Aromatski i fenolni sastojci u autohtonim armenskim vinima

Perić, Anita

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:666512

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Anita Perić

AROMATSKI I FENOLNI SASTOJCI U AUTOHTONIM ARMENSKIM VINIMA

DIPLOMSKI RAD

Osijek, prosinac, 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za prehrambene tehnologije
Katedra za prehrambeno inženjerstvo
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij prehrambenog inženjerstva
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Tehnologija vina
Tema rada je prihvaćena na VIII redovnoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2017./2018. održanoj 16. travnja 2018. godine
Mentor: izv.prof.dr.sc. Anita Pichler
Pomoć pri izradi: Ivana Ivić, mag. ing., asistent

Aromatski i fenolni sastojci u autohtonim armenskim vinima

Anita Perić, 439-DI, 2018.

Sažetak:

Vino se ubraja u najstarije poljoprivredno prehrambene proizvode, a Armenija, u najstarije zemlje na svijetu s razvijenim vinogradarstvom i vinarstvom. Armenija ima veliku genetičku raznolikost sorti vinove loze. Jedan od najznačajnijih pokazatelja raznolikosti sorte vinove loze i vina je aroma. Aromatični spojevi, koji se nalaze u grožđu, prelaze u vino, reagiraju međusobno ili s nekim drugim kemijskim spojevima i pri tome vinu daju tzv. primarnu aromu. Sekundarna i tercijarna aroma nastaju tijekom fermentacije mošta ili masulja, i tijekom odležavanja vina. Cilj ovog rada je ispitati utjecaj autohtone sorte vinove loze na aromatske i fenolne sastojke crnih vina iz armenskih vinogorja. U tu svrhu uzeti su uzorci crnih vina Areni, Avagi, Movsesi, Seyrak Areni i Tozot. Rezultati analize autohtonih armenskih vina pokazali su da najveći udio ukupnih antocijana i najveću antioksidacijsku aktivnost sadržavalo vino Areni, dok je najveći broj tvari arome dokazan u vinu Seyrak Areni.

Ključne riječi: vina Armenije, tvari arome, antocijani, antioksidacijska aktivnost

Rad sadrži: 59 stranica
18 slika
5 tablica
36 literaturnih reference

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1.	prof. dr. sc. Mirela Kopjar	predsjednik
2.	izv. prof. dr. sc. Anita Pichler	član-mentor
3.	prof. dr. sc. Nela Nedić Tiban	član
4.	doc. dr. sc. Ante Lončarić	zamjena člana

Datum obrane: 20. 12. 2018.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty oF Food Technology Osijek
Department of Food Technologies
Subdepartment of Food Engineering
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program: Food engineering
Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Wine technology
Thesis subject was approved by the Faculty Council of the Faculty od Food Technology Osijek at its extraordinary session no. VIII. held od April 16, 2018.
Mentor: Anita Pichler, PhD, associate prof.
Technical assistance: Ivana Ivić, Master of Food Engineering

Aromatic and phenolic compounds in atochthonous Armenian wines

Anita Perić, 439-DI, 2018.

Summary:

Wine is one of the oldest agri-food products, and Armenia, is one of the oldest countries in the world with developed vineyards and winemaking. Armenia has a great genetic diversity of grape varieties. One of the most important indicators of grape varietiy and wine is the aroma. Aromatic compounds that are found in grapes pass into wine, react with each other or with other chemical compounds and they give the so-called primary aroma. The secondary and tertiary aroma are produced during fermentation of the must or the mullet, and during the aging of the wine. The aim of this paper is to examine the influence of autochthonous grape varieties on aromatic and phenolic constituents of red wines from Armenian vineyards. For this purpose, samples of red wine varieties Areni, Avagi, Movsesi, Seyrak Areni and Tozot were analyzed. The analysis of the autochthonous Armenian wines showed that the highest share of total anthocyanins and the highest antioxidant activity was found in Areni wine, while the largest number of aroma compounds has been identified in the Seyrak Areni wine.

Key words: Armenian wine, aroma components, anthocyanins, antioxidant activity

Thesis contains:	59	pages
	18	figures
	5	tables
	36	references

Original in: Croatian

Defense committee:

1. Mirela Kopjar,PhD, full prof.	chair person
2. Anita Pichler, PhD, associate prof.	supervisor
3. Nela Nedić Tiban, PhD, full prof.	member
4. Ante Lončarić, PhD, assistant prof.	stand-in

Defense date: December 20, 2018.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek

Prije svega zahvaljujem se svojim roditeljima koji su mi omogućili ovo školovanje.

Također hvala svim kolegama i kolegicama koji su mi uljepšali studentske dane.

Zahvaljujem se i mentorici izv. prof. dr.sc. Aniti Pichler na uloženom trudu, vremenu, strpljenju i pomoći oko izrade ovog rada, kao i asistentici Ivani Ivić.

Sadržaj

1. UVOD 1
2. TEORIJSKI DIO 3
2.1. GROŽĐE 4
2.1.1. Podrijetlo i botanička svojstva vinove loze 4
2.1.2. Mehanička i kemijska svojstva grožđa 4
2.2 VINO 7
2.2.1. Definicija i kemijski sastav 7
2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA 9
2.3.1. Ugljikohidrati 9
2.3.2. Alkoholi 9
2.3.3. Kiseline 11
2.3.4. Esteri 12
2.3.5. Fenolne tvari 13
2.3.6. Antocijani 15
2.3.7. Tanini 17
2.3.8. Aroma vina 18
2.3.9. Enzimi 19
2.3.10. Mineralne tvari (pepeo) 19
2.3.11. Antioksidacijska stabilnost 19
2.4. PROIZVODNJA CRNIH VINA 20
2.4.1. Berba grožđa 21
2.4.2. Muljanje i ruljanje 23
2.4.3. Akoholna fermentacija 24
2.4.4. Malolaktična fermentaciija 26
2.4.5. Filtracija, stabilnost i njega vina 27
2.5. ANALIZA AROMATSKIH TVARI 28
2.5.1. Plinska kromatografija 28
2.5.2. Spektrofotometar 31
2.5.3. SPME spektar 32
3. EKSPERIMENTALNI DIO 33
3.1. ZADATAK RADA 34
3.2. MATERIJALI I METODE 34
3.2.1. Određivanje sadržaja antocijana 36
3.2.2. Određivanje antioksidacijske aktivnosti 37
3.2.4. Analiza arome vina plinskom kromatografijom primjenom SPME analize 38
4. REZULTATI 42
5. RASPRAVA 50
6. ZAKLJUČAK 54
7. LITERATURA 56

Popis oznaka, kratica i simbola

SPME	Solid Phase Microextraction (mikroekstrakcija na čvrstoj fazi)
GC	Plinska kromatografija
GC/MS	Plinska kromatografija s maseno-selektivnim detektorom

1. UVOD

Armenija je jedna od najstarijih zemalja na svijetu, koja postoji još iz doba Babilona. Armenija ima veoma plodnu zemlju, a pri tome je vinogradarstvo jedno od najvažnijih grana armenske poljoprivrede. Proizvodnja vina predstavlja važan doprinos gospodarstvu Armenije. Autor B. Pyotrovsky otkrio je da se u Armeniji vinogradarstvo i vinarstvo počelo razvijati još u 7. stoljeću. Isto tako tijekom iskopavanja špilje Areni-1 u Armeniji otkriven je prvi najstariji stroj za proizvodnju vina. Znanstvenici su utvrdili da je stroj za proizvodnju vina star 6000–8000 g. prije Krista. Armenija proizvodi više od 50 vrsta vina i 7 brendova šampanjca i pjenušavih vina. Armenija ima velik broj autohtonih sorti grožđa kao što su Areni, Tozot, Itsaptouk, Nazeli, Voskehat, Khrdy chakat, Vardagouyn Yerevani, Degin Yerevani, Marmary, Mskhaly, Karmir Kakhnay i dr. (Aroutionian i sur., 2015.; Dallakyan i sur., 2014.; Scannell).

Armenske sorte grožđa imaju veliku genetičku raznolikost. Studiji su proučavali raznolikost Armenskih vinovih loza, sortu Vitis. Proučavanje se provodilo u Znanstvenom centru za uzgoj voća, pri čemu je analizirana genetička povezanost između Armenskih vinovih loza s registriranim internacijonalnim europskim sortama *Vitis*. Pri analizi 59 uzoraka sorte *Vitis* iz Armenije, rezultati su pokazali da je 20 uzoraka s istim genotipovima, 5 uzoraka koji su identificirani su homonimi, a 28 uzorka su jedinstveni (Dallakyan i sur., 2015.; Dallakyan i sur., 2014.).

Armenska vina su bogata polifenolima. Koncentracija fenolnih tvari u grožđu ovisi prvenstveno o raznolikosti vinove loze, klimatskim i okolišnim faktorima (Margaryan i sur., 2014.; Margaryan i sur., 2015.).

2. TEORIJSKI DIO

2.1. GROŽĐE

2.1.1. Podrijetlo i botanička svojstva vinove loze

Vinova loza *Vitis vinifera* je jedna od najstarijih kultiviranih biljnih vrsta. *Vitis vinifera* je predstavnik roda Vitis, stoga je rod *Vitis* relativno velik, koji sadrži nekoliko desetaka vrsta od kojih je više od polovice vezano za Sjevernu Ameriku, a ostale vrste su vezane za Istočnu Aziju. Izuzetak roda *Vitis* je vrsta *Vitis vinifera* koja je predstavnik Europe i zapadne Azije pa se zbog toga još naziva euroazijska loza. Samo pripadnici euroazijske vrste mogu nositi naziv vinova loza (Andabak, 2017.).

Smatra se da je vrsta *Vitis vinifera* nastala tijekom ledenog doba, a rod Vitis je preživjeo jer je bio izoliran i odvojen od leda. Pri izolaciji i različitih vremenskim uvjeta je došlo do evolucije različitih vrsta. S obzirom da je hrvatsko područje većim dijelom prirodno stanište šumske loze *Vitis sylvestris*, može se predpostaviti da su plodovi loze *Vitis sylvestris* bili hrana našim davnim predcima (Andabak, 2017.).

Euroazijska vrsta (*Vitis vinifera*) se dijeli na *Vitis vinifera* var. *silvestris* (europska divlja loza) i *Vitis viniferu* var. *sativa* (europska kulturna loza) (Spajić, 2017.).

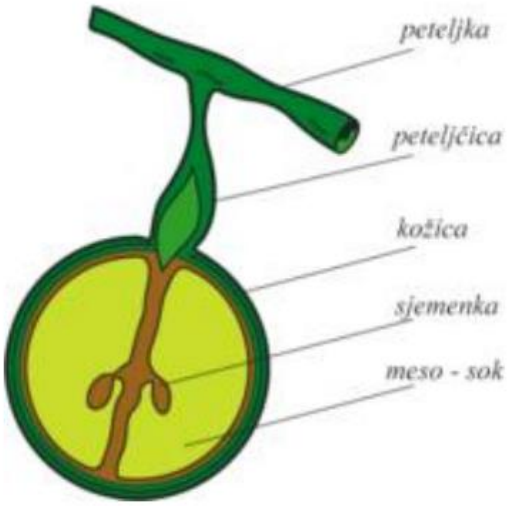
Vitis sylvestris, tzv. šumska loza ima mali rastresit grozd sa sitnim bobicama, uglavnom crne boje. Nalazi se u umjerenom pojasu Europe i zapadne Azije (Andabak, 2017.).

2.1.2. Mehanička i kemijska svojstva grožđa

Prema Zakonu o vinu grožđem se podrazumijeva zdrav, zreo, prezreo, prosušen ili prirodno smrznut plod vinove loze, priznatih kultivara namijenjen proizvodnji vina ili drugih proizvoda od grožđa i vina, a čiji sok sadrži minimalnu količinu šećera od 64 ^{o}Oechsla (NN 96/2003.).

Grožđe je jedina i osnovna sirovina za proizvodnju vina. Za proizvodnju kvalitetnih i vrhunskih vina nije bitna samo sorta grožđa koja se koristi za proizvodnju, nego ovise i klimatski uvjeti, vrsta zemljišta, stupanj zrelosti grožđa, zdravstveno stanje loze i grožđa i dr**.** (Prce, 2014.).

Grozd se sastoji od peteljke i bobica. Bobica se sastoji od pokožice, sjemenke, mesa s grožđanim sokom (**Slika 1**).



Slika 1 Presjek bobice grožđa (Molnar, 2017.)

Peteljka predstavlja osnovni skelet grožđa na kojem se nalaze bobice. Tijekom vegetacije, peteljka je zelene boje, i tada se preko peteljke sprovode hranjive tvari iz čokota u bobice grožđa. U stadiju pune zrelosti, peteljka mijenja boju, stoga nije više zelena nego prelazi u smeđu boju i počinje odrvenjavati. U toj fazi peteljka smanjuje ili potpono prestaje sprovoditi hranjive tvari iz čokota u bobice grožđa (Radovanović, 1986.).

Po kemijskom sastavu peteljka je vrlo slična listu vinove loze. Peteljka sadrži vrlo malo šećera, svega 10 g/kg. Peteljka se očituje vrlo niskim aciditetom, a to je bitno kod proizvodnje crnih vina, jer prisustvo peteljke u masulju smanjuje kiselost. U peteljci je prisutan velik udio polifenola. Zbog prisustvo peteljke u masulju pri proizvodnji crnih vina, crna vina su bogatija polifenolima od bijelih. Zbog kemijskog sastava peteljke, veoma je bitno koji i kakvi strojevi će se primjenjivati pri preradi grožđa. Strojevi koji tjekom prerade grožđa više oštećuju peteljku ili je gnječe, njeni sastojci će više prelaziti u vino i tada imaju znatno veći utjecaj na okus i kvalitetu vina, jer su takva vina najčešće opora i trpka. Većim gnječenjem peteljke, voda iz peteljke više prelazi u vino i pri tome ga razblažuje (Radovanović, 1986.).

Odnos peteljke i bobica u grožđu je veoma bitan, jer prisustvo veće količine peteljke smanjuje radman mošta i vina.

Bobica je glavni dio grožđa i sastoji se od pokožice, mesa i sjemenke. Bobica služi za jelo u svježem ili prosušenom stanju ili za preradu u vino ili druge proizvode. Bobica tijekom vegetacije je zelene boje, tada je u bobici prisutan velik udio kiselina, a veoma mali udio šećera. Bobice tijekom vegetacije same obavljaju proces fotosinteze, i postupno mijenjaju boju iz zelene u žutu, crvenkastu ili plavu boju. Tada se u bobicama postupno mijenja udio kiselina i šećera, udio kiselina se smanjuje, a udio šećera u bobicama postupno raste. Neka grožđa se razlikuju po krupnoći bobica. Grožđe sa sitnim bobicama se najčešće koristi za proizvodnju kvalitetnih i vrhunskih vina, a grožđe s krupnim bobicama se najčešće koristi za proizvodnju stolnih vina. Grožđe s krupnim bobicama je grožđe visokog prinosa ali male kvalitete, te se zbog toga najčešće koristi za proizvodnju stolnih vina. Kod bobica je bitna i čvrstoća pokožice zbog transporta grožđa do vinarija, jer tijekom transporta dolazi do pucaja pokožice i gnječenja bobica i dolazi do izlijevanja soka grožđa. Ako je duži transport grožđa, a visoke temperature, pri gnječenju, pucanju pokožice i izlijevanju grožđanog soka može doći do početka fermentacije ili oksidacije (Radovanović, 1986.).

Pokožica je vanjski dio bobice, koji oblaže meso. U pokožici se nalaze veoma bitni kemijski sastojci koji utječu na kvalitetu i daju okus, aromu i boju vinu. Na površini pokožice nalazi se voštani sloj koji štiti kožicu od isušivanja (Prce, 2014.).

Meso je glavni dio bobice grožđa, meso bobice se sastoji od velikih stanica s membranom, čija unutrašnjost je ispunjena grožđanim sokom, tj. moštom. Meso po kemijskom sastavu najviše sadrži vode 75-80%, zatim šećera 10-27%, 0,5-1% kiselina, 0,3-1% mineralnih tvari, 0,3-0,65% celuloze, 0,1-0,4% tanina i 0,02-0,15% dušičnih tvari (Spajić, 2017.; Radovanović, 1986.).

