Aromatski i fenolni sastojci u autohtonim vinima Južne Dalmacije

Perić, Kristina

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:109:069126

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

Kristina Perić

AROMATSKI I FENOLNI SASTOJCI U AUTOHTONIM VINIMA JUŽNE DALMACIJE

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 X. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2017./2018. održanoj 9. srpnja 2018. godine
Mentor:	izv. prof. dr. sc. Anita Pichler
Pomoć pri izradi:	Ivana Ivić, mag. ing., asistent

Aromatski i fenolni sastojci u autohtonim vinima Južne Dalmacije

Kristina Perić, 444-DI, 2018.

Sažetak:
Vino je prehrambeni proizvod dobiven alkoholnom fermentacijom masulja ili mošta pomoću kvasca *Saccharomyces cerevisiae*. Alkoholnom fermentacijom se šećeri iz grožđa - mošta prevode u alkohol pod anaerobnim uvjetima. Autohtone vinske sorte Južne Dalmacije kao što su Babić, Babica, Blatina, Plavac i Tribidrag su specifične sorte koje uspijevaju na kamenitom tlu. Crna vina su bogata taninima koji vinima daju oporost, gorčinu i trpkost. Koncentracija tanina u vinu ovisi o duljini procesa maceracije pri čemu tanini koji se nalaze u sjemenkama i peteljci grožđa prelaze u mošt, a kasnije u vino. Aromatične tvari su također veoma značajne za vino, između ostalog i za prihvaćenost vina od strane potrošača. One dolaze iz grožđa odakle prelaze u mošt, odnosno vino; zatim nastaju fermentacijom i odležavanjem vina te daju specifičnu aromu, tzv. „bouquet“. Rezultati analize pet vina Južne Dalmacije pokazali su da je najveći udio ukupnih antocijana i najveću antioksidacijsku aktivnost sadržavalo vino Babić, dok je najveći broj tvari arome dokazan u vinu Blatina.

Ključne riječi: tvari arome, fenoli, antioksidacijska stabilnost

Rad sadrži:	66	stranica
	24	slika
	5	tablica
	46	literaturnih referenci

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 Technology
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 of Food Technology Osijek Council at its session no. X. held on July 9, 2018.
Mentor:	Anita Pichler, PhD, associate prof.
Technical assistance:	Ivana Ivić, Master of Food Engineering

Aromatic and Phenolic Compounds in Autochthonous Wines of South Dalmatia

Kristina Perić, 444-DI, 2018.

Summary:

Wine is a food product obtained by alcoholic fermentation of must with the aid of yeast *Saccharomyces cerevisiae*. By alcoholic fermentation, sugar from grapes can be converted into alcohol under anaerobic conditions. The autochthonous wine varieties of Southern Dalmatia such as Babić, Babica, Blatina, Plavac and Tribidrag are specific varieties that grow on rocky soil. Red wines are rich in tannins that give pungency, bitterness and astringency to wines. The concentration of tannins in wine depends on the length of the maceration process, where the tannins from the seeds and petioles of the grapes pass into the must and later into the wine. Aromatic substances are also very important for wine, and among other things, for consumer acceptance of wine. They come from grapes from where they cross into must or wine; they are also produced by fermentation and aging of wine and they give a specific aroma, so-called „bouquet". The analysis of the five wines of Southern Dalmatia showed that the highest share of total anthocyanins and the highest antioxidant activity was found in the Babić wine, while the largest number of aroma compounds is identified in the Blatina wine.

Key words: aroma components, polyphenols, antioxidant activity

Thesis contains:	66	pages
	24	figures
	5	table
	46	references

Original in: Croatian

Defense commitee:

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

Defence 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.

Zahvalila bih se svojim roditeljima koji su mi omogućili ovo školovanje, sestri, bratu i djedu koji su bili uz mene i bili moja podrška kroz sve ove godine studija.

Hvala prijateljima, kolegama i kolegicama koji su mi uljepšali studentske dane.

Veliko hvala mentorici izv.prof.dr.sc. Aniti Pichler i asistentici Ivani Ivić na uloženom trudu i pomoći pri izradi diplomskog rada.

