljeno je pet čaša s 30 mL suspenzije kvasca označenih naljepnicama s pripadajućim oznakama pH vrijednosti. U svaku čašu je dodano 12 mL otopine glukoze ( $w=6\%$ ) te je sadržaj čaše promiješan. Uzorci u pojedinoj čaši su stabilizirani na pH vrijednostima  $\text{pH} \approx 3, 5, 7, 9, 12$  sniženjem pH vrijednosti s 0,1 M HCl(aq) ili povišenjem pH vrijednosti s NaOH(aq) ( $w=10\%$ ). Kiselina ili baza je dodavana kapalicom dok nije postignut potreban pH koji je određivan pH-metrom. Između svakog dodavanja kiseline ili baze elektroda je isprana destiliranom vodom te osušena staničevinom. 16 mL tako pripremljenih suspenzija odmjereno je u epruvete pripadajućih oznaka (1, 2, 3), uzorci su začepljeni, pričvršćeni na aparaturu te spojeni s menzutom u kadici. Oslobođeni plinovi skupljani su 30 minuta nakon prvog uočenog mjehurića plina. Rezultati su zapisani u dnevnik istraživanja.

Nakon što su prikupljeni podaci svih serija mjerenja, rezultati su obrađeni te su prema dobivenim vrijednostima osmišljeni zaključci jesu li početne hipoteze potvrđene.



## 4. REZULTATI

### 1.1. Rezultati kontrolne serije uzoraka

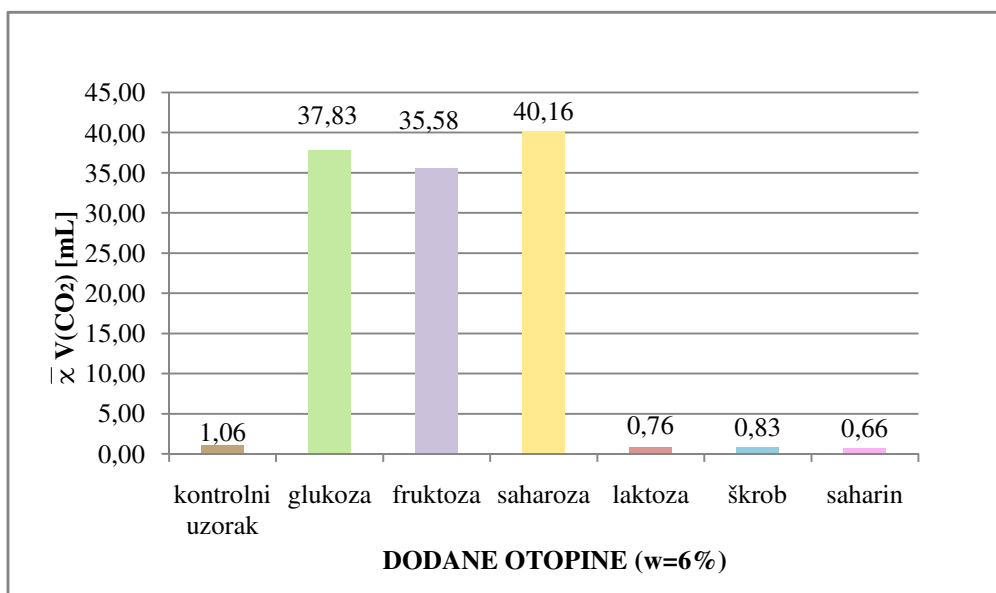
Očitane vrijednosti volumena ugljikova(IV) oksida u kontrolnoj seriji uzoraka bez dodataka pojedinih otopina ugljikohidrata ili saharina vidljivi su u tablici 1. Za sva tri mjerenja u seriji određena je srednja vrijednost koja je uspoređena s drugim rezultatima.

**Tablica 1** - Prikaz odmjerenih volumena ugljikova(IV) oksida [mL] kontrolnog uzorka sva tri mjerenja (1, 2, 3) te prosječna vrijednost odmjerenih volumena ugljikova(IV) oksida [mL] ( $\bar{x}$ )

KONTROLNI UZORAK	1	2	3	$\bar{x}$
V(CO <sub>2</sub> ) [mL]	1,20	1,25	0,75	1,06

### 1.2. Rezultati serija uzoraka s dodanim otopinama ugljikohidrata i saharina

Nakon prikupljenih rezultata svih serija s dodanim otopinama ugljikohidrata i saharina (prilog 1) izračunali smo prosječne vrijednosti volumena prikupljenog ugljikova(IV) oksida. Rezultate smo usporedili s prosječnom vrijednosti kontrolnog uzorka (slika 2).