Mehanička svojstva grožđa obuhvataju:

- sastav grožđa (srednja težina grožđa, broj bobica u grozdu, težina bobice i peteljke),
- sastav bobice (težina 100 bobica, težina 100 sjemenki, težina mesa u 100 bobica, broj sjemenki u 100 bobica, težina pokožice u 100 bobica, težina sjemenki u 100 bobica, pokazatelj sastava bobica – odnos težine mesa bobice prema težini pokožice),

- struktura grozda (% peteljki u grožđu, % pokožice u grožđu, % sjemenke u grožđu, % mesa u grožđu.

Aromatični sastojci grožđa se ne nalaze samo u pokožici, nego i u mesu grožđa (Radovanović, 1986.).

Šećeri u grožđu, kao i u svim biljkama, nastaju fotosintezom. Djelovanjem sunčeve energije, uz prisutnost ugljikovog dioksida i pomoću klorofila, na listu i bobici nastaje škrob koji se konvertira u šećer. Na količinu nastalog šećera utječe sorta, stupanj zrelosti, klimatski uvjeti, bolest, štetnici i dr. (Mačinković, 2017.; Ribereau-Gayon i sur., 2006.).

Najvažniji šećeri i s najvećim udjelom su heksoze D-glukoza i D-fruktoza. Na početku dozrijevanja grožđa više je glukoze, ali se sazrijevanjem i djelovanjem epimeraze odnos mijenja u korist fruktoze. Šećeri su jedan od indikatora zrelosti grožđa, koji se kontrolira prije branja. Mjerenje udjela šećera u moštu, odnosno grožđu provodi se mjernim instrumentima. Mjerni instrumenti koji se koriste su refraktometar ili moštna vaga (Oechslova i Baboova). Refraktometar je najprimjenjiviji instrument u vinogradima za mjerenje udjela šećera u bobicama, jer je mali I lako prenosivi instrument, pri tome se direktno očitava udio šećera u bobicama. Za određivanje udjela šećera potrebno je par kapi grožđanog soka. Moštna vaga se više primjenjuje u laboratorijima jer je veći instrument. Za određivanje udjela šećera u moštu je potrebna veća količina uzorka, dok je za refraktometar dovoljno par kapi.

Ukupna koncentracija glukoze i fruktoze u zrelom grožđu iznosi od 150 do 250 g/l, a može biti i veća u slučaju prezrelog ili prosušenog grožđa (Ribereau-Gayon i sur., 2006.).

2.2 VINO

2.2.1. Definicija i kemijski sastav

Prema Zakonu o vinu, vino je poljoprivredni prehrambeni proizvod dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta, od svježeg i za preradu u vino pogodnog grožđa (NN 96/2003.).

Prema Zakonu o vinu, vina se dijele prema:

1. Vina u užem smislu riječi:
    - mirna vina,
    - pjenušava vina,
    - biser vina,
    - gazirana vina.

2. Specijalna vina:
    - desertna vina,
    - aromatizirana vina,
    - likerska vina.

3. Prema boji, vina se dijele na:
    - bijela,
    - ružičasta (rose, opolo),
    - crna (crvena).

4. Prema sadržaju neprevrelog šećera vina se dijele:
    - mirna vina na: suha, polusuha, poluslatka i slatka,
    - pjenušava, biser i gazirana vina na: vrlo suha, suha, polusuha, poluslatka i slatka.

Prema kakvoći, mirna vina se dijele na:

1. Stolna vina:
    - stolno vino bez oznake zemljopisnog podrijetla,
    - stolno vino s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom.

2. Kvalitetna vina:
    - kvalitetno vino s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom.

3. Vrhunska vina:
    - vrhunsko vino s kontroliranim i ograničenim vinorodnim područjem,
    - vrhunsko vino s kontroliranim i ograničenim specifičnim vinorodnim područjem,
    - predikatna vina s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom (NN, 96/2003.).

2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA

2.3.1. Ugljikohidrati

Šećer je osnovni sastojak grožđa, te na osnovu koncentracije šećera i kiselina određuje se tehnološka vrijednost i stupanj zrelosti grožđa.

Najzastupljeniji šećeri u moštu i vinu su heksoze, D-glukoza i D-fruktoza. Udio šećera u moštu ovisi o sorti grožđa, okolinskim i vremenskim uvjetima. Visokokvalitetne sorte mogu imati od 22 do 28% šećera, a kvalitetne sorte imaju 18-22% šećera (Prce, 2014.).

Grožđe osim glukoze i fruktoze sadrži i druge šećere, kao što su pentoze. Pentoze su prisutne u crnim vinima u vrlo malim količinama (0,3-2 g/l), i pri tome ne utječu na slatkoću vina, jer je njihov indeks slatkoće 0,4 (Ribereau-Gayon i sur 2006.).

Od oligosaharida u vinu su prisutni disaharidi saharoza, maltoza, rafinoza i melibioza, osim saharoze koja je najbitnija, ostali se nalaze samo u tragovima. Pored oligosaharida, potrebno je istaknuti pektine i škrob te sluzave tvari koje su prisutne u vinu, a znatno otežavaju taloženje i bistrenje (Prce, 2014.).

2.3.2. Alkoholi

Osim vode, alkohol je jedna od najzastupljenijih komponenti koja se nalazi u vinu. Količina alkohola u vinima se izražava u volumnim udjelima. Etanol (C_2H_5OH), u vinu mora isključivo potjecati iz alkoholne fermentacije. Fermentacijom šećera uz prisustvo kvasca nastaje etanol. U iznimnim slučajevima, koji su propisani Zakonom o vinu, ako su jako kišne godine ili sl. dozvoljeno je dodavati određenu količinu saharoze koja je potrebna za alkoholnu fermentaciju. Dodavanje saharoze je dozvoljeno samo za određenu skupinu vina, jer npr. za proizvodnju vrhunskih vina nije dozvoljeno dodavanje saharoze. Za proizvodnju 1 volumnog postotka

alkohola potrebno je oko 16 g/l šećera. Male količine alkohola mogu nastati i u stanicama grožđa u anaerobnim uvjetima pod utjecajem enzima alkohol dehidrogenaze.

U vinu se nalazi velik broj raznih vrsta alkohola koji se mogu podijeliti u dvije osnovne skupine: alifatske i aromatske.

Alifatski alkoholi se dijele na monovalentne i viševalentne. Najizraženiji i najzastupljeniji monovalentni alkoholi u vinu su etanol i metanol (Ribereau-Gayon i sur., 2006.).

Metanol je u vinima prisutan u vrlo malim količinama oko 30-35 mg/l, i nema naročit utjecaj na senzorska svojstva vina. Metanol ne nastaje alkoholnom fermentacijom nego se javlja kao nusprodukt enzimatske hidrolize metoksilnih skupina pektina tijekom fermentacije. Najviše metanola ima u crnim vinima 152 mg/l, zatim rose vina koja sadrže oko 91 mg/l, a najmanji udio metanola je u bijelim vinima 63 mg/l. Također, vina od hibridnih sorti imaju više metanola nego ona napravljena od grožđa *Vitis vinifere*. Metanol je veoma otrovan, te nakon kozumirajna, brzo se oksidira do mravlje kiseline ili do aldehida i oba ova spoja su toksična za središnji živčani sustav, a posebno metanolov aldehid koji razara optički živac i može uzrokovati sljepilo (Prce, 2014.; Mačinković, 2017.).

Vina osim monovalentnih alkohola sadrže viševalentne (glicerol, 2-3 butandiol, manit) i više alkohole (izoamil, 1-propanol, izobutanol, amilni alkohol, 2- feniletanol) (Spajić, 2017.).

Viši alkoholi nastaju tijekom alkoholnog vrenja, a neki su sadržani i u bobicama grožđa. Viši alkoholi kao što su: propilni, butilni, amilni, heksilni, heptilni i njihovi izomeri u vinima se nalaze u minimalnim količinama. Viši alkoholi, a prije svega esteri su bitne komponente vina, jer vinima daju posebnu aromu, npr. izoamil acetat mladim vinima daje aromu banane (Ribereau-Gayoni i sur., 2006.; Sokolić, 1993.).

Terpeni spadaju u nezasićene monovalentne alkohole koji imaju važnu ulogu u formiranju arome vina (Prce, 2014.).

Polioli ili viševalentni alkoholi su alkoholi s više hidroksilnih skupina. Najvažniji trovalentni alkohol je glicerol, koji je treći najzastupljeniji spoj u vinima i nastaje tijekom alkoholne fermentacije. Koncentracija glicerola je obično oko 5 g/l, ali može dostići koncentraciju i do 20 g/l, ovisno o koncentraciji šećera u moštu i alkoholnoj fermentaciji. Koncentracija glicerola ovisi i

o koncentraciji alkohola. Ako je manja koncentracija alkohola, bit će i manja koncentacija glicerola u vinu, a ako je veća koncentracija alkohola, bit će veća koncentracija alkohola u vinu. Na koncentraciju glicerola utječe i prisutnost plemenitih plijesni. Grožđe napadnuto plemenitom plijesni, pri proizvodnji vina će biti veća koncentracija glicerola. Glicerol pri visokim temperaturama ne isparava, što znači da glicerol predstavlja suhu tvar vina odnosno ekstrakt vina. Glicerol vinu daje punoću okusa, harmoničnost i mekoću. Pri degustaciji vina, degustatori provjeravaju prisutnost glicerola u vinu, naginjući i ispravljajući čašu, prateći da li se na stijenki čaše pojavljuju uljaste tzv. suze (Sokolić, 1993.).

2.3.3. Kiseline

Prema Zakonu o vinu, vino mora sadržavati najmanje 4,5 g/l, a najviše 14 g/l ukupnih kiselina izraženih kao vinska kiselina (NN 96/ 2003.).

Kiseline koje se nalaze u vinu su: vinska, jabučna, mliječna, octena, askorbinska, oksalna, glikolna i glukonska kisalina.

Na koncentraciju kiselina u grožđu i vinu utječe više faktora, npr. sorta grožđa, klimatski uvjeti, geomorfološki uvjeti, stupanj zrelosti u kojem je grožđe obrano i sl. Koncentracija kiselina u grožđu se mijenja tijekom zrenja bobica. Najveća koncentracija kiseline je na početku sazrijevanja, i ona se povećava do određene granice, nakon čega blago i postupno opada. Smanjenje i opadanje koncentracije kiselina se odvija uslijed oksidacije kiselina. U bobicama može doći i do neutralizacije pojedinih kiselina, tijekom pridolaska pojedinih alkalija iz zemljišta i čokota u grozdove. Vinska kiselina se u grožđu nalazi u visokim koncentracijama, i relativno je jaka kiselina i znatno utječe na pH. Dok su bobice grožđa u fazi zrenja, vinska kiselina se nalazi u slobodnom stanju, sve dok bobice grožđa ne dođu u fazu pune zrelosti, tada vinska kiselina nije u slobodnom stanju, te prelazi u soli vinske kiseline, tj. tartarate (Radovanović, 1986.; Vine i sur., 1999.).

Jabučna kiselina je sastojak velikog broja plodova voća, pa tako i grožđa. Jabučna kiselina je hlapiva kiselina, podliježe oksidaciji, pri čemu nastaju voda i ugljikov dioksid. U prvim fazama sazrijevanja jabučna kiselina dostiže svoj maksimum, koji se kreće između 15 g/l i 25 g/l, dok u fazi pune zrelosti bobica, njena koncentracija iznosi 3-5 g/l.

Jabučna kiselina se dobro otapa u vodi i alkoholu, i ona lako prelazi iz mošta u vino. U vinima, jabučna kiselina je nepostojana i lako podliježe transformacijama utjecajem kvasaca, bakterija mliječno-kiselinskog vrenja. Djelovanjem bakterija mliječno-kiselog vrenja jabučna kiselina prelazi u slabiju kiselinu, tj. mliječnu kiselinu. U godinama kada su lošiji klimatski uvjeti i u sjevernim krajevima vina su kiselija i najzastupljenija je jabučna kiselina. Takva vina su neharmonična i po okusu podsjećaju na zelenu biljku.

Mliječna kiselina u vinima se javlja kao sekundarni produkt alkoholne fermentacije, a nastaje i kao rezultat oksidacije etanola djelovanjem bakterija mliječno-kiselinskog vrenja.

Limunska kisellina se javlja u grožđu i vinu, isto kao vinska i jabučna, samo u znatno manjoj koncentraciji. Tijekom razvoja bobica i faze sazrijevanja koncentracija limunske kiseline se ne mijenja mnogo. U moštu se može naći u koncentraciji oko 0,7 g/l. Limunska kiselina je nepostojana jer vrlo lako podliježe transformacijama djelovanjem bakterija mliječne kiseline (Radovanović, 1986.).

Askorbinska kiselina u vinima ima važnu ulogu u spriječavanju oksidacije fenolnih spojeva (Ribereau-Gayon i sur., 2006.).

Ukupna kiselost u vinima izražava se u gramima po litri kao vinska kiselina, a određuje se postupkom neutralizacije, titracijom s NaOH (Prce, 2014.).

Oktanske i dekanske kiseline se nalaze u vinima, i utječu na tijek alkoholne fermentacije. Oktanske i dekanske kiseline često imaju negativan utjecaj na vina. Mogu djelovati sinergistički s etanolom i pri tome usporavati alkoholnu fermentaciju. Pored toga oktanska i dekanska kiselina inhibiraju transport heksoze, što dovodi do usporavanja ili zaustavljanja alkoholne fermentacije. Rad kvasca S. cerevisiae eksponencijalno ovisi o koncentraciji oktanske i dekanske kiseline. Dekanska kiselina ima jače djelovanje od oktanske kiseline. Na djelotvornost oktanske I dekanske kiseline utječu temperatura i pH (Petravić-Tominac i sur., 2017.).

2.3.4. Esteri

Esteri nastaju reverzibilnom reakcijom između alkohola i kiselina i kemijskom esterifikacijom tijekom dugotrajnog odležavanja i starenja vina. Koncentracija hlapljivih estera u vinu je veoma mala i ona iznosi nekoliko mg/l. Esteri vinima daju svježinu i ugodne arome. Od estera octane

kiseline u vinima su najprisutniji: etil acetat, propil acetat, izopropil acetat, izoamil acetat, izobutil acetat i 2-feniletil acetat. Od estera masnih kiselina, u vinima su najprisutniji: etil propionat, etil heksanoat, etil valerijat, etil oktanoat i etil dekanoat (Spajić, 2017.).

2.3.5. Fenolne tvari

Fenolne tvari imaju velik utjecaj na aromu vina, boju, okus, stabilnost, pored toga fenolni spojevi djeluju kao antioksidansi, imaju vitaminska svojstva i utječu na proces starenja vina. Fenolne tvari imaju antioksidativna svojstva zbog prisutnosti hidroksilnih skupina u molekuli fenola. Hidroksilne skupine su dobri proton donori koji mogu reagirati s reaktivnim oksigenom i nitrogenom, i na taj način spriječiti nastanak novih radikala (Kesić i sur., 2015.).

Fenolni spojevi u grožđu se nakupljaju u sjemenkama i u kožici, količina fenolnih spojeva ovisi o stupnju zrelosti grožđa, sorte grožđa, vinove loze i sl. Glavnu ulogu imaju u enologiji gdje su odgovorne za razlike između crvenih i bijelih vina. Utvrđeno je da fenolni spojevi imaju antioksidativni potencijal, baktericidna, antioksidativna i zdravstvena svojstva, i štite organizam od kardiovaskularnih bolesti (Joscelyne Louise i sur., 2009.; Kesić i sur., 2015.; Vinković-Vrček i sur., 2011.).

Fenolni spojevi su spojevi s cikličkim benzenovim prstenom na koji je vezana jedna ili više hidroksilnih skupina. U bobicama grožđa je identificirano velik broj fenolnih spojeva, pri čemu se oni mogu podijeliti u dvije grupe flavonoidnu i neflavonoidnu. Flavonoidi su skupina kemijskih spojeva male molekularne mase koji se nalaze u grožđu. tj. najčešće su vezani s nekim šećerom. Flavonoidni fenoli su podijeljeni na flavonole, flavanole i antocijane, a neflavonoidi su podijeljeni na fenolne kiseline i njihove estere. Razlika između flavonoida i neflavonoida je u orijentaciji i broju fenolnih podjedinica unutar molekule (Margaryan i sur., 2014.; Joscelyne Louise i sur., 2009.).

Neflavonoidi su komponente koje se nalaze u bobicama grožđa i u vinima. U vinima su identificirane neke neflavonoidne komponente u malim koncentracijama, koje su dospjele u vino iz hrastovih bačvi, u kojem vina odležavaju. Fenoli se nekad javljaju u vezanom obliku za šećere ili antocijane (Joscelyne Louise i sur., 2009.; Cigić, 2016.).