Sadržaj

1. UVOD ... 1
2. TEORIJSKI DIO ... 3
2.1. GROŽĐE ... 4
2.1.1. Vinova loza ... 4
2.1.2. Mehanički i kemijski sastav grožđa ... 4
2.2. VINO ... 7
2.2.1. Definicija i podjela vina ... 7
2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA ... 9
2.3.1. Ugljikohidrati ... 9
2.3.2. Alkoholi ... 10
2.3.3. Kiseline ... 12
2.3.4. Aldehidi i ketoni ... 14
2.3.5. Esteri ... 14
2.3.6. Tvari arome ... 14
2.3.7. Fenoli ... 15
2.3.8. Tanini ... 21
2.3.9. Enzimi ... 22
2.3.10. Mineralne tvari ... 22
2.3.11. Ekstrakt vina ... 23
2.3.12. Dušične tvari ... 23
2.3.13. Proteini ... 24
2.3.14. Antioksidativna stabilnost vina ... 24
2.4. PROIZVODNJA VINA ... 25
2.4.1. Proizvodnja crnih vina ... 25
2.5. ODREĐIVANJE SASTOJAKA AROME PLINSKOM KROMATOGRAFIJOM ... 32
2.5.1. Plinska kromatografija ... 32
2.5.2. Spektrofotometrija masa ... 34
2.5.3. SPME ... 35
3. EKSPERIMENTALNI DIO ... 37
3.1. ZADATAK ... 38
3.2. MATERIJALI I METODE ... 38
3.2.1. Karakteristike crnih vina ... 38
3.2.2. Kemijske analize vina ... 43
4. REZULTATI ... 48
6. ZAKLJUČCI ... 60
7. LITERATURA ... 62

Popis oznaka, kratica i simbola

SPME	Solid Phase Microextraction (mikroekstrakcija načvrstoj fazi)
GC	Plinska kromatografija
pH	Broj koji služi kao mjera kiselosti, odnosno lužnatosti vodenih otopina

1. UVOD

U Hrvatskoj se danas uzgaja velik broj sorti vinove loze. Hrvatska se nalazi u umjerenom klimatskom pojasu gdje su povoljni uvjeti za uzgoj vinove loze. U svijetu vinogradarstva poznato je pet uzgojnih zona koje su određene prema zbroju efektivnih temperatura, a Hrvatska je jedna od rijetkih zemalja koja ima tri zone. Zahvaljujući povoljnoj klimi, reljefu i tlu kod nas je moguće uzgajati puno kvalitetnih sorata vinove loze. Vinogradarstvo u Hrvatskoj ima dugu tradiciju. Jedna od prednosti koju posjeduje vinova loza jest mogućnost uzgoja na područjima gdje ne uspijevaju druge vrste (brdoviti tereni, pjeskovita i kamenita tla, krš itd.). U hrvatskim vinogradima u uzgoju se nalazi oko 200 sorata. Hrvatska je bogata autohtonim sortama vinove loze, ali su do danas mnoge od njih dovedene na rub izumiranja. Posljedica je da ih se danas uglavnom može naći sporadično, u mješovitim nasadima. Od oko 120 sorata koje se smatraju autohtonima, najznačajnija je sorta Plavac Mali od koje se proizvodi naše poznato vino s položaja Dingač. Najzastupljenije sorte crnog grožđa u Hrvatskoj čine: Plavac Mali, Plavina, Merlot, Babić, Frankovka, Teran, Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc, Pinot crni, Blatina, Trnjak, Carignan (Kontrec, 2017.).

2. TEORIJSKI DIO

2.1. GROŽĐE

2.1.1. Vinova loza

Vinova loza (*Vitis vinifera*) je jedna od najstarijih kultiviranih biljnih vrsta. Označava se kao domaća, kulturna i plemenita vinova loza. Vitko stablo loze puzi po tlu ili se pomoću vitica penje uz stablo (neku potporu) kako bi se listovi izložili suncu. Cvjetovi vinove loze su jednospolni ili dvospolni, skupljeni u cvat ili grozd (Prce, 2014.; Web 1).