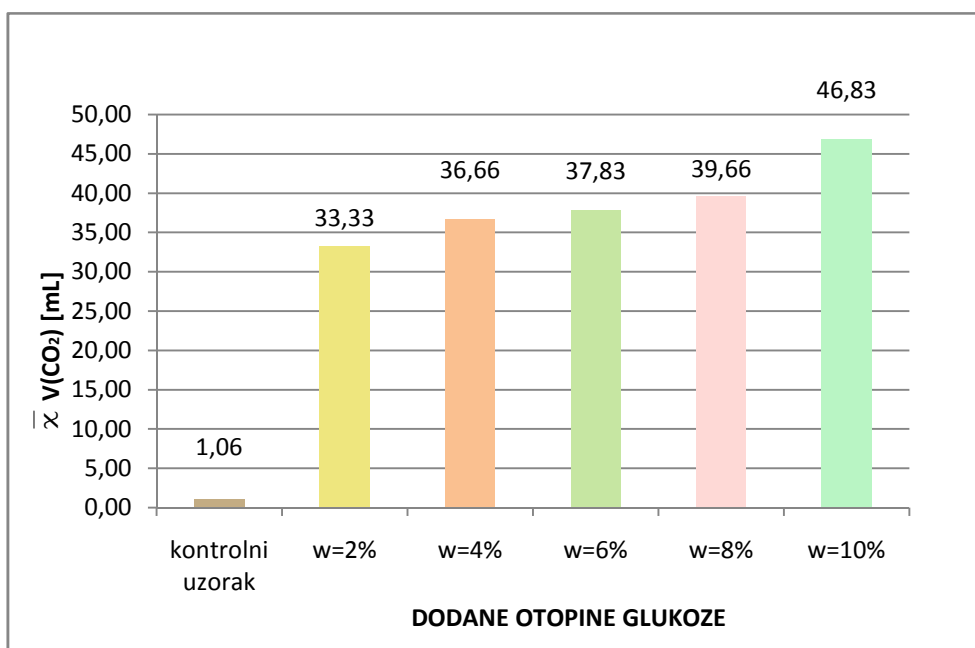


**Slika 2** - Grafički prikaz usporedbe prosječnih vrijednosti odmjerenih volumena ugljikova(IV) oksida kontrolnog uzorka s uzorcima s dodanim otopinama ugljikohidrata i saharina masenog udjela 6%

### 1.3. Rezultati serija uzoraka različitih masenih udjela glukoze

Na slici 3 prikazane su prosječne vrijednosti prikupljenih volumena ugljikova(IV) oksida u serijama s postupnim povećanjem masenog udjela glukoze. Rezultati sva tri mjerenja u pojedinoj seriji vidljivi su u prilogu 2.

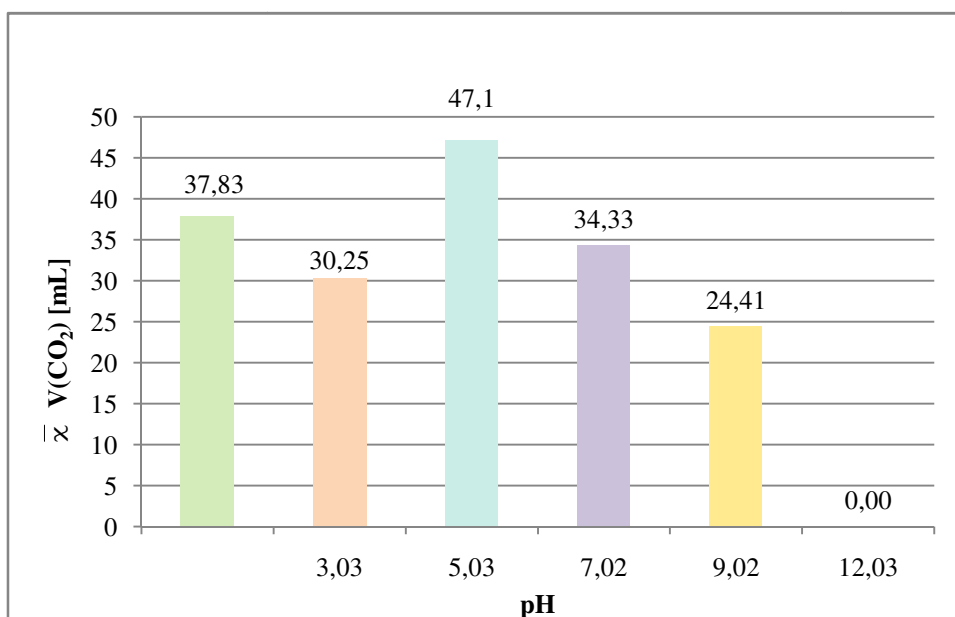
Iz slike 3 uočljivo je da se srednje vrijednosti odmjerenih volumena plina povećavaju sukladno povećanju udjela glukoze u uzorku.