U neflavonoidne fenolne komponente spada i hidroksibenzoeva kiselina koja uključuje p-hidroksibenzoevu kiselinu, siringičnu kiselinu, galnu kiselinu. Hidroksi benzoeve kiseline se nalaze u ligninu hrastovih bačvi (Joscelyne Louise i sur., 2009.).

Flavoni su najvažniji fenolni spojevi koji se nalaze u pokožici bijelog i crnog grožđa, žute su boje. U grožđu se nalazi u obliku hidroksi-3 flavoni ili flavonoli. Flavonoli se u grožđu mogu naći u obliku glukozida i glukozidnom obliku. U pokožici crnog grožđa najzastupljeniji predstavnici flavonola su: monoglukozidi kempferola i miricetina kao i monoglukonorozid kvercetola, izokvercitozid. U crnim vinima su konstatirani aglukonski oblici flavonola, jer glukozidni oblici lako podliježu procesu hidrolize. Flavonoli se nalaze u pokožici kao pigment žute boje. S obzirom da pri proizvodnji bijelih vina, grožđe ne podliježe procesu maceracije nego samo muljanju grožđa i prešanju, u bijelim vinima flavonola nema ili se nalaze u tragovima (Radovanović, 1986.; Joscelyne Louise i sur., 2009.).

Od fenolnih kiselina u grožđu i vinu utvrđene su benzoeve kiseline i cimetne kiseline. Od benzoevih kiselina konstantirane su: p-hidroksibenzoeva, protokatehinska, vanilinska, galna, silicilna, gentizinova kiselina, i dr. Od cimetnih kiselina zastupljene su: p-kumarna kiselina, kafa kiselina i kumarna kiselina. Benzoeve i cimetne kiseline mogu biti slobodne ili u obliku estera. Prisusutvo benzoevih kiselina u vinu nije poznata, te se predpostavlja da su nastale tijekom starenja vina, djelomičnom degradacijom antocijana, dok je cimetna kiselina u vinu poznata i nalazi se vezana s antocijanima i vinskom kiselinom (Radovanović, 1986.).

Tirozol je alkohol fenolne prirode koji se nalazi u vinima, a nastaje tijekom fermentacije iz aminokiseline tirozina, pri čemu ga sintetiziraju kvasci. Tirozol utječe na organoleptička svojstva vina (Radovanović, 1986.).

Za analizu polifenola u vinima, najviše se primjenjuje HPLC (high performance liquid chromatography) metoda. HPLC metoda nije pristupačna za rutinsku analizu, ali se primjenjuje i spektrofotometrijska analiza za analizu ukupnih fenola i antocijana (Margaryan i sur., 2014.).

Fenolni sadržaj u grožđu i vinima prvenstveno ovisi o mjestu vinograda, sustava uzgoja, klime, vrste tla, vremenu berbe, proizvodnog procesa, uvjetima skladištenja i starenja vina (Artak i sur., 2018.).

Poznato je da u armenska vina s najvećim sadržajem ukupnih fenola spada vino Tozot (Margaryan i sur., 2014.).

U Armeniji su analitičari napravili analizu ukupnih fenolnih tvari u armenskim sortama grožđa u kožici i u sjemenkama grožđa (**Tablica 1**). Iz dobivenih rezultata vidljiv je ukupni sadržaj fenolnih tvari u kožici grožđa i u nekim sortama dvostruko veći u odnosu na sjeme grožđa.

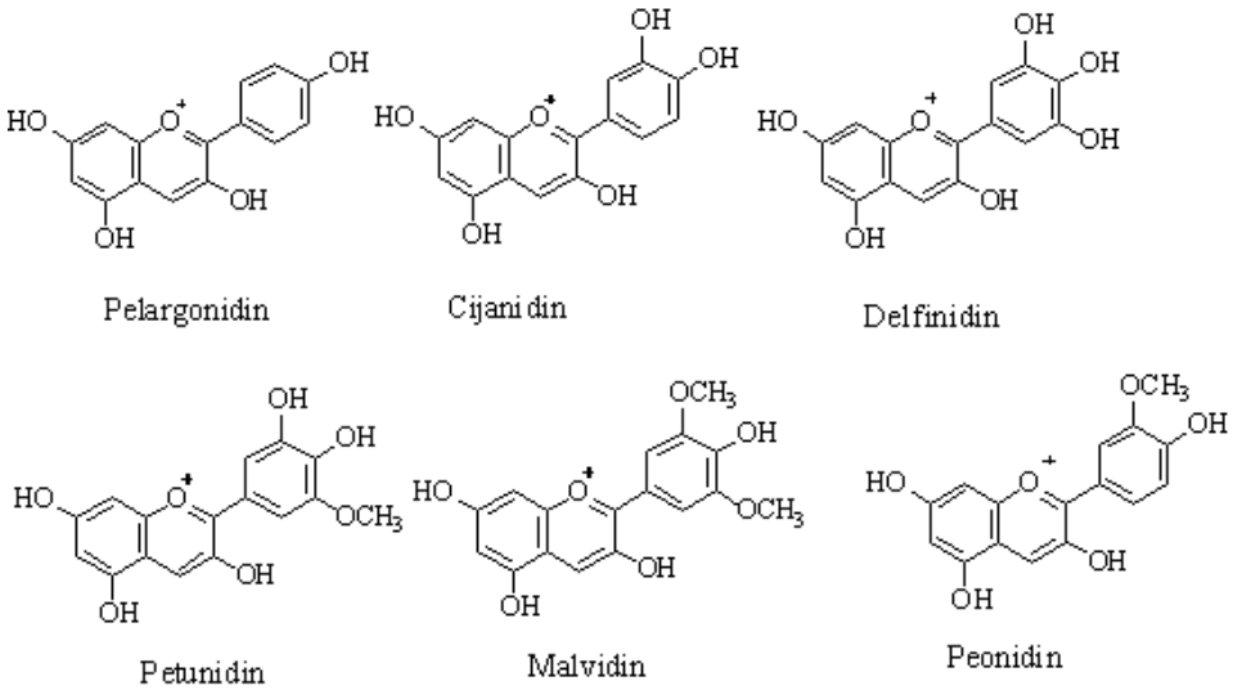
Tablica 1 Rezultati armenskih analitičara dobiveni pri analizi armenskih vina (Aroutiounian i sur., 2015.).

SORTE GROŽĐA	UKUPAN SADRŽAJ FENOLA U KOŽICI GROŽĐA (mg/kg)	UKUPAN SADRŽAJ FENOLA U SJEMENKAMA GROŽĐA (mg/kg)
Sev Aldara	2033.18 ± 37.20^{k}	1430.69 ± 194.44^{g}
Karmrahyut	1172.46 ± 6.69^{gh}	1970.84 ± 69.40^{h}
Avagi 2	1513.07 ± 207.17^{j}	656.17 ± 131.96^{def}
Tozot	1434.73 ± 24.28^{ij}	555.45 ± 74.33^{cde}
Sev Khardji	$1008.18 \pm 122.10^{defg}$	760.08 ± 358.25^{ef}
Vardabuyr	869.90 ± 184.40^{bcd}	832.40 ± 107.70^{f}
Sev Sateni	920.40 ± 106.70^{cde}	736.70 ± 55.01^{ef}
Armenia	710.30 ± 101.90^{b}	842.04 ± 166.80^{f}
Movsesi clone	$1108.10 \pm 141.10^{efgh}$	404.10 ± 67.70^{bc}
B	1249.12 ± 112.65^{hi}	230.62 ± 21.79^{ab}
X1	794.80 ± 44.90^{hij}	415.95 ± 28.70^{a}
E	956.53 ± 146.15^{cdef}	458.36 ± 96.0^{cd}
Movsesi	1164.02 ± 110.06^{fgh}	203.23 ± 68.75^{ab}
Hadisi	876.06 ± 15.19^{bcd}	381.53 ± 53.21^{bc}
Movsesi Aghavnadzori	$1008.90 \pm 207.40^{defg}$	226.20 ± 36.90^{ab}
Lyustra	671.8 ± 117.60^{ab}	558.40 ± 63.30^{cde}
Seyrak Areni	968.90 ± 103.03^{bc}	154.53 ± 26.27^{a}
Nalbandyan	482.10 ± 91.0^{a}	559.42 ± 94.30^{cde}

2.3.6. Antocijani

Boja je jedan od najvažnijih senzorskih svojstava odnosno atributa crvenih vina, gdje su glavni izvori crvene boje vina antocijani. Antocijani spadaju u skupinu flavonoida, to su pigmenti crvene boje koji se nalaze u pokožici grožđa, a kod nekih sorti grožđa nalaze se i u mesu bobice. Antocijani su dobro topivi u vodi, hidrolizom šećernog dijela antocijana nastaju aglikoni (nešećerni produkt hidrolize) koji se nazivaju antocijanidini. Najvažniji predstavnici

antocijanidina su: cijanidin, delfinidin, petunidin, peonidin, malvidin, pelargonidin. Antocijanidin da bi tvorio antocijan mora imati vezanu barem jednu molekulu šećera. Od molekula šećera vezanih na antocijane najčešći su glukoza, ramnoza, ksiloza, galaktoza i arabinoza, a osim šećera, na antocijane mogu biti vezane i organske kiseline, pri tome nastaju acilirani antocijani (Artak i sur., 2018.).



Slika 2 Strukturne formule antocijanidina (izvor: web 5)

Antocijani iz bobica grožđa u postupku maceracije prelaze u vino. Na boju vina utječe koncentracija antocijana, koja je prešla u vino tijekom maceracije. Na boju vina, odnosno stabilnost antocijana utječe: pH vina, temperature, šećeri, prisutnost kisika, koncentracija SO_2 koja se dozira u vino, prisustvo metalnih iona (Joscelyne Louise, 2009.; Radovanović, 1986.).

pH ima velik utjecaj na boju vina. Niži pH odnosno, veća kiselost vina daje izrazito crvenu boju, dok povećenjem pH, tj. smanjenjem kiselosti, boja vina prelazi u plavu boju. Ova reakcija je reverzibilana, što znači da se na boju vina može lako utjecati promjenom pH vrijednosti. Prisustvo SO_2 također ima utjecaja na boju crnih vina. Dodavanjem sumpor dioksida u vino, između sumpor dioksida i antioksidansa dolazi do reverzibilne reakcije, antocijani prelaze u

leukooblike. Kada sumpor dioksid nestane, boja vina ponovno prelazi u crvenu boju (Radovanović, 1986.).

Koncentracija šećera u vinima ima utjecaj na stabilnost antocijana. Koncentracije od 40% šećera imaju pozitivan učinak na stabilnost antocijana, a male koncentracije šećera 0–20% imaju negativan učinak na antocijane. Male koncentracije šećera imaju negativan učinak na antocijane, jer šećeri tada nemaju utjecaj na aktivitet vode. Isto tako, termostabilnost antocijana se linearno smanjuje u prisustvu povećane koncentacije fruktoze (Besten, 2007.).

Najvažnija svojstvo antocijana je njihovo antioksidativno djelovanje, što znači da mogu reagirati s reaktivnim kisikovim radikalima.

Na boju vina, odnosno na antocijane utječe pH vina, temperatura, prisutnost kisika, koncentracija SO_2 koja se dozira u vino (Joscelyne Louise, 2009.).

2.3.7. Tanini

Tanini su fenolne tvari koje se nalaze u sjemenkama grožđa, peteljci i pokožici bobice grožđa. Tanini vinima daju gorčinu i trpkost. Koncentracija tanina u bijelom moštu iznosi maksimalno 0,2 g/l, a u crnom moštu od 1 do 2,5 g/l i više. Koncentracija tanina u bijelom vinu kreće se do maksimalno 0,5 g/l, a u crnom vinu 4 g/l. Koncentracija tanina u vinima ovisi o vrsti vina, a prije svega i o vremenu kontakta peteljke, sjemena i pokožice s moštom. Zbog toga bijela vina ne sadrže tanine ili ih sadrže u jako malim koncentracijama (Joscelyne Louise, 2009.).

Taninske tvari mogu biti hidrolizirajuće, kao derivati pirogalola ili kondenzirani oblici, derivati porokatehina. Hidrolizirajućih tvari nema u grožđu, ali se mogu naći u vinu, tako što dospiju u vino tijekom procesa proizvodnje, uporabom raznih sredstava pri tretiranju vina. Kondenzirajuće tvari su sastojci grožđa, koji tijekom proizvodnje vina prelaze u vino. U kondenzirane oblike tanina spadaju: flavan 3-ol (katehin); flavan-3; flavan-4-diol (leukoantocijanidol). Katehin i leukoantocijanidoli su veoma slični, ali neki monomeri leukoantocijanidola zagrijavanjem prelaze u antocijane. Katehin i leukoantocijanidoli podliježu procesu polimerizacije, katehini pri tome stvaraju glikozidne oblike, a leukoantocijanodoli stvaraju aglikone ili se javljaju kao glukozidi. Slabo polimerizirani oblici katehin i leukoantocijanidola imaju sposobnost stvaranja

vrlo trpkog i oporog okusa kao i sklonost k taloženju bjelančevina. Taninske tvari u vinu imaju ulogu u zaštiti vina od oksidacije, tako što djeluju inhibitorno na enzime. Pored toga tanini s antocijanima u crnim vinima daju karakterističnu rubin crvenu boju. Tijekom starenja vina dolazi do gubitka antocijana i tada osnovu boje crnih vina daju tanini (Radovanović, 1986.).

2.3.8. Aroma vina

Aromu vinima daju aromatične komponente koje se nalaze u vinima. Koncentracija aromatičnih komponenata koja se nalaze u grožđu prije svega ovise o sorti vina, ekološkim uvjetima. Koncentracija arome, odnosno miris nekog grožđa ili vina ovisi o koncentraciji aromatskih jedinjenja, stupnju zrelosti grožđa, zdravstvenom stanju grožđa. Tvari arome u bobicama grožđa nastaju kao kemijski spojevi, a tijekom vinifikacije prelaze u vino, reagiraju međusobno ili s nekim drugim kemijskim spojevima i pri tome vinu daju specifičnu aromu, tzv. „bouquet“.

U vinima postoje tri vrste arome: primarna, sekundarna i tercijarna aroma.

Primarna aroma je aroma koja dolazi iz grožđa, mošta i prelazi u vino. Najvažniji hlapljivi spojevi primarne arome grožđa, su monoterpeni. Monoterpeni su lako hlapljive komponente, a ujedno i najvažniji nositelji sortne arome.

U monoterpene spadaju:

- geraniol,
- linalol,
- nerol,
- α-terpineol,
- citronelol,
- hotrineol.

Sekundarna aroma je aroma koja se stvara tijekom procesa fermentacije.

Tercijarna aroma je aroma koja se stvara tijekom odležavanja vina ili tijekom starenja vina u hrastovim bačvama, prelazi iz bačve u vino (Radovanović, 1986.; Prce, 2014.).

2.3.9. Enzimi

Enzimi su tvari koje pokreću kemijske reakcije fermentacije, tijekom vinifikacije i starenja vina, stvarajući bouquet. Enzimi su u procesu vinifikacije zaduženi za reakcije oksidacije i hidrolize.

U procesu proizvodnje vina, postoje dvije velike skupine enzima: depolimerizacijski i deesterifikacijski enzimi.

Depolimerizacijski enzimi cijepaju α-1,4 glukozidne veze, pri čemu oni cijepaju poligalakturonski lanac. U depolimerizacijske enzime se ubrajaju poligalakturonaze, pektat lijaze i pektin lijaze. Deesterifikacijski enzimi cijepaju esterske veze metanola i karboksilnih skupina galakturonske kiseline, pri čemu se oslobađa metanol. Deesterifikacijski enzimi prevode visokoesterificirane pektine u niskoesterificirane pektine i pektinsku kiselinu. Pored depolimerizacijskih i deesterifikacijskih enzima, u procesu vinifikacije bitni su saharaza, pektinaza i dr. Saharaza ima ulogu u hidrolizi saharoze u glukozu i fruktozu, a pektinaza je važna pri bistrenju vina jer hidrolizira pektinske tvari na poligalakturonsku kiselinu i metanol (Spajić, 2017.).