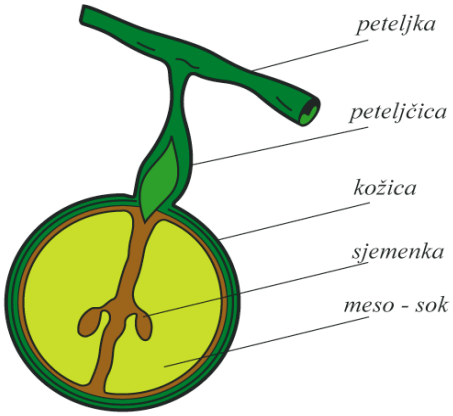
Sorte vinove loze za proizvodnju vina moraju pripadati isključivo *Vitis viniferi* ili križancima Vitis vinifere s drugim rodovima *Vitis*. Sorte vinove loze za proizvodnju vrhunskih i kvalitetnih vina pripadaju vrsti *Vitis vinifera*. Sorte kao što su: Noah, Othello, Isabelle, Clinton, Herbemont i drugi direktno rodni hibridi su zabranjeni za proizvodnju vina (NN 79/2017.).

2.1.2. Mehanički i kemijski sastav grožđa

Prema Zakonu o vinu grožđe je zdrav, zreo, prezreo, presušen ili prirodno smrznut plod vinove loze namijenjen proizvodnji vina ili drugih proizvoda od grožđa i vina čiji sok sadrži minimalnu količinu šećera od 64 ^{0}Oechsla (NN 96/2003.).

Bobice

Grozd se sastoji od bobica i peteljke. Glavni dio grozda čine bobice koje služe za jelo u svježem stanju ili za preradu u vino. Sorte grožđa se međusobno razlikuju po veličini bobica i po zbijenosti bobica na grozdu. Grozdovi s velikim, zbijenim bobicama se najčešće koriste za proizvodnju stolnih vina, a grozdovi sa sitnijim i manje zbijenim bobicama za proizvodnju kvalitetnih i vrhunskih vina. Bobicu čine pokožica, sjemenke, meso, grožđani sok. Mehanički i kemijski sastav grožđa je različit za svaku sortu (Radovanović, 1986.).



Slika 1 Mehanički sastav bobice (izvor: web 6)

Peteljka

Peteljka pretstavlja skelet grozda na kome se nalaze bobice. Tijekom vegetacije, peteljka je zeljasta te ima ulogu provodnika hranjivih tvari do lista i bobica. U stadiju pune zrelosti, peteljka se jednim dijelom zdrveni čime se smanjuje ili sasvim prestaje doticaj sokova i drugih hranjivih tvari iz čokota. Sorte grožđa za proizvodnju stonih vina imaju manje peteljke u odnosu na sorte grožđa sa sitnijim i ne zbijenim bobicama. Peteljka ima vrlo nizak aciditet, što je bitno kod proizvodnje crnih vina, jer prisustvo peteljke u masulju smanjuje kiselost. Po kemijskom sastavu, peteljke su karakteristične po visokom udjelu polifenola. Crne i bijele sorte grožđa se razlikuju po sadržaju polifenola. Crne sorte grožđa su bogatije polifenolima od bijelih sorti. Kemijski sastav grožđa ima velik utjecaj na kvalitetu vina. Tanini spadaju u polifenole koji vinu daju opor, trpak i gorak okus (Radovanović, 1986.). Stoga, peteljke se uklanjaju tehnološkim procesom ruljanja kod proizvodnje bijelih vina. Kod proizvodnje crnih vina, peteljke se ne izdvajaju procesom ruljanja nego ostaju u masulju. Tijekom procesa maceracije tanini prelaze u mošt (Sokolić, 1993.).

Kožica

Kožica bobici služi kao plašt kojom ju obuhvata i štiti od vanjskih utjecaja. Na površini bobice se nalazi voštani sloj koji štiti bobicu od isušivanja, mašak koji daje bobici baršunast izgled. Mašak na kožici sadrži mikroorganizme (kvasce i bakterije) koje su donijeli vjetar i kukci. Pokožica bobice je bitna kod proizvodnje crnog vina zbog svog kemijskog sastava koji

sazrijevanja, šećeri i kiseline su slabo zastupljeni u pokožici. Pokožica bobice je bogata mineralnim tvarima (Andabak, 2017.; Radovanović, 1986.; Sokolić, 1993.).