**Slika 3** - Grafički prikaz usporedbe prosječnih vrijednosti odmjerenih volumena ugljikova(IV) oksida [mL] u uzorcima s dodanim otopinama glukoze različitog masenog udjela (w=2%, 4%, 6%, 8%, 10%)

### 1.4. Rezultati utjecaja promjene pH vrijednosti na intenzitet alkoholnog vrenja

Nakon što su odmjereni svi volumeni ugljikova(IV) oksida u serijama s dodanim otopinama glukoze (w=6%) različitih pH vrijednosti, isti su popisani (prilog 3), a njihove srednje vrijednosti uspoređene su s kontrolnim uzorkom (slika 4). Kontrolnom uzorku bez dodatka kiseline ili baze pH vrijednost iznosi 6,05. Iz usporedbe prosječnih volumena (slika 4), vidljivo je da je najviše ugljikova(IV) oksida oslobođeno pri pH 5,03, tj. nižem pH od kontrolnog uzroka, a najmanje pri pH 12,03.



**Slika 4** - Grafički prikaz usporedbe prosječnih vrijednosti odmjerenih volumena ugljikova(IV) oksida [mL] u uzorcima s dodanom otopinom glukoze (w=6%) različitih pH vrijednosti (pH = 3,03; 5,03; 7,02; 9,02; 12,03 ) s kontrolnim uzorkom (pH = 6,05)

#### 1.4. Rezultati dokazivanja ugljikova(IV) oksida

Uvođenjem mjehurića plina koji su nastajali u uzorcima u vapnenu vodu ( $\text{Ca}(\text{OH})_2(\text{aq})$ ) uočili smo zamućenje u epruveti od nastalog bijelog taloga (slika 5).



**Slika 5** – Dokazivanje ugljikova(IV) oksida uvođenjem u vapnenu vodu

## 5. RASPRAVA

Arroyo-López i sur. (2009) navode da se kvaščeve gljivice najbolje razvijaju u mediju s fruktozom, galaktozom, glukozom i maltozom te u medijima sa saharozom, ali ne pokazuju aktivnost u mediju s laktozom i celubiozom. Nadalje, navode i podatak da je intenzitet vrenja proporcionalan koncentraciji navedenih ugljikohidrata. Naši rezultati za uzorke u koje su dodane otopine fruktoze, glukoze i saharoze potvrđuju rezultate budući da je volumen oslobođenog ugljikova(IV) oksida značajno veći od kontrolnog uzorka bez dodanih otopina navedenih ugljikohidrata (prilog 1). Nadalje, rezultati istraživanja utjecaja povećanja koncentracije (prilog 2) sukladna su podacima istraživanja koje su proveli Arroyo-López i sur. (2009) koji navode da je utjecaj koncentracije ugljikohidrata upravo proporcionalan.

Utjecaj saharina na intenzitet alkoholnog vrenja značajno je manje istražen od utjecaja ugljikohidrata. Peršić (1986) navodi da saharin inhibira pupanje kvaščevih gljivica time sprječavajući nesporno razmnožavanje. U našem istraživanju volumen oslobođenog ugljikova(IV) oksida u uzorku s dodanom otopinom saharina bio je vrlo sličan kontrolnom uzorku budući da kvaščeve gljivice ne mogu metabolizirati saharin.

Literaturni podaci o utjecaju pH na alkoholno vrenje nisu ujednačeni. Tako Lin i sur. (2012) određujući masenu koncentraciju oslobođenog etanola navode da se intenzitet alkoholnog vrenja smanjuje pri pH manjem od 4, a povećava pri pH većem od 5. Navode pH 5 kao optimalnu pH vrijednost. Prema istraživanju koje su proveli Togarepi i sur. (2012) alkoholno vrenje je najintenzivnije pri pH 6 s postupnim smanjenjem intenziteta povećavajući kiselost ili lužnatost. Navode da je najnepovoljniji pH 2. Prema našem istraživanju optimalna pH vrijednost je pH 5, a intenzitet vrenja se značajnije smanjuje povećanjem lužnatosti nego povećanjem kiselosti. Prema našim podacima (prilog 3), pH 12 je vrijednost pri kojoj kvaščeve gljivice ne pokazuju metaboličku aktivnost. Kako bismo još preciznije odredili optimalan pH potrebno je proširiti istraživanje ciljajući na više uzoraka pri pH vrijednostima 4 – 7.