2.3.10. Mineralne tvari (pepeo)

Mineralne tvari vina, odnosno pepeo su anorganske tvari koje ulaze u sastav vina, a zaostaju nakon isparavanja vode i potpunog spaljivanja suhe tvari vina. Najprisutnije mineralne tvari koje se nalaze u moštu i vinu su: kalij, kalcij, magnezij, željezo i fosfor. Mineralne tvari vinima daju bolju aromu i bouquet, a u moštu se nalazi u količini od nekoliko g/l. Količina pepela u vinu ovisi o sorti vinove loze, kakvoći i zrelosti grožđa, sastavu tla, mikro i makroklimatskim uvjetima, te tehnologiji prerade grožđa u vino. Crna vina sadrže veći udio pepela u odnosu na bijela vina, jer pri proizvodnji crnih vina, mošt je u dužem kontaktu s peteljkama, sjemenom i pokožicom grožđa (Mačinković, 2017.).

2.3.11. Antioksidacijska stabilnost

Antioksidansi su spojevi koji inhibiraju ili odgađaju oksidaciju tvari. Antioksidansi neutraliziraju slobodne radikale dajući im svoj elektron ili inhibiraju stvaranje slobodnih radikala, pri tome imaju svojstva kojima djeluju kao reducirajuće sredstvo (Prce, 2014.).

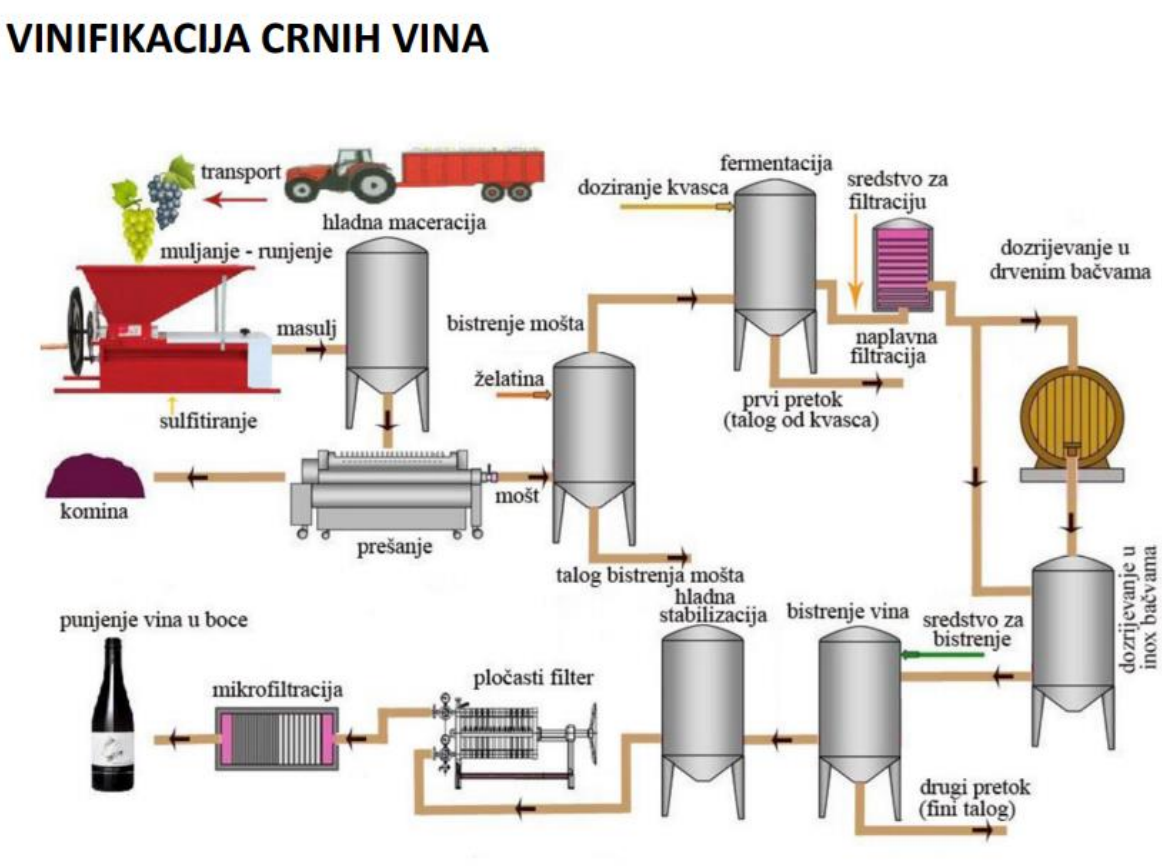
Polifenoli u vinima imaju zaštitnu ulogu, odnosno antioksidativna svojstva, što se pripisuje njihovoj sposobnosti sparivanja elektrona slobodnog radikala što se još naziva i antiradikalna

aktivnost. Osim ove aktivnosti polifenoli pokazuju sposobnost vezivanja iona prijelaznih metala (Fe^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}, Mg^{2+}). To višestruko djelovanje je odgovorno za ukupnu učinkovitost polifenolnih spojeva, a zajedno se naziva antioksidacijska aktivnost.

Antioksidansi su tvari koje štite stanice od oksidacijskog djelovanja slobodnih radikala, sprječavaju oksidaciju slobodnih radikala u stanici. Slobodni radikali su kemijski spojevi velike reaktivnosti, uzrok njihove velike reaktivnosti je posljedica prisustva nesparenih elektrona u vanjskoj elektronskoj orbitali. Slobodni radikali mogu oštetiti lipidnu membranu stvarajući ugljikov radikal koji reagira s kisikom i daje peroksidni radikal koji dalje reagira s masnim kiselinama stvarajući nove ugljikove radikale.

2.4. PROIZVODNJA CRNIH VINA

Enologija je znanstvena disciplina koja se bavi proučavanjem kemijskog sastava vina, proizvodnjom i čuvanjem kakvoće vina s ciljem poboljšanja iskorištenje sirovine i mogućnost dobivanja vina konstantne kakvoće.



Slika 3 Tehnološki postupci pri proizvodnji crnih vina (Andabak, 2017.)

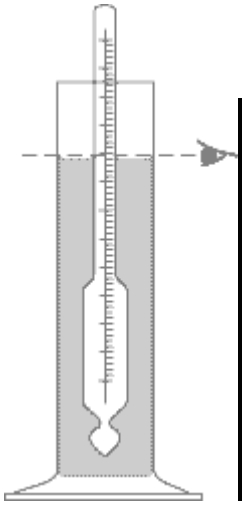
2.4.1. Berba grožđa

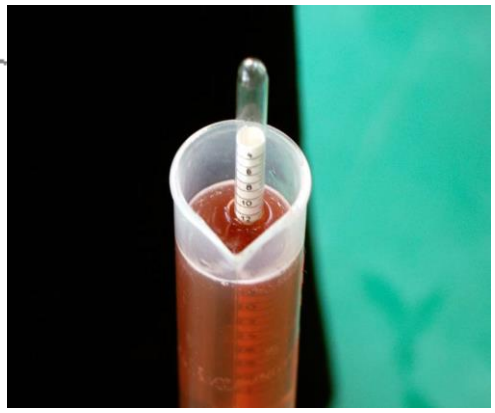
Proizvodnja vina započinje berbom grožđa. 15 dana prije berbe grožđa, u vinogradu se provjerava sadržaj šećera i kiselina u bobicama grožđa. Kada koncentracija šećera u bobicama dostigne svoj maksimum, odnosno kada se 3 dana zaredom sadržaj šećera u bobicama ne mijenja, znači da je grožđe dostiglo svoju tehnološku zrelost i počinje berba grožđa.

Mjerni instrumenti koji se koriste za mjerenje sadržaja šećera su refraktometar (**Slika 4**) ili moštna vaga (**Slika 5**) (Oechslova i Baboova).



Slika 4 Refraktometar (izvor: web 1)





Slika 5 Moštna vaga (izvor: web 2)

Berba grožđa može biti ručna ili pomoću strojeva. Svaki od načina berbe ima svoje prednosti i nedostatke. Ručno branje, s jedne strane je kvalitetnije i bolje, jer pri branju berači mogu ukloniti oboljelo grožđe, sortirati grožđe koje je nezrelo, mogu pažljivije postupati s grožđem koje ima slabiju kožicu i koje lako puca. Pored navedenih prednosti, ručno branje dovodi do većih troškova koji su potrebni za isplatu radne snage.

Berba pomoću strojeva je puno brža u odnosu na ručno branje, nema dodatnih troškova oko radne snage, ima veću mogućnost branja noću, što je velika prednost, jer se ubrano grožđe ne izlaže visokim temperaturama i pri tome nema opasnosti od oksidacijskog kvarenja. Berba strojevima se može organizirati tako da kada grožđe stigne u vinariju odmah ide na preradu, i nema potrebe za skladištenjem. Berba pomoću strojeva ima nekoliko nedostataka kao što su oštećenje listova i vinove loze strojevima, nema mogućnosti sortiranja i uklanjanja bolesnog i oštećenog grožđa. Berba grožđa pomoću strojeva nije moguća u jako brdovitim i strmim predjelima.

Ubrano grožđe se u vinarije prevozi u kašetama ili u rinfuzi. Ubrano grožđe je potrebno što prije prevesti u vinariju i što prije započeti preradu grožđa. Ako su visoke temperature, može započeti prijevremena fermentacija, ili ako je dug transport od vinograda do vinarije, može doći do pucanja, gnječenja bobica grožđa i istjecanja grožđanog soka, odnosno samotoka. Pucanjem bobica grožđa i istjecanje grožđanog soka, predstavlja gubitke, te dolazi do oksidativnih procesa,

širenja mikroorganizama i divljih kvasaca. Samotok je najkvalitetniji dio grožđanog soka, tj. mošta. Pri prijemu grožđa u vinariju, određuje se koncentracija šećera i ukupnih kiselina u grožđu. Grožđe se u vinarijama prihvata u prihvatni bunker ili odmah direktno ide u stroj za runjanje i muljanje grožđa (Prce, 2014.; Spajić, 2017.).

2.4.2. Muljanje i ruljanje

Muljanje i ruljanje su prve od tehnoloških operacija koje se provode u vinifikaciji. Vinifikacija obuhvata procese koji se odvijaju pri pretvorbi grožđa u vino.

Muljanje i ruljanje su tehnološke operacije gdje se bobice grožđa gnječe i muljaju, pri čemu se dobija masulj. Masulj je zgnječeno i izmuljano grožđe. Dobiveni masulj ide na proces maceracije. Maceracija je postupak odležavanja mošta s sjemenkama i kožicom grožđa. U procesu maceracije dodaju se pektolitički enzimi koji razgrađuju pektin u kožicama bobica, u kojima se nalaze bojene tvari, na taj način se u potpunosti oslobađaju bojene tvari (antocijani), tanini, vitamin, fenolne i druge tvari koje su prisutne u kožici grožđa, a stvaraju aromu, boju, karakterističan miris vinu. Dobiveni masulj, se poslije muljanja i ruljanja, sumpori da bi se zaštitile bojene tvari od oksidacije, reducirao rad i razmnožavanje nepoželjnih divljih kvasaca i bakterija. Masulj se sumpori s 8-10 g/hl kalijeva metabisulfita ili 80-100 ml/hl 5% otopine sumporaste kiseline.

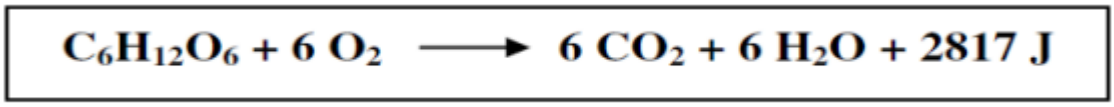


Slika 6 Muljača (izvor: web 3)

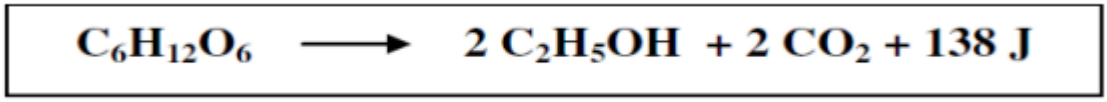
2.4.3. Akoholna fermentacija

Poslije sumporenja masulja, masulju se dodaju selekcionirani kvasci za alkoholnu fermentaciju. Na bobicama grožđa se nalaze kvasci koji su na površinu bobice dospjeli iz tla putem zraka, čestica prašine, insekata. Količina tih kvasaca nije dovoljna za alkoholnu fermentaciju, te se zbog toga masulju dodaju selekcionirani kvasci za usmjereno vrenje i dobivanja vina zadovoljavajućih karakteristika i kakvoće. Alkoholna fermentacija je proces prevođenja šećera u etanol i CO_2, uz oslobađanje velike količine energije, odnosno prevođenja mošta (masulja) u vino djelovanjem kvasaca. Alkoholna fermentacija može biti spontana i pomoću selekcioniranih kvasaca. Spontanu fermentaciju provode kvasci koji se nalaze u moštu, a selekcionirani kvasci se dodaju (Prce, 2014.).

Osim ovih primarnih produkata nastaju i manje količine sekundarnih produkata: glicerol, jantarna kiselina, acetaldehid, viši alkoholi, hlapljive kiseline, aminokiseline i metanol. Alkoholna fermentacija je anaeroban proces, pri tome, stvaraju se nepovoljni uvjeti za rast i razmnožavanje nepoželjnih mikroorganizama. Alkoholna fermentacija je anaeroban proces, ali za početak alkoholne fermentacije kvascima su potrebni aerobni uvjeti. U aerobnoj fazi fermentacije (**Slika 7**) kvasci koriste kisik iz zraka i pri tome potpuno razlažu šećer do ugljikova dioksida. Oslobođena energija se koristi za razmnožavanje selekcioniranog kvasca. Dok u anaerobnoj fazi (**Slika 8**) šećeri se razlažu do etanola i ugljikovog dioksida i pri tome se oslobađa znatno manja količina energije.



Slika 7 Aeroban proces fermentaciije



Slika 8 Anaerobni proces fermentacije

Uz alkoholnu fermentaciju odvija se i process maceracije. Tijekom procesa maceracije i uz alkoholnu fermentaciju dolazi do jačeg stvaranja boje. Boja se najintenzivnije ekstrahira u prvih 3-5 dana vrenja nakon tog perioda ekstrakcija bojenih tvari naglo opada i završava. Nakon tog perioda intenzivnije se ekstrahiraju tanini, pa predugim ostavljanjem masulja na vrenju u vino se otapa više tanina zbog čega vino postaje oporo i trpko (Prce, 2014.).

U vinifikaciji postoji više vrsta maceracije, klasična, karbonska, flash ekspanzija, delastage i maceracija zagrijavanjem. Odabir vrste maceracije i optimalne duljine ovisi o: tipu vina koje se želi proizvesti, vremenu kada će se ono konzumirati (delastage postupkom se dobivaju vina s voćnom aromom, koja se mlada konzumiraju), karakteristikama (intenzitet taničnosti i harmonija strukture nisu kompatibilni), kvaliteti primarne sirovine i uvjetima tijekom maceracije (fermentacije). Samo se u zatvorenim posudama može macerirati dulje vrijeme. U otvorenoj je posudi mošt u kontaktu sa zrakom, lakše fermentira, ali su rizici kvarenja (bakterije) veći i velik je gubitak alkohola (Molnar, 2017.).

Na početku alkoholne fermentacije ne smije biti previše visoka temperatura (20 °C) jer su kvasci osjetljivi u fazi porasta temperature.

Kod alkoholne fermentacije postoje dvije vrste vrenja:

- glavno (burno),
- naknadno (tiho).

Glavno vrenje karakterizira toplo vrenje, tj. vrenje koje se odvija na temperaturama 20-25 °C. Za mlada vina (za brzu potrošnju), koja trebaju biti lijepe rubin crvene boje i sačuvanih voćnih aromatskih karakteristika, preferira se umjerena temperatura (do 25 °C). Ako se preferira taničnost, to su uglavnom vina za starenje, potrebna je temperatura 25–30 °C.

Suvremena tehnologija preporuča hladno vrenje, jer je na visokim temperaturama vrenje burno i CO_2 naglo izlazi i odnosi aromatične tvari i alkohol. Prestanak vrenja označava prijelaz mošta u mlado vino. Alkoholna fermentacija je postupak koji se provodi u drvenim posudama (bačvama) ili inoks posudi, a mogu se koristiti i betonske posude. Plastične posude se mogu koristit, ali nisu preporučljive jer na njima ostaje boja (Prce, 2017.).