Sjemenka

Najveći broj sorata vinove loze sadrži od 1 do 4 sjemenke. Neke sorte vinove loze (*Vitis apyrena*) mogu biti bez sjemena kao što su korint i sultanina. Bezsjemene sorte se najčešće koriste za proizvodnju suhih grožđica. Sjemenke grožđa su bogate uljem i taninima, ali tijekom sazrijevanja sadržaj tanina opada. Tanini tijekom procesa maceracije prijeći iz masulja u mošt, pogotovo ako je došlo do oštećenja sjemenke tijekom muljanja. Sjemenke grožđa se izdvajaju s tropom nakon procesa maceracije tj. nakon prešanja od mošta (Andabak, 2017.).

Meso

Meso bobice čini od 75 do 85% težine bobice. Sastoji se od velikih stanica s finom celulozom – pektinskom membranom, a unutarnji dio ispunjen je sokom (moštom). Meso bobice se razlikuje po strukturi i sastavu, te se prema tome može podijeliti u nekoliko zona:

- središnja zona – blizu sjemenke,
- periferna zona – blizu koštice,
- međuzona.

Sadržaj šećera i vinske kiseline najznačajniji je u međuzoni, a sadržaj jabučne kiseline raste od periferije prema središtu bobice. Kemijski sastav mesa bobice čine: voda (75-80%), šećer (18-25%), organske kiseline (0,5%), mineralne tvari (0,3-1%), celuloza (0,6%) (Andabak, 2017.).

2.2. VINO

2.2.1. Definicija i podjela vina

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 na:

Vina u užem smislu:

- mirna vina,
- pjenušava vina,
- biser vina,
- gazirana vina.

Specijalna vina:

- desertna vina,
- aromatizirana vina,
- likerska vina.

Po boji, vina se dijele na:

- bijela,
- ružičasta (rose),
- crna (crvena).

Prema sadržaju neprevrelog šećera, vina se dijelena:

- mirna vina: suha, polusuha, poluslatka i slatka,
- pjenušava, biser i gazirana vina: vrlo suha, suha, polusuha, poluslatka i slatka.

Vina se razvrstavaju u kvalitetne kategorije ovisno o kakvoći prerađenoga grožđa, prinosu po hektaru, stupnju zrelosti grožđa, prerade i njege, randmanu, količini prirodnog alkohola i drugih sastojaka te organoleptičkim (senzornim) svojstvima.

Po 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 kontroliranih i ograničenih vinorodnih područja,
    - vrhunsko vino s kontroliranih i ograničenih specifičnih vinorodnih područja,
    - predikatna vina s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom (NN, 2003.).

Stolno vino je vino proizvedeno od jedne ili više sorti grožđa vinove loze i pri tome ne može nositi oznaku sorte.

Vina s oznakom kontroliranog podrijetla

Oznaku kontroliranog podrijetla mogu dobiti proizvodi s vinogradarskog područja s utvrđenim organoleptičkim i kemijskim svojstvima značajnim za ekološke uvjete položaja i sorte ili grupe sorata grožđa tog područja.

Najvažnije vinske sorte u Republici Hrvatskoj:

KONTINENTALNA HRVATSKA

Bijela vina	**Crna vina**
❖ Graševina bijela	❖ Frankovka crna
❖ Rizling Rajnski bijeli	❖ Cabernet Sauvignon crni
❖ Shardonnay bijeli	❖ Portugizac crni
❖ Traminac mirisavi	❖ Pinot crni
❖ Traminac crveni	❖ Zweigelt
❖ Pinot bijeli	❖ Merlot crni
❖ Pinot sivi	
❖ Sauvignon bijeli	
❖ Plemenka bijela	

PRIMORSKA HRVATSKA

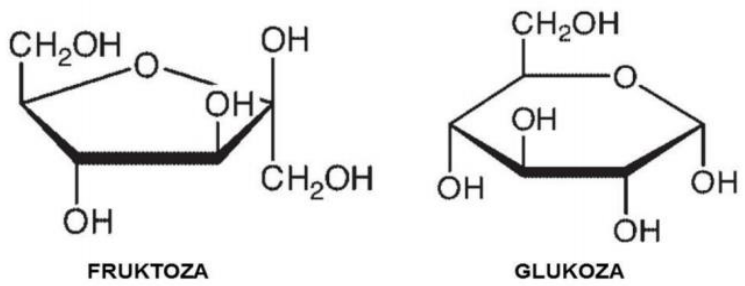
Bijela vina	Crna vina
❖ Malvazija Istarska bijela	❖ Plavac mali
❖ Pošip bijeli	❖ Babić crni
❖ Grk bijeli	❖ Merlot crni
❖ Maraština bijala	❖ Teran crni
❖ Žilavka bijela	❖ Cabernet Sauvignon crni
❖ Kujundžuša	❖ Plavina
❖ Žlahtina bijela	❖ Crljenak