Pri dokazivanju ugljikova(IV) oksida uvođenjem u vapnenu vodu ( $\text{Ca}(\text{OH})_2(\text{aq})$ ) nastaje bijeli talog kalcijevog karbonata ( $\text{CaCO}_3(\text{s})$ ) što je sukladno literaturnim primjerima (Holenda i Sikirica, 2006).

## 6. ZAKLJUČCI

- Glukoza, fruktoza i saharoza ubrzavaju metabolizam kvašćevih gljivica.
- Hipoteza da dodatkom monosaharida nastaje veći volumen ugljikova(IV) oksida u usporedbi s ostalim ugljikohidratima nije potvrđena. Saharoza najbolje djeluje na intenzitet metabolizma kvašćevih gljivica.
- Kvašćeve gljivice sintetiziraju enzim invertazu (saharazu) za hidrolizu  $\alpha$ -1,6-glikozidnih veza u molekulama saharoze.
- Nastali volumen ugljikova(IV) oksida proporcionalan je povećanju koncentracije otopine glukoze.
- Dodatak otopine laktoze u suspenziju kvasaca ne utječe na intenzitet alkoholnog vrenja jer kvašćeve gljivice ne mogu sintetizirati enzim laktazu za hidrolizu  $\beta$ -1,4-glikozidne veze u molekulama laktoze.
- Kvašćeve gljivice ne mogu sintetizirati enzim  $\beta$ -amilazu za hidrolizu  $\alpha$ -1,6-glikozidnih veza te  $\gamma$ -amilazu za hidrolizu  $\alpha$ -1,4 i  $\alpha$ -1,6-glikozidnih veza u škrobu pa iste ne mogu metabolizirati škrob.
- Kvašćeve gljivice ne mogu metabolizirati saharin pa on nema utjecaja na alkoholno vrenje.
- Hipoteza da smanjenje i povišenje pH vrijednosti smanjuje intenzitet alkoholnog vrenja nije potvrđena. Najveći intenzitet alkoholnog vrenja postiže se snižavanjem pH vrijednosti na 5,03.
- Najmanji intenzitet alkoholnog vrenja je pri pH vrijednosti 12,03.
- Alkoholnim vrenjem nastaje ugljikov(IV) oksid.

## 7. SAŽETAK

Kako bismo započeli istraživanje pripremili smo suspenziju kvasaca te otopine ugljikohidrata i saharina masenog udjela 6%.

U prvom dijelu istraživanja pripremljenu suspenziju kvasaca smo razdijelili u tri epruvete po 10 mL suspenzije što predstavlja tri mjerenja kontrolnog uzorka. Sastavili smo aparaturu za skupljanje plinova. Nastali ugljikov(IV) oksid skupljali smo 30 minuta nakon prvog uočenog mjehurića. Nakon 30 minuta očitali smo volumen nastalog plina.

U dijelu istraživanja utjecaja ugljikohidrata (glukoze, fruktoze, saharoze i škroba) i saharina u svaku seriju od tri mjerenja dodali smo 10 mL suspenzije kvasaca te 6 mL pripadajuće otopine ( $w=6\%$ ) po epruveti. U svakoj seriji po tri mjerenja prikupljali smo oslobođen plin tijekom 30 minuta u menzuru uronjenu u kadicu s vodom.

U trećem dijelu istraživanja pripremili smo otopine glukoze ( $w=2\%$ ,  $w=4\%$ ,  $w=6\%$ ,  $w=8\%$ ,  $w=10\%$ ) te smo za svake otopine odradili tri mjerenja koristeći istu aparaturu skupljajući ugljikov(IV) oksid 30 minuta. Plin smo dokazali uvođenjem u vapnenu vodu pri čemu nastaje bijeli talog kalcijevog karbonata.

U četvrtom dijelu istraživanja smo pripremili pet uzoraka s 30 mL suspenzije kvasca u koje smo dodali 16 mL otopine glukoze ( $w=6\%$ ). Uzorke smo stabilizirali na  $pH \approx 3, 5, 7, 9, 12$ . pomoću 0,1 M HCl(aq) ili NaOH(aq) ( $w=10\%$ ). 16 mL tako pripremljenih suspenzija smo ulili u tri epruvete te smo 30 minuta prikupljali oslobođeni plin.