S obzirom da se nakon 3-5 dana ekstrakcija bojenih tvari završava, a dužim zadržavanjem mošta s kožicom bobice grožđa se povećava ekstrakcija tanina koja može imati nepovoljni učinak na vino i zaustavlja se proces maceracije. Dobiveno vino, odnosno samotok se odvaja od čvrstog dijela. Dobiveno vino se koristi za proizvodnju kvalitetnog i vrhunskog vina, a zaostali čvrsti ostatak ide na prešanje. Prešanje je postupak odvajanja preostalog mošta, odnosno vina iz čvrstog dijela. Čvrsti ostatak koji zaostaje nakon prešanja naziva se trop.

Izdvojeno vino se pretače u cisterne ili bačve. To vino je uglavnom izfermentirano, ali može zaostati dio neprevrelog šećera, tako da se tada nastavlja tiho vrenje, tj. naknadna fermentacija.

2.4.4. Malolaktična fermentaciija

Malolaktična fermentacija je proces koji nastupa poslije alkoholne fermantacije, a u nekim slučajevima se može javiti usporedo s alkoholnom fermentacijom. Malolaktična fermantacija se naziva još i jabučno-mliječna fermentacija. Tijekom malolaktične fermentacije jabučna kiselina se pomoću bakterija mliječno-kiselog vrenja prevodi u mliječnu kiselinu. Bakterija koja prevodi jabučnu kiselinu u mliječnu naziva se Leuconostoc oenos. Jabučna kiselina je jača i zbog toga se ona prevodi u mliječnu kiselinu, koja je slabija i vina postaju harmoničnija, manje kisela i meka. Prisustvo jabučne kiseline povećava aciditet vina, a mlada vina su oštra, neharmonična i tupa. Malolaktičnom fermentacijom moguće je smanjiti kiselost vina 1-1,8 g/l ili 10-24 % od prvobitne količine.

Na početak i na tijek malolaktične fermentacije ima utjecaj: količina alkohola, količina sumpor dioksida, temperature i aciditet vina. Mliječno kiselinska fermentacija se često provodi u hladnijim krajevima, jer su tamo vina kiselija, s većim udjelom jabučne kiseline. U toplijim krajevima se ne provodi jer bi se tada stvorila tupa vina.

Bakterije jabučno-mliječne fermentacije su vrlo osjetljive na sumpor dioksid. Sumpor dioksid ne djeluje na bakterije malolaktične fermentacije samo u slobodnom obliku, nego i u vezanom. Zbog toga, u nekim zemljama se mošt sumpori u minimalnim količinama.

Prisutnost tanina ima utjecaj na bakterije mliječne fermentacije. Dodavanje tanina u vino radi poboljšanja bistrenja ili prelazak tanina iz hrastovih bačvi, naročito ako nisu bile dobro ovinjene,

imaju utjecaj na bakterije malolaktične fermentacije i na razgradnju jabučne kiseline (Sokolović, 1993.; Radovanović, 1986.).

Vina u kojima je uspješno provedena malolaktična fermentacija imaju aromu po maslacu, orašastim plodovima, medu, vaniliji, začinima, po zemlji, imaju zaokruženost, svileni tanini (meki) se duže zadržavaju na jeziku. Ako se malolaktična fermentacija provodi pod nekontroliranim uvjetima, bakterije mliječne kiseline mogu rezultirati intenzivnom mliječnom aromom, aromom užegnutog jogurta, slatkastim i octikavim okusom, animalnim notama, mirisom vlažne kože, upaljene šibice i trulog (Sokolović, 1993.; Radovanović, 1986.).

2.4.5. Filtracija, stabilnost i njega vina

Poslije završene malolaktične fermentacije, vino se pretače u bačve ili cesterne, odnosno odvaja se od taloga. Kod pretoka vina u druge bačve ili cisterne, bačvu je potrebno dopuniti vinom, ili nekim inertnim plinom, kako ne bi došlo do kontakta vina s kisikom tijekom odležavanja.

Pri stabilizaciji vina, poslije alkoholne i malolaktične fermentaije, vino je potrebno izbistrit i istaložit krupne čestice. Prvo se talože krupnije čestice u vinima, to je proces spontanog bistrenja, i traje dosta vremena. U vino se dodaju sredstva koja kemijskim i fizikalno-kemijskim djelovanjem odstranjuje nestabilni dio sastojaka. Na efikasnost bistrenja utječu: aciditet odnosno pH vina, temperatura, priprema, način i vrsta sredstva koja se dodaju u vino.

Sredstva koja se dodaju za bistrenje vina mogu biti:

- organska,
- mineralna

Organska sredstava koja se dodaju u vino su želatin, tanini, riblji mjehur, agar-agar, a od mineralnih sredstava: bentonite, silicijumova kiselina, španska zemlja i kaolin, kalijumferocijanid. Od organskih i mineralnih sredstava, najčešće se primjenjuju želatin, tannin i bentonit. Ako se vino bistri dodavanjem sredstava za bistrenje, uvijek se prvo dodaje želatin, koji se raširi po cijeloj površini vina, a zatim se dodaje bentonit koji sakuplja mikročestice, a usput i želatin i sve skupa ih povuče na dno cisterne ili bačve.

Na efikasnost bistrenja utječe aciditet odnosno pH vina, temperatura, priprema i način unošenja sredstva u vino.

Nakon bistrenja vina, vino je potrebno stabilizirati na niskim temperaturama. To je postupak hlađenja vina do temperature bliske temperaturi smrzavanja i ostavljanje na toj temperaturi nekoliko dana. Rezultat toga je ubrzano taloženje soli vinske kiseline (tartarata) takozvanog vinskog kamena, koji ima utjecaj na bistrinu i na aciditetno stanje vina. Vinski kamen je prirodno prisutan u vinu, ali se na taj način znatno ubrzava te se pored tartarata na dno talože i druge nestabilne tvari te mikroorganizmi. Poslije provedbe hladne stabilizacije vino je potrebno filtrirati dok je još hladno.

Za završnu filtraciju mogu se koristiti naplavni filtri, a najčešće se primjenjuju mambranski filteri, cros flow ili color fiber filteri.

Njega i čuvanje vina obuhvaćaju niz raznovrsnih postupaka, koji imaju za cilj zaštitu vina od kvarenja i mana vina (Radovanović, 1986.; Prce, 2014.).

2.5. ANALIZA AROMATSKIH TVARI

2.5.1. Plinska kromatografija

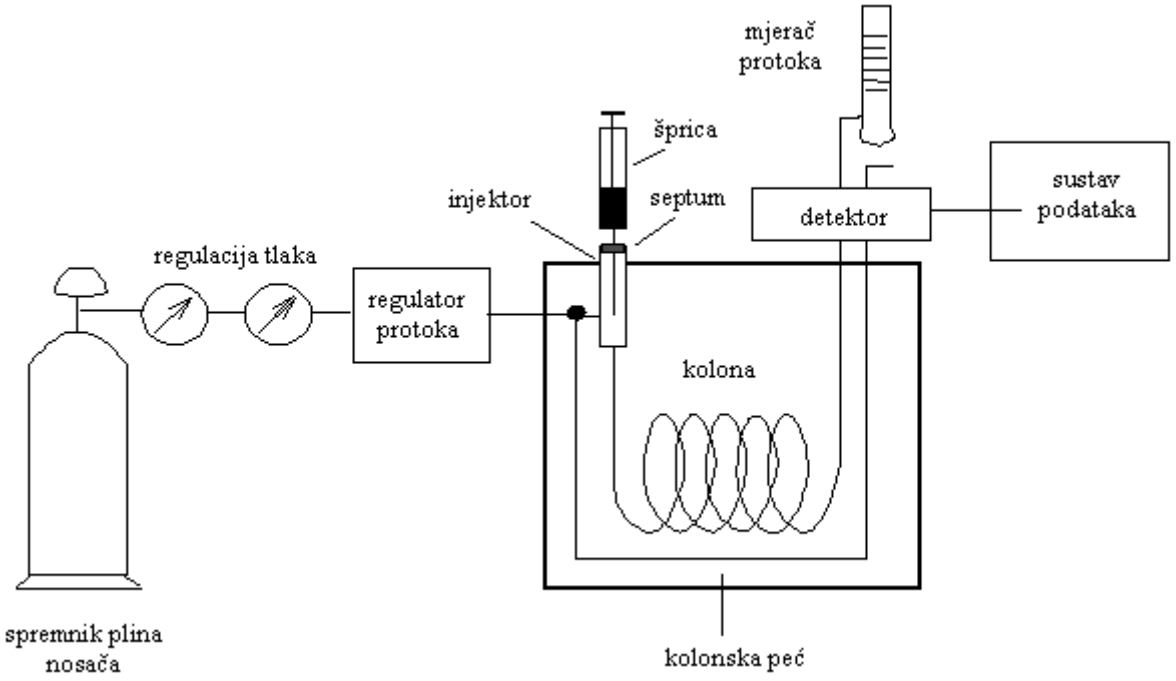
Kromatografija je fizikalna separacijska metoda izdvajanja komponenti iz uzorka. U kromatografskim metodama, sastojci smjese (uzorka) se raspodjeljuju između dvije faze, od kojih je jedna nepokretna (stacionarna), a druga se kreće u određenom smjeru (pokretna ili mobilna faza). Uzorak je otopljen u pokretnoj fazi (tekućina, plin, fluid pri superkritičnim uvijetima) i kreće se uzduž nepokretne faze koja može biti u koloni ili na ravnoj plohi.

Kromatografska metoda se može podijeliti prema tipovima mobilnih i stacionarnih faza, odnosno na fizikalnom stanju same pokretne faze, to su:

- plinska kromatografija (GC),
- tekućinska kromatografija (LC; HPLC),
- fluidna kromatografija pri superkritičnim uvijetima.

Za pokretnu fazu u plinskoj kromatografiji se može koristiti i pojam plin nosioc, dok se u kromatografiji ispiranjem (eluiranjem) pokretna faza naziva i eluens.

Plinska kromatografija je najraširenija separacijska metoda kod koje je pokretna faza plin (plin nosioc). U plinskoj kromatografiji (GC) uzorak se injektira na početku kromatografske kolone, gdje isparava, a eluiranje se vrši pomoću protoka inertnog plina kao mobilne faze. Odvajanje sastojaka na GC koloni uvjetovano je razlikom u njihovoj hlapivosti. Plin nosioc nema interakcije s analiziranim komponentama već služi isključivo kao transportno sredstvo. Inertni plinovi koji se najčešće primjenjuju su: helij, dušik i vodik. Eluiranje se vrši pomoću protoka inertnog plina kao mobilne faze. Odvajanje sastojaka na GC koloni uvjetovano je razlikom u njihovoj hlapivosti (Mačinkovič, 2017.; Šimunić, 2017.).



Slika 9 Shematski prikaz plinskog kromatografa (izvor: web 4)

Plinski kromatograf je izgrađen od nekoliko osnovnih dijelova (**Slika 9**):

- izvor stalne struje plina nosioca – boca ili generator,
- uređaj za unošenje uzorka (injektor),

- kromatografska kolona smještena u termostatiranom prostoru (peći),
- detektor - uređaj za registriranje izeluiranog sastojka u struji plina nosioca kao funkcije vremena,
- pisač – integrator – računalo.

Eluiranje je glavna tehnika plinske kromatografije, gdje se kolona kontinuirano regenerira s inertnim plinom nositelj. Određena količina ispitivane smjese uvodi se strujom inertnog plina (plin nositelj) u kromatografsku kolonu. Prolaskom kroz kolonu, smjesa se razdjeljuje između nepokretne faze i struje plina nositelja (pokretna faza).

Plin nositelj mora biti kemijski inertan kako ne bi došlo do reakcije s uzorkom, i pri tome mora biti suh i pročišćen od nečistoća koje bi mogle utjecati na funkciju rada uređaja. Izbor plina nositelja najčešće je određen tipom detektora koji se upotrebljava. Protoci plina se obično reguliraju pomoću dvostupanjskog regulatora tlaka na plinskoj boci i regulatorom tlaka postavljenim na samom uređaju.

U plinskoj kromatografiji, injektor služi za unošenje uzorka u sustav za analizu. Da bi se u konačnici dobio dobar rezultat analize, uzorak se u sustav za analizu unosi brzo, u maloj količini, pomoću mikrolitarske šprice. U uređaj se pomoću mikrolitarske šprice, dodaje uzorak, kroz gumenu ili silikonsku membranu u zagrijani dio uređaja koji je smješten na vrhu kolone. Kako bi isparavanje uzorka bilo potpuno, temperatura prostora gdje dolazi do rasprskavanja i isparavanja uzorka mora biti za 50 °C viša od temperature vrelišta najslabije hlapive komponente u uzorku (Mačinković, 2017.).

Kao detektor u plinskoj kromatografiji može poslužiti svaki uređaj koji na osnovu nekog kemijskog ili fizikalnog svojstva izeluirane komponente registrira njenu prisutnost u plinu nositelju. Detektor mora pokazati brz odziv na male promjene koncentracije sastojaka za vrijeme njihove eluacije iz kromatografske kolone.

U plinskom kromatografu detekcija se može temeljiti na:

- toplinskoj vodljivosti,
- plamenoj ionizaciji,
- radioaktivnoj ionizaciji,
- fotoionizaciji,
- kemijskim reakcijama,
- elektrolitičkoj vodljivosti,
- IR i UV spektrofotometriji,
- spektrometriji masa,
- nuklearnoj magnetskoj rezonanciji,

S obzirom na vrstu detekcije, plinski kromatograf može davati signal za svaki sastojak u eluatu, osim za čistu mobilnu fazu ili da daje odziv samo na određene grupe komponenata u eluatu i sl. (Primorac, 2015.).

Plinska kromatografija je primjenjena za određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka.

2.5.2. Spektrofotometar

Spektrofotometar je uređaj koji se koristi za analizu spektra elektromagnetnog zračenja.

Spektrofotometar je instrument koji sadrži monokromator ili disperzni element koji izabire različite valne duljine. Valne duljine zračenja je moguće mijenjati. Spektrofotometar je instrument koji ima složeniju optiku.

Spektrofotometar se sastoji od izvora zračenja, monokromatora i detektora. Monokromator je tako izveden da je moguće mijenjati valnu duljinu zračenja koje propušta. Bilježenjem intenziteta zračenja koje je uzorak apsorbirao, propustio ili reflektirao, ovisno o valnoj duljini, nastaje spektar.

Dijelovi optičkog instrumenta:

- izvor zračenja,
- selektor valnih duljina,
- spremnik za uzorke,
- detektor,
- procesor signala (uređaj za očitavanje).

Spektrofotometar je korišten za analizu polifenola, antocijana i antioksidacijske aktivnosti vina Armenije.

2.5.3. SPME spektar

SPME analiza je tehnika koja se koristi za analizu širokog spektra hrane, prvenstveno iz razloga što zahtijeva manju manipulaciju, i zbog ekonomske prihvatljivosti. Sve više se primjenjuje za pripremu čvrstih i tekućih uzoraka poput vina, piva, voća, ulja i meda. SPME analiza se sastoji od dvije odvojene faze, apsorpcije, prilikom koje dolazi do zaostajanja analita na stacionarnoj fazi i desorpcije. Pri analizi, obje faze moraju biti optimizirane. Na desorpciju utječu temperatura i vrijeme desorpcije, dok na ekstrakciju utječe tip uzorka, vrijeme ekstrakcije, ionska jakost, pH uzorka, temperatura ekstrakcije i mućkanje uzorka (Mačinković, 2017.).

Plinsko–kromatografska metoda uz uporabu plinskog kromatografa s maseno-selektivnim detektorom (GC-MS) se primjenjuje da bi se potvrdili pojedinačni aromatični sastojci na osnovu usporedbe spektra pojedinog sastojka iz vina sa spektrom iz baze podataka. Uvjeti rada su jednaki uvjetima plinskog kromatografa s masenim detektorom.

SPME uzorkovanje je jednofazan proces, tehnika je vrlo osjetljiva pa treba posebnu pažnju posvetiti temperaturi apsorpcije i vremenu apsorpcije kako bi oni ostali konstantni (Spajić, 2017.).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK RADA

Zadatak ovog rada bio je ispitati utjecaj sorte na aromatske i fenolne sastojke crnih vina iz armenskih vinogorja. Na uzorcima su se određivali:, antocijani, antioksidacijska aktivnost i polimerna boja.

3.2. MATERIJALI I METODE

Za analizu su uzete crne sorte armenskih vina: Areni, Avagi, Movsesi, Seyrak Areni i Tozot.