2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA

2.3.1. Ugljikohidrati

Šećer je osnovni sastojak grožđa, koji nastaje fotosintezom.Na osnovu sadržaja šećera i kiselina u grožđu, određuje se stupanj zrelosti grožđa. Šećeri prisutni u grožđu su heksoze, D-glukoza i D-fruktoza. Na početku dozrijevanja u grožđu se nalazi veća koncentracija glukoze, ali se sazrijevanjem i djelovanjem epimeraze povećava udio fruktoze, pri čemu je ona jedan od indikatora zrelosti. 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.

Glukoza ($C_6H_{12}O_6$) je jednostavan šećer (monosaharid), a naziva se još i grožđani šećer.



Slika 2 Strukturna formula fruktoze i glukoze (izvor: web 7)

Osim glukoze i fruktoze grožđe sadrži i druge šećere, ali u znatno manjim količinama. Od heksoza najzastupljeniji izomer glukoze je galaktoza.

Pentoze su prisutne u vrlo malim količinama (0,3-2 g/l), i kvasci ih ne previru. Najpoznatije pentoze su arabinoza i ksiloza pri čemu su zastupljenije u crnim vinima. Pentoze ne utječu na slatkoću jer im je indeks slatkoće samo 0,4.

Od oligosaharida koji su zastupljeni u grožđu najvažniji disaharidi su saharoza, maltoza, rafinoza i melibioza. Saharoze je najzastupljenija, a ostali oligosaharidi se nalaze samo u tragovima. Potrebno je istaknuti pektine i škrob, te sluzave tvari koje znatno otežavaju taloženje i bistrenje vina. Udio šećera u grožđu i moštu ovisi o sorti, okolinskim i vremenskim uvjetima. Visokokvalitetne sorte mogu imati od 22 do 28% šećera, a kvalitetne sorte imaju od 18 do 22% šećera (Prce, 2017.; Radovanović, 1986.).

2.3.2. Alkoholi

Pored vode, etanol (C_2H_5OH) je najzastupljenija tvar u vinu. Etanol nastaje alkoholnim vrenjem, prevođenjem šećera iz mošta u etanol pod anaerobnim uvjetima uz pomoć kvasca. Kvasac koji se koristi u alkoholnoj fermentaciji je najčešće *Saccharomyces cerevisiae*. Koliko će nastati etilnog alkohola ovisi o udjelu šećera u grožđu i moštu. Jačina vina se izražava preko volumnog udjela alkohola. Dopušteni udio alkohola u vinu, kod stolnih vina se kreće od 8,5% vol., a 15% vol. kod kvalitetnih i vrhunskih vina. Gustoća etanola je 0,79 kg/m^3, u vinima ga ima oko 100 g/l ili oko 12,6 g/l, ali može biti i u većim koncentracijama. Uglavnom je potrebno oko 16 g/l šećera da bi se postigao 1 volumni postotak alkohola. Pored etanola, u vinima su prisutni i drugi alkoholi (Andabak, 2017.; Prce, 2017.).

Metanol

Metanol je prisutan u vinima u vrlo malim količinama oko 30-35 mg/l, koji nema velik utjecaj na senzorska svojstva vina. Metanol nije produkt alkoholne fermentacije, nego se javlja u vinu kao nusprodukt. Metanol je rezultat enzimatske hidrolize metoksilnih skupina pektina tijekom fermentacije prema formuli $–OCH_3 + H_20 \rightarrow -OH + CH_3OH$.

Pektinske tvari se nalaze u malim količinama u čvrstim dijelovima grožđa (sjemenke, peteljke).