Nastali volumen ugljikova(IV) oksida proporcionalan je koncentraciji dodanih otopina suspenziji kvasaca. Glukoza, fruktoza i saharoza ubrzavaju metabolizam kvašćevih gljivica, dok otopine škroba i saharina ne ubrzavaju metabolizam kvašćevih gljivica. Otopina saharoze najviše ubrzava alkoholno vrenje. Najveći intenzitet alkoholnog vrenja je pri pH vrijednosti 5,03, a najmanji pri pH 12,03. Hipoteza da smanjenje i povišenje pH vrijednosti smanjuje intenzitet alkoholnog vrenja nije potvrđena kao niti hipoteza da monosaharidi najpovoljnije utječu na intenzitet alkoholnog vrenja. Ostale hipoteze su potvrđene.

## 8. POPIS LITERATURE

- Arroyo-López F.N., Orlić S., Querol A., Barrio E. 2009. Effects of temperature, pH and sugar concentration on the growth parameters of *Saccharomyces cerevisiae*, *S. kudriavzevii* and their interspecific hybrid. *International Journal of Food Microbiology* 131: 120-127.
- Dolenc Z., Rusak G. 2010. Gljive mješinarke, Odak M. (ur), Živi svijet 2 – udžbenik za drugi razred gimnazije, Profil international, Zagreb, str. 84-86
- Lin Y., Zhang W., Li C., Sakakibara K., Tanaka S., Kong H. 2012. Factors affecting ethanol fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742. *Biomass and Bioenergy* 30: 1-7.
- Peršić L. 1986. Effect of saccharin on the meiotic division of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutation Research Letters*. 174: 195-197
- Sikirica M., Holenda K. 2006. Kemija istraživanjem, Sikirica M. (ur), Školska knjiga, Zagreb.
- Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. 2002. Glycolysis and Gluconeogenesis, Stryer L. (ur), *Biochemistry* 5th edition, W. H. Freeman, New York, str. 643-689.
- Togarepi E., Mapiye C., Muchanyereyi N., Dzomba P. 2012. Optimisation of Fermentation Parameters for Ethanol Production from *Zizipus mauritiana* Fruit Pulp Using *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Biochemistry Research & Review* 2: 60-69.
- Voet D., Voet J.G. 2011. Glycolysis, Recta P. (ur.) *Biochemistry* 4th edition, Wiley, New York, str. 616-620.

## 9. PRILOZI

**Prilog 1** - Prikaz odmjerenih volumena ugljikova(IV) oksida [mL] uzoraka s dodanim otopinama ugljikohidrata i saharina za sva tri mjerenja (1, 2, 3) te prosječne vrijednosti odmjerenih volumena ugljikova(IV) oksida [mL] ( $\bar{\chi}$ )

	dodane otopine (w=6%)	glukoza	fruktoza	saharoza	laktoza	škrob	saharin
mjerenja	1	35,00	33,00	39,00	0,75	0,75	0,75
	2	32,50	35,75	42,00	1,25	1,00	0,50
	3	46,00	38,00	38,75	0,3	0,50	0,75
	$\bar{\chi}$	37,83	35,58	40,16	0,76	0,83	0,66

**Prilog 2** - Prikaz odmjerenih volumena ugljikova(IV) oksida [mL] u uzorcima s dodanim otopinama glukoze različitih masenih udjela za sva tri mjerenja (1, 2, 3) te prosječne vrijednosti odmjerenih volumen ugljikova(IV) oksida [mL] ( $\bar{\chi}$ )

	dodana otopina glukoze – w [%]	2	4	6	8	10
mjerenja	1	34,25	37,50	35,00	36,5	48,5
	2	34,00	36,00	32,50	43,00	49,00
	3	34,25	36,50	46,00	39,50	43,00
	$\bar{\chi}$	33,33	36,66	37,83	39,66	46,83



**Prilog 3** - Prikaz odmjerenih volumena ugljikova(IV) oksida [mL] u uzorcima različitih pH vrijednosti s dodanom otopinom glukoze (w=6%) za sva tri mjerenja (1, 2, 3) te prosječne vrijednosti odmjerenih volumena ugljikova(IV) oksida [mL] ( $\bar{\chi}$ )

	pH	6,05 (kontrolni uzorak)	3,03	5,03	7,02	9,02	12,03
mjerjenja	1	35,00	29,00	47,55	33,00	21,25	0,00
	2	32,50	28,75	49,25	36,00	25,00	0,00
	3	46,00	33,00	44,50	34,00	27,00	0,00
	$\bar{\chi}$	37,83	30,25	47,10	34,33	24,41	0,00