Antocijani, antioksidacijska aktivnost i polimerna boja određeni su primjenom spektrofotometra, a određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka provela se primjenom instrumentalne plinske kromatografije i mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME). U radu je korišten plinski kromatograf tvrtke Agilent 7890 B s maseno-selektivnim detektorom Agilent 5977.

Avagi

Sorta je dobila naziv po vlasniku vinarije koji ju je otkrio, Avagu Vahagn. Vrlo je rijetka sorta od koje se proizvode suha crna vina (web 6).

Areni i Seyrak Areni

Sorta grožđa Areni (arm. *ah-reh-nee*) jedna je od najstarijih i najraširenijih sorti koja se uzgaja na području Armenije. Regija u kojoj najbolje uspijeva nalazi se na Ararat planini uz rijeku Arpa, u Vayots Dzor zoni. Danas je poznata pod raznim nazivima: Sev (crni) Areni, Areni Yeghegisi, Areni Vaghahas, a vrlo često ju nazivaju i Armenski Pinot Noir. Bobice ove sorte imaju debelu pokožicu jantarno crne boje. Izrazito je otporno na bolesti i temperaturne oscilacije. Vino proizvedeno od ove sorte je tamno crvene boje s aromom duda i borovnica. Seyrak Areni se često poistovjećuje s originalnom Areni sortom budući da su slične, ali genetski su različite (Hovhannisyan, 2015.).

Tozot

Vino Tozot je jedno od najpoznatijih autohtonih vina Armenije. Prema prethodnim istraživanjima je dokazano da je vino Tozot, jedno od vina s najvećim udjelom fenolnih tvari, s jedinstvenom svježinom i ugodnom aromom. Tozot raste u starim vinogradima Vayots Dzor. Grožđe Tozot karakterizira kasno sazrijevanje i pri tome vrlo produktivno koje ima visok udio

šećera i srednju kiselost. Grožđe Tozot (**Slika 10**) karakterizira različite veličine bobica, gusta, konusna i srednje veličine, crne, blago ovalne ili izdužene bobice. Kožica grožđa je srednje debljine, prekrivena gustim, grubo teškim voskom, sočnog i ugodnog okusa (Hovhannisyan i sur., 2016.).



Slika 10 Tozot (Hovhannisyan i sur., 2016.)

Movsesi

Jedinstvene sorte grožđa Movsesi sačuvane su u vinogradima Vayots Dzora. Sortu grožđa Movsesi (**Slika 11**) odlikuju velike, a ponekad srednje ili male bobice, guste, a ponekad srednje ili male gustoće s cilindričnim oblikom. Grozdovi su veliki s crvenim, tj. crnim bobicama, a bobice su srednje debljine kožice s prekrivenim voskom. Sorta grožđa Movsesi je grožđe kasne berbe, kasno zrije ali su vrlo produktivni grozdovi. Bobice grožđa Movsesi imaju nisku slatkoću i nisku kiselost (Hovhannisyan i sur., 2016.).



Slika 11 Movsesi (Hovhannisyan i sur., 2016.)

3.2.1. Određivanje sadržaja antocijana

Za određivanje antocijana primijenjena je pH–diferencijalna metoda. Metoda se zasniva na strukturnoj transformaciji kromofora antocijana u ovisnosti o promjeni pH. Antocijani podliježu reverzibilnoj strukturnoj transformaciji s promjenom pH koja se manifestira promjenom spektra apsorbancije. pH–diferencijalna metoda za određivanje antocijana omogućuje točno mjerenje ukupnih antocijana, bez obzira na prisutnost polimeriziranih, degradiranih pigmenata i drugih tvari koje bi mogle smetati. Otpipetirano je 0,2 ml ekstrakta uzorka u dvije kivete, u jednu je dodano 1 ml pufera pH 1, a u drugu 1 ml pufera pH 4,5. Nakon stajanja od 15 min. uzorcima je pomoću spektrofotometra izmjerena apsorbancija pri valnim duljinama od 508 nm i 700 nm.

Sadržaj antocijana je izračunat prema slijedećoj formuli:

$$c(_{antocijana})(mg/kg) = (A \times M \times FR \times 1000) / \varepsilon \times l$$

gdje je:

A – apsorbancija uzorka, a izračunava se prema izrazu:

$$A = (A_{508} - A_{700})pH\ 1 - (A_{508} - A_{700})pH\ 4,5\ M - 449,2$$

FR – faktor razrjeđenja ,

E – molarna apsorptivnost,

26 900 I – duljina kivete,

1 cm (M i ε su uzeti za dominantnu vrstu antocijana, odnosno za cijanidin-3-glukozida).

3.2.2. Određivanje antioksidacijske aktivnosti

Antioksidacijska aktivnost određena je primjenom ABTS metode. U ABTS metodi prati se raspadanje radikala ABTS koji nastaje oksidacijom 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazilin-6-sulfonat) djelovanjem fenolnih tvari. U odsutnosti fenolnih tvari, ABTS je relativno stabilan, ali brzo reagira u prisustvu donora H+ te prelazi u neobojeni oblik ABTS-a. Absorbanca se mjeri pri valnoj duljini od 734 nm. Antioksidacijska aktivnost izračunata je iz kalibracijske krivulje uz trolox kao standard (Pichler i sur., 2015.).

3.2.3. Određivanje polimerne boje

Degradacija antocijana može se pratiti očitanjem apsorbance u uzorcima koji su tretirani bisulfitom. Antocijani s bisulfitom tvore bezbojan kompleks. Boja koja nastaje polimerizacijom antocijana, odnosno nastajanjem kompleksa antocijani/tanini, otporna je na djelovanje bisulfita. Apsorbanca uzorka tretiranog bisulfitom, na 420 nm predstavlja stupanj posmeđivanja. Gustoća boje se definira kao suma apsorbanci na 420 nm i λvis-max. Omjer između polimerne boje i gustoće boje koristi se kao postotak boje koja je nastala polimerizacijom sastojaka.

Postupak: Otpipetirano je 2,8 mL uzorka u dvije kivete, u jednu je dodano 0,2 mL vode, a u drugu 0,2mL otopine bisulfita. Nakon stajanja od 15 min uzorcima je pomoću spektrofotometra mjerena apsorbanca pri valnim duljinama od 420 nm, 513 nm i 700 nm.

Izračun gustoće boje kontrolnog uzorka (uzorak tretiran vodom):

$$\text{Gustoća boje} = [(A420\ nm - A700nm) + (A513\ nm - A700\ nm)] \times FR$$

Izračun polimerne boje uzorka (uzorak tretiran bisulfitom):

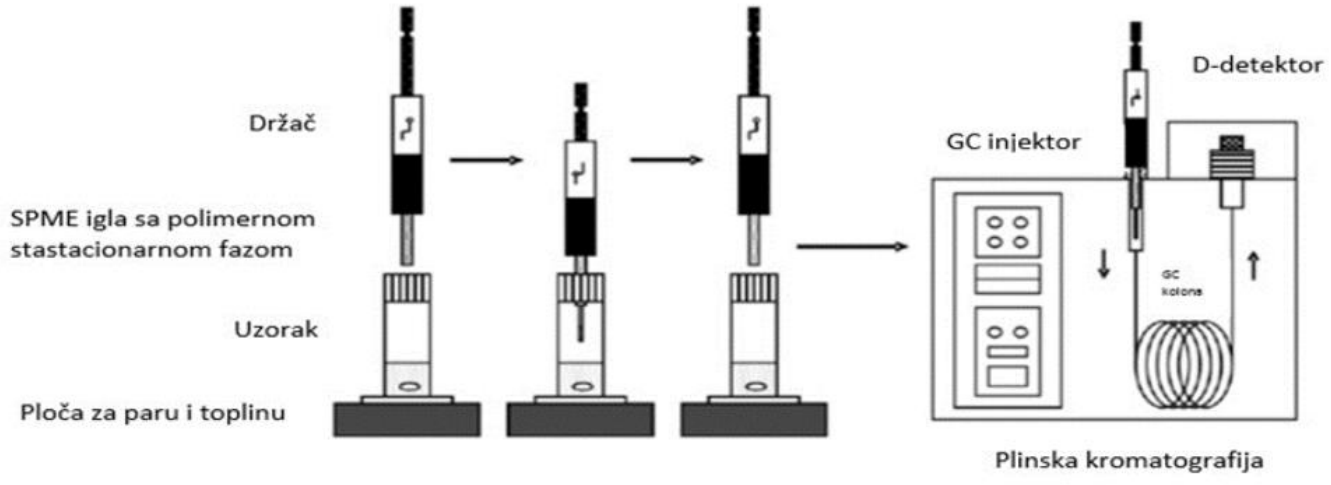
$$\text{Polimerna boja} = [(A420\ nm - A700\ nm) + (A513\ nm - A700\ nm)] \times FR$$

Izračun postotka polimerne boje:

Postotak polimerne boje = (polimerna boja/gustoća boje) x 100

3.2.4. Analiza arome vina plinskom kromatografijom primjenom SPME analize

Za pripremu uzorka za ekstrakciju hlapivih sastojaka korištena je tehnika mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME). Osnova SPME aparature (**Slika 12**) je igla, unutar koje se na polimernu stacionarnu fazu adsorbiraju tvari arome. U bočicu od 10 ml odvagalo se 5 g uzorka vina. Radi bolje adsorpcije sastojaka arome dodaje se 1 g NaCl. Zatvorena bočica se stavlja na vodenu kupelj uz stalno miješanje uzorka magnetskom miješalicom, vrši se ekstrakcija sastojaka arome na polimernu stacionarnu fazu (punilo od polidimetilsiloksana-divinilbenzena) debljine 65 µm. Uzorak se miješa 5 minuta na vodenoj kupelji (40 °C) radi zasićenja nadprostora sa svrhom bolje adsorpcije aromatičnih sastojaka nakon čega se ispušta igla u nadprostor uzorka. Adsorpcija se provodi na temperaturi od 40 °C (vodena kupelj) u trajanju od 45 minuta. Po završetku adsorpcije igla s adsorbiranim tvarima odmah se stavlja u injektor plinskog kromatografa te slijedi njihova toplinska desorpcija. Određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka vina provedeno je primjenom instrumentalne plinske kromatografije. U radu je korišten plinski kromatograf tvrtke Agilent 7890 B s maseno – selektivnim detektorom Agilent 5977 A.



Slika 12 Držači za SPME analizu i plinski kromatograf (Andabak, 2017.)

Uvjeti rada plinskog kromatografa:

Parametri ekstrakcije:

- temperatura ekstrakcije: 40 °C,
- vrijeme ekstrakcije: 45 minuta,
- tip mikroekstrakcijske igle: 65 µm PDMS/DVB (Supelco).

GC – MS analitički uvjeti:

Kolona: HP5; 60 m x 0,25 mm x 0,25 mm (Agilent),

- početna temperatura: 40 °C (2 min),
- temperaturni gradijent: 6 °C/min.

Plin nosač: helij (čistoće 5,0) s protokom 1 ml/min pri 40 °C,

- konačna temperatura: 230 °C,
- temperatura injektora: 250 °C,
- temperatura detektora: 280 °C,
- desorpcija uzorka u injektor: 7 min.

U izradi kromatografske analize korišten je splitless mod.

Identifikacija sastojaka arome

Komponente vina identificirane su na osnovu njihovih spektara masa i na osnovi njihovih vremena zadržavanja, odnosno retencijskih indeksa. Svaka točka na kromatogramu osim vremena zadržavanja i intenziteta sadrži i spektar masa. Dobiveni spektri masa na vrhovima

kromatografskih pikova uspoređeni su s bazom podataka NIST 2.0 i s bazom koja je kreirana na instrumentu tijekom prijašnjih analiza vina. Obzirom da su spektri masa komponenata vina jako slični i ovise o instrumentu i uvjetima snimanja, dodatni kriterij za identifikaciju su retencijski indeksi komponenata koji se izračunavaju usporedbom vremena zadržavanja komponenata s vremenom zadržavanja ravnolančanih ugljikovodika. Iz tog razloga je analizirana smjesa ravnolančanih ugljikovodika C8-C20 priređena u laboratoriju prema istim uvjetima analize. Određena su vremena zadržavanja pojedinih ravnolančanih ugljikovodika te su izračunati retencijski indeksi komponenata vina prema jednadžbi:

$$I = 100 \times \left[n + \frac{log\left(t'_{r(unknown)}\right) - log\left(t'_{r(n)}\right)}{log\left(t'_{r(N)}\right) - log\left(t'_{r(n)}\right)} \right]$$

gdje je:

I retencijski indeks zadržavanja,

n broj ugljikovih atoma u manjem n-alkanu,

N broj ugljikovih atoma u većem n-alkanu,

t'_r prilagođeno vrijeme zadržavanja.

Dobiveni retencijski indeksi uspoređeni su s literaturom i dodatno potvrdili identifikaciju komponenata.

Sastojci arome koji su očitani na plinskom kromatografu:

Etil heksanoat, dietil sukcinat, etil oktanoat, etil fenilacetat, propil oktanoat, etil dekanoat, etil izopentil sukcinat, izopentil oktanoat, etil cinamat, etil laurat, izopropil laurat, etil miristat, izopropil miristat, diizobutil ftalat, etil pentadekanoat, metil palmitat, dibutil ftalat, etil palmitat, etil linoleat, 1-heptanol, metionol, 2-etil-heksanol, oktanol, feniletil alkohol, dodekanol, heksanska kiselina, oktanska kiselina, nonanska kiselina, dekanska kiselina, laurinska kiselina, miristinska kiselina, benzaldehid, dodekanal, geranil aceton, lilial, tetradekanal, heksadekanal, β-

mircen, D-limone, β-ocimen, γ-terpinen, terpinolen, linalool, hotrienol, nerol oksid, α-terpineol, citronelol, geraniol, cis-β-farnesen, α-farnesen, nerolidol.

4. REZULTATI

Prikaz rezultata:

Tablica 2 Udio ukupnih antocijana, antioksidacijska aktivnost te polimerna boja autohtonih armenskih vina

	Antioksidacijska aktivnost (mmol TE/100 mL)	Antocijani (mg/L)	Polimerna boja (%)
Avagi	4,147	13,179	73,481
Seyrak Areni	4,316	20,269	71,003
Tozot	5,89	22,604	69,223
Movsesi	6,165	27,192	59,517
Areni	6,221	28,693	53,436

Tablica 3 Retencijski indeksi aromatičnih spojeva identificiranih u autohtonim armenskim vinima

Spoj	RI (Retencijski indeks)
Alkoholi	
Metionol	984
Etil heksanol	1029
Oktanol	1069
Feniletil alkohol	1104
Dodekanol	1469
Kiseline	
Heksanska kiselina	1007
Oktanska kiselina	1185
Dekanska kiselina	1371
Aldehidi i ketoni	
Benzaldehid	955
Dekanal	1197
Dodekanal	1398
Geranil aceton	1447
Lilial	1517
Tetradekanal	1601
α-heksilcinamal	1742

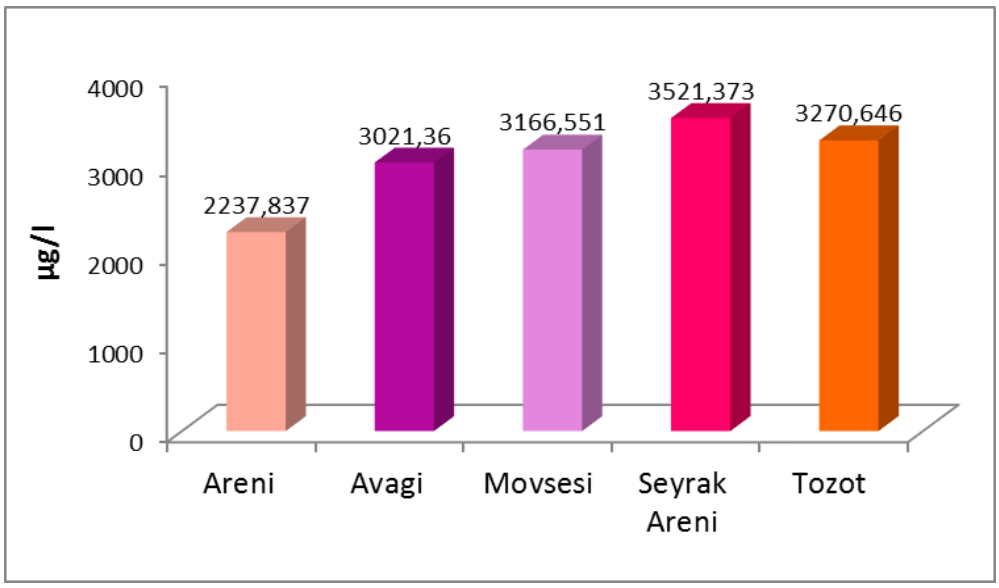
Terpeni	
Linalool	1093
Citronelol	1221
Eugenol	1350
β-damascenon	1377
Miristicin	1511
Nerolidol	1556
Fluoren	1569
α-cedrol	1592
Esteri	
Etil heksanoat	996
Etil sorbat	1092
Dietilsukcinat	1179
Etil oktanoat	1191
Etil fenilacetat	1235
Dietilglutarat	1276
Etil dekanoat	1383
Etil vanilat	1579
Etil laurat	1583
Izopropillaurat	1615
Izoamildekanoat	1634
Etil tridekanoat	1681
Etil miristat	1787
Izopropilmiristat	1817
Diizobutilftalat	1862
Etil pentadekanoat	1880
Etil palmitat	1979
Etil linoleat	2144
Etil oleat	2152
Etil stearat	2179
Ostalo	
4-etil fenol	1166
Vitispiran	1266
4-etil gvajakol	1268
p-benzokvinon	1459

Tablica 4 Koncentracije pojedinih alkohola, kiselina, terpena, aldehida i ketona prisutnih u autohtonim armenskim vinima

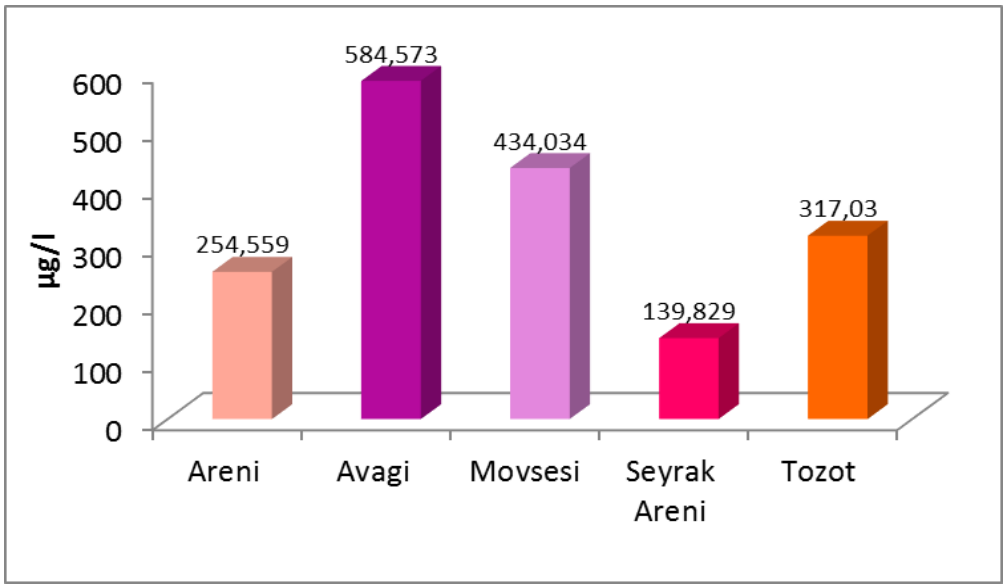
Spojevi	Areni	Avagi	Movsesi	Seyrak Areni	Tozot
Alkoholi (µg/l)					
Metionol	21,382	26,164	19,126	34,856	23,93
Etil heksanol	18,103	33,236	-	-	14,176
Oktanol	22,305	16,425	18,422	17,117	21,89
Feniletil alkohol	2140,731	2834,957	3006,5	3382,997	3072,417
Dodekanol	35,316	110,578	122,503	86,403	138,233
Kiseline (µg/l)					
Heksanska kiselina	45,393	97,721	51,547	29,799	10,875
Oktanska kiselina	194,177	401,494	356,833	85,696	246,905
Dekanska kiselina	14,989	85,358	25,654	24,334	59,25
Aldehidi i ketoni (µg/l)					
Benzaldehid	-	-	-	17,23	-
Dekanal	7,276	12,214	-	-	-
Dodekanal	79,148	31,419	4,6	-	-
Geranil aceton	14,278	27,421	19,143	25,038	-
Lilial	-	-	15,293	-	-
α-heksilcinamal	6,813	35,861	121,672	43,005	40,129
Terpeni (µg/l)					
Citronelol	-	-	9,145	6,226	-
Eugenol	-	8,912	10,396	6,718	6,426
β-damascenon	12,06	-	-	-	-
Miristicin	-	10,117	-	8,081	-
Nerolidol	15,326	13,734	19,659	-	22,407
Fluoren	6,0552	-	6,243	7,404	10,235

Tablica 5 Koncentracije pojedinih estera i ostalih identificiranih spojeva u autohtonim armenskim vinima

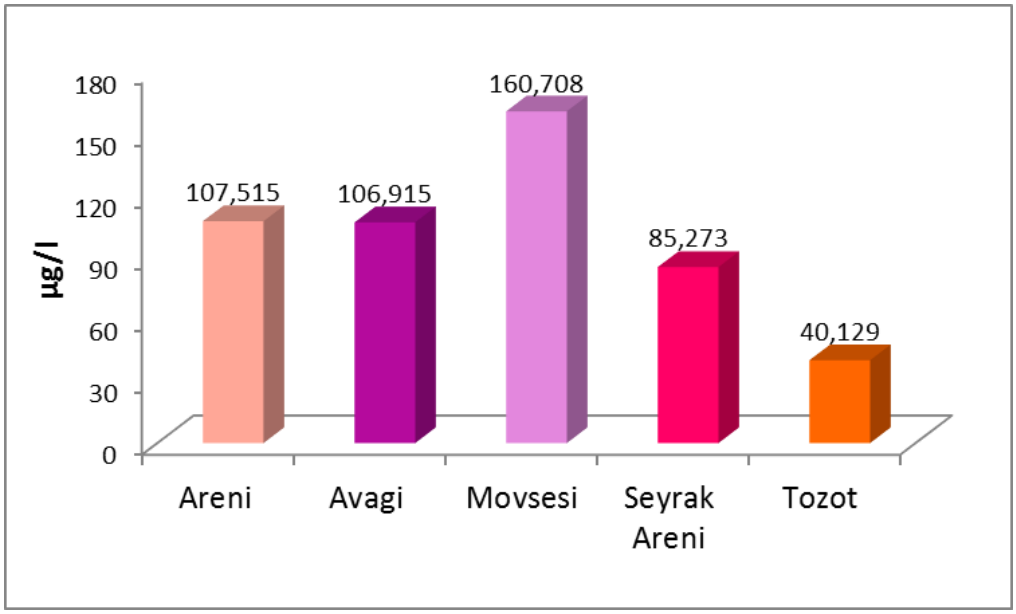
Spojevi	Areni	Avagi	Movsesi	Seyrak Areni	Tozot
Esteri (µg/l)					
Etil heksanoat	96,482	67,615	62,786	104,82	88,890
Dietilsukcinat	-	2345,8	-	2554,319	1805,199
Etil oktanoat	167,464	124,676	-	256,21	34,239
Etil fenilacetat	8,454	21,429	20,729	31,164	30,729
Dietilglutarat	-	11,741	6,273	9,979	11,550
Etil dekanoat	100,586	25,388	27,782	20,101	8,969
Etil vanilat	-	4,795	-	-	17,041
Etil laurat	26,016	-	25,584	13,41	14,281
Izopropillaurat	-	11,669	-	-	-
Etil tridekanoat	8,109	23,895	13,664	11,612	39,327
Etil miristat	90,962	18,536	17,886	14,284	40,765
Izopropilmiristat	18,433	101,069	31,155	23,567	42,080
Diizobutilftalat	10,979	-	80,842	40,214	39,417
Etil pentadekanoat	58,489	43,011	182,135	48,938	38,295
Etil palmitat	174,738	-	15,24	2,63	1,928
Etil linoleat	3,113	7,412	39,682	8,695	-
Etil oleat	17,282	-	6,323	-	-
Ostali identificirani spojevi (µg/l)					
4-etil fenol	-	-	-	33,251	
Vitispiran	26,375	-	33,616	34,687	41,909
4-etil gvajakol	-	27,716	7,592	-	9,137
p-benzokvinon	20,72	28,32	15,268	-	16,966



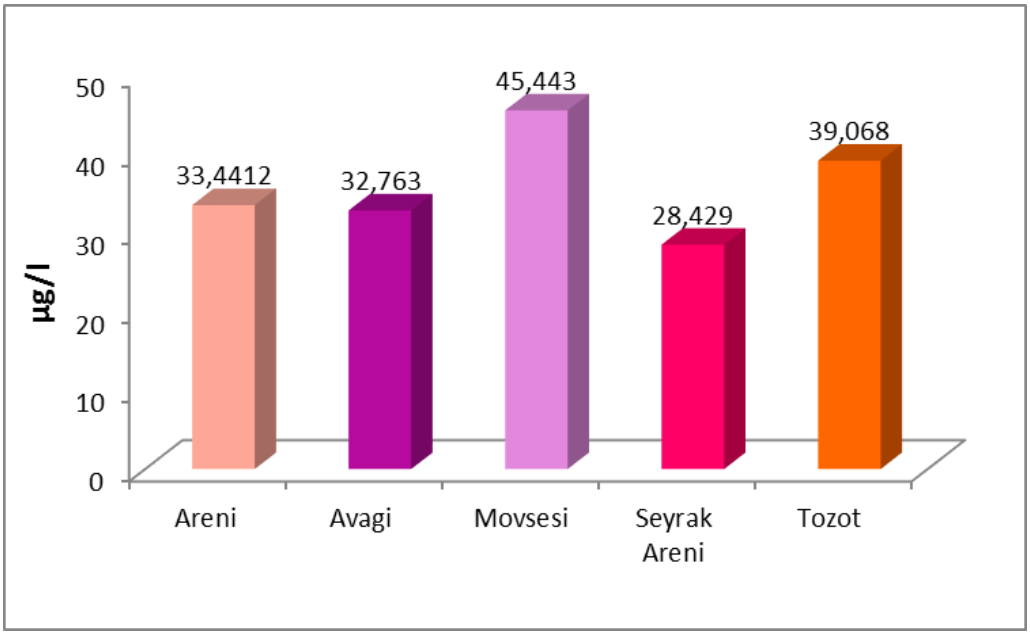
Slika 13 Koncentracija alkohola u autohtonim armenskim vinima



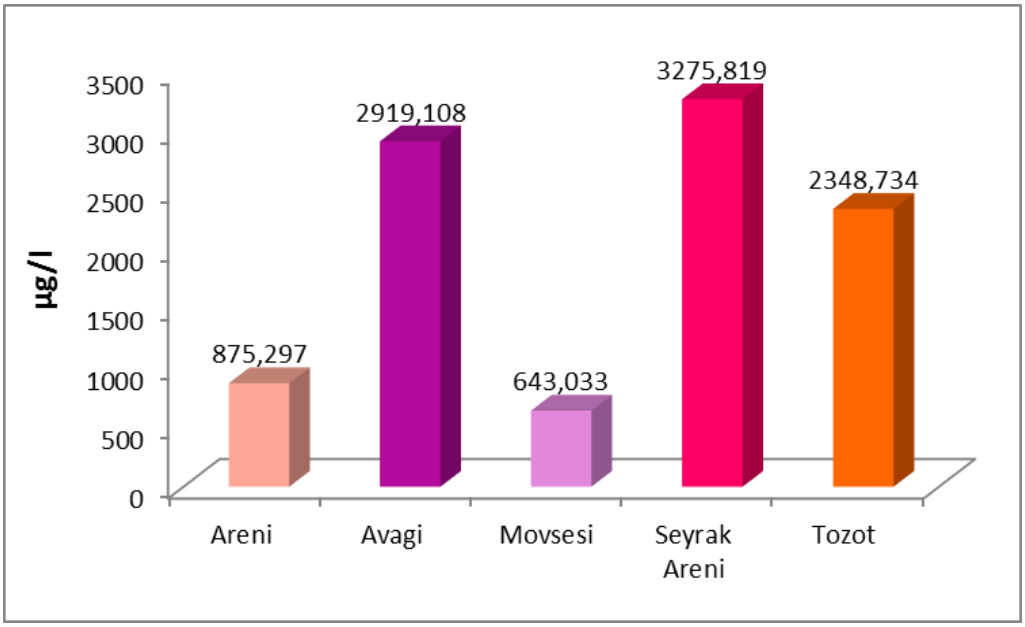
Slika 14 Koncentracija kiselina u autohtonim armenskim vinima



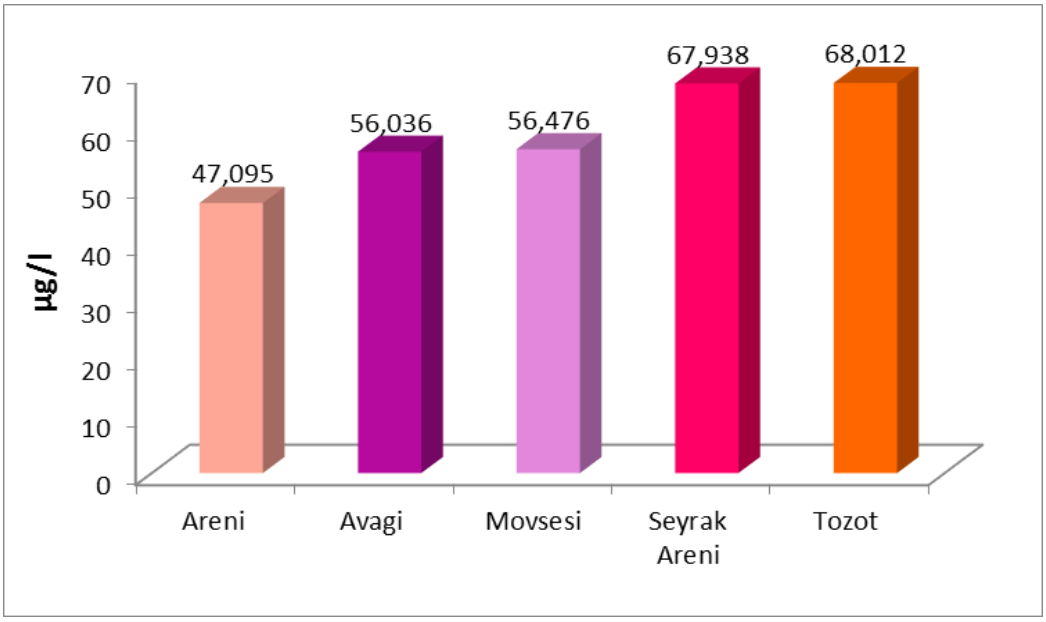
Slika 15 Koncentracija aldehida i ketona u autohtonim armenskim vinima



Slika 16 Koncentracija terpena u autohtonim armenskim vinima



Slika 17 Koncentracija estera u autohtonim armenskim vinima



Slika 18 Koncentracija ostalih spojeva prisutnih u autohtonim armenskim vinima

5. RASPRAVA

U **Tablicama 2, 3, 4, 5** i na **Slikama 13, 14, 15, 16, 17** prikazani su rezultati dobiveni analizom pet autohtonih armenskih vina.

Visok udio fenolnih spojeva karakterističan je za crna vina. Ovi spojevi potječu iz kožice i sjemenke grožđa, a doprinose boji, okusu i trpkosti crnih vina. U ljudskom organizmu imaju zaštitnu ulogu, tj. uklanjaju slobodne radikale koji štetno djeluju na organizam. U **Tablici 2** prikazana je vrijednost antioksidacijske aktivnosti u analiziranim vinima. Najveću vrijednost antioksidacijske aktivnosti imala su vina sorte Areni (6,22 mmol/100 mL) i Movsesi (6,165 mmol/100 mL). Nešto manju vrijednost imalo je vino sorte Tozot (5,89 mmol/100 mL), dok su najmanje vrijednosti bile kod vina sorte Seyrak Areni (4,32 mmol/100 mL) te Avagi (4,15 mmol/100 mL). Nadalje, vino sorte Areni sadržavalo je i najmanji udio polimerne boje (53,44 %), ali najveći udio antocijana (28,69 mg/L), glavnih pigmenta koji su odgovorni za boju crnih vina. U vinu sorte Seyrak Areni utvrđen je visok udio polimerne boje (71,00 %) I koncentraciju antocijana (20,27 mg/L). Najveći udio polimerne boje imalo je vino sorte Avagi (73,48 %), koje je sadržavalo najmanji udio antocijana (13,18 mg/L).

U **Tablici 4** prikazan je sastav spojeva arome u analiziranim vinima. Ukupna aroma nekog vina potječe najprije od same sorte (primarna aroma), ali veliki utjecaj imaju i spojevi arome koji nastaju tijekom fermentacije mošta (sekundarna aroma) ili odležavanja i skladištenja vina (tercijarna aroma ili „*bouquet*“). Najčešće se svi spojevi arome mogu podijeliti u sljedeće skupine: viši alkoholi, kiseline, karbonilni spojevi, terpeni, esteri i ostali.

Viši alkoholi nastaju kao sekundarni produkti metabolizma kvasaca i daju poželjan doprinos aromi ukoliko se u vinu nalaze u koncentracijama ispod 300 mg/L. U analiziranim uzorcima identificirano je pet viših alkohola, od kojih je najveću koncentraciju imao feniletil alkohol (cvjetna aroma ruže). Najveću koncentraciju feniletil alkohola sadržavalo je vino sorte Seyrak Areni (3382,99 µg/L), te je to vino ujedno imalo i najveću ukupno koncentraciju viših alkohola (3521,37 µg/L). Najmanju koncentraciju feniletil alkohola, ali i najmanju ukupnu koncentraciju viših alkohola sadržavalo je vino sorte Areni (2237,84 µg/L). Od ostalih pronađenih alkohola, nešto veću koncentraciju imao je dodekanol (najveća je bila u vinu sorte Tozot, 138,23 µg/L), nakon čega slijede metionol, etil heksanol i oktanol sa slatkom, masnom i voćnom aromom.

Masne kiseline doprinose masnoj i voštanoj aromi vina s kiselom notom. U armenskim vinima identificirane su heksanska, oktanska i dekanska kiselina, od kojih je u najvećoj koncentraciji bilo oktanske kiseline (od 85,69 μg/L u vinu sorte Seyrak Areni, do 401,49 μg/L u vinu sorte Avagi, koje je sadržavalo i najveću ukupnu koncentraciju kiselina, 584,57 μg/L). Najmanju ukupnu koncentraciju kiselina sadržavalo je vino sorte Seyrak Areni (139,83 μg/L).

Karbonilni spojevi, aldehidi i ketoni, najčešće nastaju u manjim koncentracijama u vinu, te nemaju značajnu ulogu u stvaranju sortnih aroma. Doprinose ukupnoj aromi vina s voćnim, slatkim, svježim, cvjetnim ili masnim notama. U svim analiziranim uzorcima identificiran je α-heksilcinamal, s najvećom koncentracijom u vinu sorte Movsesi (121,67 μg/L), koje je imalo i najveću ukupnu koncentraciju karbonilnih spojeva (160,71 μg/L). Najmanju ukupnu koncentraciju karbonilnih spojeva sadržavalo je vino sorte Tozot, gdje je pronađen samo α-heksilcinamal (40,13 μg/L). Benzaldehid identificiran je samo u vinu sorte Seyrak Areni (17,23 μg/L), a lilial samo u vinu sorte Movsesi (15,29 μg/L).

Terpeni su predstavnici sortne arome, a mogu biti slobodni (određuju aromu grožđa i mošta) te vezani za šećere (oslobađaju se tijekom prerade grožđa i fermentacije mošta). U armenskim vinima identificirano je ukupno šest terpena koji vinu daju cvjetnu, voćnu, citrusnu i slatku aromu. Najveću ukupnu koncentraciju terpena sadržavalo je vino sorte Movsesi (45,44 μg/L), gdje je najveći udio imao nerolidol (19,66 μg/L, cvjetna i citrusna aroma s drvenom notom). U uzorcima su pronađene i nešto manje koncentracije eugenola i fluorena, te citronelola i miristicina koji nisu pronađeni u svim analiziranim vinima. β-damascenon identificiran je samo u vinu sorte Areni (12,06 μg/L, slatka, voćna aroma s notom ruže, šljive i maline).

Esteri u vinu nastaju reakcijom acetil-CoA s višim alkoholima te vrlo često predstavljaju najveću skupinu spojeva arome doprinoseći slatkoj, voćnoj, voštanoj i mliječnoj aromi. Od pet armenskih vina, najveću ukupnu koncentraciju estera sadržavalo je vino sorte Seyrak Areni (3275,82 μg/L), s najvećim udjelom dietil sukcinata (2554,32 μg/L). Najmanju ukupnu koncentraciju estera imalo je vino sorte Movsesi (643,03 μg/L), koje, kao i vino sorte Areni, nije sadržavalo dietil sukcinat. U svim uzorcima, najzastupljeniji su bili etil esteri heksanske, oktanske, dekanske, laurinske, miristinske, pentadekanske, palmitinske i linoleinske kiseline. Ostali esteri su zastupljeni u nešto manjim koncentracijama te nisu pronađeni u svim uzorcima. Izopropil laurat pronađen je samo

u vinu sorte Avagi (11,67 µg/L). Među etil esterima, najveću koncentraciju imao je etil oktanoat (256,21 µg/L u vinu sorte Seyrak Areni), zatim etil pentadekanoat (182,14 µg/L u vinu sorte Movsesi) te etil palmitat (174,74 µg/L u vinu sorte Areni).

Od ostalih spojeva, u analiziranim vinima identificirani su vitispiran (najveće koncentracije u vinu sorte Tozot; 41,91 µg/L) te P-benzokvinon (najveće koncentracije u vinu sorte Avagi; 28,32 µg/L). U aromi analiziranih vina pronađeni su i 4 etil-gvajakol, s najvećom koncentracijom u vinu sorte Avagi (27,72 µg/L), te 4-etil fenol, koji je pronađen samo u vinu sorte Seyrak Areni (33,25 µg/L). Ova dva spoja najčešće se vežu uz neugodnu aromu vina (po štali i miševima).

6. ZAKLJUČAK

Na osnovu dobivenih rezultata, izvedeni su sljedeći zaključci:

- Pored načina prerade grožđa i tehnoloških postupaka proizvodnje vina, sorta grožđa od koje se vino proizvodi ima veliki utjecaj na aromatski profil i fenolni sastav gotovog proizvoda.
- Rezultati dobiveni analizom autohtonih armenskih vina pokazuju razlike među sortama u ukupnom udjelu antocijana i antioskidacijske aktivnosti. Najveću antioksidacijsku aktivnost i najmanji udio polimerne boje imalo je vino sorte Areni, dok je vino sorte Avagi imalo najmanju. Također, vino sorte Areni sadržavalo je i najveću koncentraciju antocijana, dok je najmanja bila u vinu sorte Avagi.
- Aromatski profil vina karakterizira pet najvećih skupina spojeva (viši alkoholi, kiseline, karbonilni spojevi, terpeni i esteri). Najveću ukupnu koncentraciju alkohola i estera sadržavalo je vino sorte Seyrak Areni, koje je ujedno imalo i najmanju koncentraciju kiselina i terpena.
- Što se tiče udjela masnih kiselina u aromi vina, najviše se ističe vino sorte Avagi s najvećom koncentracijom kiselina, dok je vino sorte Movsesi imalo najveće udjele aldehida, ketona te terpena.
- Esteri su predstavljali najbrojniju skupinu spojeva arome, gdje su najzastupljeniji bili etil esteri masnih kiselina. Pored toga, u najvećim koncentracijama pronađen je dietil sukcinat.
- Vina sorte Areni i Tozot se nisu isticala s nijednom skupinom spojeva arome. Vino sorte Tozot je sadržavalo nešto veće koncentracije alkohola i estera, ali izrazito male koncentracije karbonilnih spojeva.
- U analiziranim vinima identificirani su i 4-etil fenol te 4-etil gvajakol, koji nastaju kao produkti metabolizma divljeg kvasca *Brettanomyces*, koji se može pronaći na zidovima vinskih podruma te na uređajima ili opremi u pogonu.

7. LITERATURA

Andabak J: Utjecaj vrste fermentacijske posude na aromatski profil i boju vina sorte Plavac mali. *Diplomski rad.* Prehrambeno-tehnološki fakultet. Osijek, 2017.

Aroutionian RM, Nebish A, Margaryan K, Melyan G, Margaryan K: Phenotypic profiles of Armenian grape cultivars**.** *BIO Web of Conferences* 5: 1-5, 2015**.**

Aroutionian RM, Nebish A, Margaryan K, Melyan G: Armenian grapevines: cytoembryological, morphological and chemical analysis*. Armenian Academy of Viticulture and Wine-making* 54: 139–142, 2015*.*

Artak G, Kazumyan K: The investigation of phenolic compounds and anthocyanins of wines made of the grape variety karmrahyut. *Annals of Agrarian Science* 16:160-162, 2018.

Besten V: Antocijani, stabilnost i važnost u prehrambenim proizvodima. *Završni rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet. Osijek, 2011.

Cigić Z: Izravni vazodilatacijski i in vitro antioksidacijski učinci vina i prošeka. *Diplomski rad*. Medicinski fakultet. Split, 2016.

Dallakyan M, Zyprian E, Maul E, Yesayan A, Hovhannisyan N: Genetic characterization of grape varieties in Armenia. *Center of Excellence in Applied Biosciences* 54: 23-26, 2015.

Dallakyan MV, Yesayan AH, Hovhannisyan NA*: Armenian aborigine grape varieties identification and diversity assessment by SNP markers set for grapevine*. Department of Ecology and Nature Protection, Faculty of Biology, Yerevan State University, Yerevan, Armenia, 2014.

Hovhannisyan NA, Dallakyan MV, Essoyan SS, Manukyan IM, Yesayan AH: Preliminary data on morphological diversity of neglected authochtonous grape varieties of Armenia. *Biology Journal of Armenia* 68:98-104, 2016.

Hovhannisyan N, Dallakyan M, Yesayan A, Bagoyan T, Melyan G i Gasparyan B: Multidisciplinary investigation of identity of the „Areni“ grape variety. *Bio Web of Conferences* 5: 1-5, 2015.

Joscelyne-Louise J: Consequences of extended maceration for red wine colour and phenolics. *Doktorski rad.* School of Agriculture, Food and Wine, Discipline of Wine and Horticulture*,* The University of Adelaide, 2009.

Kesić A, Smajlović B, Hodžić Z, Ibrišimović Mehmetović. N*:* Utjecaj geografskog porijekla na antioksidacijsku aktivnost domaćih vina. *Hrana u zdravlju i* bolesti 4:93-97, 2015.

Mačinković M: Utjecaj skladištenja na tvari boje i arome vina sorte Bouvie. *Diplomski rad.* Prehrambeno-tehnološki fakultet. Osijek, 2017.

Margaryan KS, Aroutionian RM, Melyan GH, Failla O: Polyphenolic Profiles Detected in Armenian Wine and Table Grape Cultivars. *Acta horticulture* 1032: 139-144, 2014.

Margaryan KS, Aroutionian RM, Melyan GH, Failla O: Preliminary study of Armenian grapevines phenolic contents**.** *Vitis* 54: 155-156, 2015.

Molnar J: Utjecaj ranije zaustavljene alkoholne fermentacije na aromatski profil i boju vina sorte Cabernet Sauvignon. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet. Osijek, 2017.

MPS, Ministarstvo poljoprivrede RH: *Zakon o vinu*. Narodne novine 96/03, 2003.

Petravić-Tominac V, Mujadžić S , Zechner-Krpan V, August H , Velić D , Velić N: Odabrani biotehnološki čimbenici koji utječu na alkoholnu fermentaciju pri proizvodnji vina. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition* 12: 100-106, 2017.

Pichler A: Osnove tehnologije vina. *Nastavni materijali.* Prehrambeno-tehnološki fakultet. Osijek, 2017.

Prce V*:* Sadržaj antocijana, polifenola, flavonoida I antioksidativna aktivnost u crnim vinima Slovačkog vinogorja. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet. Osijek, 2014.

Primorac Lj: Kontrola kakvoće hrane. *Nastavni materijali*, Prehrambeno-tehnološki fakultet. Osijek, 2015.

Primorac Lj: *Kontrola kakvode hrane*. Interna skripta, Prehrambeno-tehnološki fakultet. Osijek, 2007.

Radovanović V: *Tehnologija vina*. Drugo prerađeno i dopunjeno izdanje, IRO "Građevinska knjiga", Beograd, 1986.

Ribereau-Gayon P, Glories Y, Maujean A, Dubourdiedieu D: *Handbook of Enology: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments.* Volume 1, 2nd Edition, France, 2006.

Scannell JN, Newton GJ, Ohanian R: Viticulture wine production and agriculture In Armenia. *The Journal of Applied Business Research* 18: 4, 2002.

Sokolić I: *Prvi hrvatski vinogradarsko-vinarski leksikon.* 2. Izdanje, Vitagraf, Rijeka, 1993.

Spajić A: Utjecaj ranije zaustavljene alkoholne fermentacije na aromatski profil i boju vina sorte Graševina*. Diplomski rad.* Prehrambeno-tehnološki fakultet. Osijek, 2017.

Šimunić J: Utjecaj mikrovalnog zračenja na hlapljive komponente kaše od višanja s dodatkom šećera. *Diplomski rad.* Prehrambeno-tehnološki fakultet. Osijek, 2017.

Vine RP, Harkness ME: *Winemaking - from grape growing to marketplace.* Springer Science+Business Media, LLC, New York, 2002.

Vinković-Vrček I, Bojić M, Žuntar I, Menđaš G, Medić-Šarić M: Phenol content, antioxidant activity and metal composition of Croatian wines deriving from organically and conventionally grown grapes. *Food chemistry* 124: 354-361, 2011.

Web 1: https://www.google.rs/search?biw=1600&bih=719&tbm=isch&sa=1&ei=9tbhW5TpC5CyrgTEuKjIAQ&q=refraktometar&oq=refraktometar&gs_l=img.3..0l2j0i30k1j0i5i10i30k1j0i30k1l6.3677.7095.0.8000.13.13.0.0.0.0.169.758.9j4.13.0....0...1c.1.64.img..0.13.753...0i67k1j35i39k1j0i10k1.0.JDVXGyKkryk [1.11.2018.]

Web 2:
https://www.google.rs/search?biw=1600&bih=719&tbm=isch&sa=1&ei=9tbhW5TpC5CyrgTEuKjIAQ&q=mo%C5%A1tna+vaga&oq=mo%C5%A1tna+vaga&gs_l=img.3..0i30k1.3215.7782.0.8625.11.6.0.5.5.0.152.844.0j6.6.0....0...1c.1.64.img..0.11.863...0j35i39k1j0i5i30k1.0.wy7XyNOoKhs#imgrc=GIS-ZPTnxZmWnM: [1.11.2018.]

Web 3:
https://www.google.rs/search?biw=1600&bih=719&tbm=isch&sa=1&ei=_dbhW_G9F6uMrwSQopDYBg&q=mulja%C4%8Da+i+runja%C4%8Da+za+vino&oq=mulja%C4%8Da+i+runja%C4%8Da+za+vino&gs_l=img.3...267081.271704.0.273312.12.11.1.0.0.0.143.1089.0j9.9.0....0...1c.1.64.img..2.0.0....0.ADeZxFPICtQ#imgrc=MZa2DFmCpg55FM [1.11.2018.]

Web 4:
https://www.google.rs/search?biw=1600&bih=719&tbm=isch&sa=1&ei=xYHgW8CHA_KCmgWV8LugAw&q=shematski+prikaz+plinskog+kromatografi&oq=shematski+prikaz+plinskog+kromatografi&gs_l=img.3...218291.223639.0.225321.17.17.0.0.0.0.151.2179.0j17.17.0....0...1c.1.64.img..0.0.0....0.DJaf9n_xU5w#imgrc=EB3avYiN_PS_2M [5.11.2018.]

Web 5:
https://www.google.rs/search?q=antocijanidini&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiB5Nv2ptLeAhWGBSwKHRVzBJ8Q_AUIDigB&biw=1600&bih=719#imgrc=kMJiI1HgBYuniM [5.11.2018.]

Web 6:

https://issuu.com/developmentfoundationofarmenia/docs/2015_fall_issue_-_aws_wine_j?fbclid=IwAR0fMtVLBfFAqrzOKYKM34kLlZln2Mh7LzqBOYv_YWTOuu0BF-anDXkwaTM