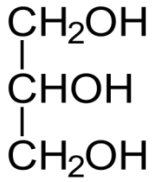
Najviše metanola ima u crnim vinima 152 mg/l, rose vina sadrže oko 91 mg/l, a najmanje ih je u bijelim vinima 63 mg/l. Vina od hibridnih sorti imaju veći udio metanola, u odnosu na vina proizvedena od sorte grožđa Vitis vinifere. Stoga nije dopušteno proizvoditi vino od hibridnih sorti grožđa.

Otrovnost metanola je dobro poznata. Nakon uzimanja metanola, on se brzo 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 uzrokuje sljepilo. Etanol s metanolom u otopini smanjuje otrovnost (što je slučaj s vinom). Bijelo vino sadrži od 40 do 140 mg/l, a crno od 120 do 200 mg/l (Andabak, 2017.; Prce, 2017.).

Viši alkoholi: propilni, butilni, amilni, heksilni, heptilni i njihovi izomeri javljaju se u minimalnim količinama u vinu, te daju vinima posebnu aromu, a posebno su važni njihovi esteri. Neki od njih kao, npr. izoamil acetat mladim vinima daje ugodnu aromu banane. Viši alkoholi nastaju kao rezultat rada kvasca bilo razgradnjom šećera ili aminokiselina u grožđu.

Terpenski alkoholi spadaju u nezasićene monovalentne alkohole i imaju značajnu ulogu u formiranju arome vina.

Polioli ili viševalentni alkoholi su alkoholi s više hidroksilnih skupina. Najvažniji od njih je glicerol, koji je treći najzastupljeniji spoj u vinima i najvažniji je nusprodukt fermentacije. Koncentracija glicerola je obično oko 5 g/l, ali može dostići koncentraciju i do 20 g/l, posebno kod grožđa zahvaćenog plemenitom plijesni Botrytis-om te nastaje na početku fermentacije. Kod nekih specijalnih vina kao što je Sherry može služiti kao hrana mikroflori u procesu proizvodnje. U vinima značajno utječe na okus dajući im osjećaj punoće i blagosti. Glicerol pojačava slatkoću etanola u suhim vinima, iako se smatra da nije odgovoran za slatkoću u polusuhim vinima.



Slika 3 Strukturna formula glicerola (izvor: web 8)

Ostali polioli su butandiol, arabitol, sorbitol, manitol. U aromatske alkohole spadaju feniletanol, tirozol i benzil alkohol, a nastaju fermentacijom iz fenilalanina. Najzastupljeniji je feniletanol koji ima miris meda. Feniletanol je prisutan u malim količinama, ali ipak jako važan za bouquet vina (Prce, 2017.).

2.3.3. Kiseline

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

Organske kiseline su prisutne u grožđu, a sazrijevanjem bobica udio organskih kiselina se smanjuje. Tijekom kišne godine, grožđe ima veći udio kiselina.

Grožđe sadrži sljedeće organske kiseline:

- vinska kiselina,
- jabučna kiselina,
- limunska kiselina,
- askorbinska kiselina,
- oksalna kiselina,
- glikolna kiselina,
- glukonska kiselina (grožđe zaraženo sivom plijesni).

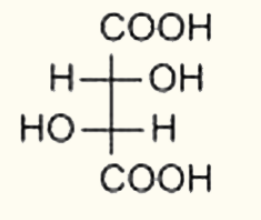
Kiseline u vinu su prisutne kao normalni sastojci vina, ali i kao produkt kvarenja vina. Kiseline koje su prisutne u vinu (hlapive i nehlapive) mogu biti anorganske kiseline, organske kiseline i soli različitih kiselina.

Vinska i jabučna kiselina su najzastupljenije kiseline. Jabučna kiselina se nalazi u grožđu početkom zrenja, ali se zrenjem smanjuje u procesu respiracije, što ovisi o temperaturi (Vine i sur., 1999.; Prce, 2017.).

Vinska kiselina

Vinska kiselina je najzastupljenija kiselina u vinu. Nalazi se slobodna u bobicama grožđa pri čemu se, tijekom sazrijevanja bobica grožđa, vinska kiselina prevodi u svoje soli, tj. u tartarate. Kalcijeve soli vinske kiseline su slabo topljive, stoga se talože u moštu ili vinu u vidu vinskog

kamena. Ona je ključna i najjača organska kiselina mošta, te najviše utječe na pH – vrijednost dajući moštu pH 3-3,5 (Radovanović, 1986.; Prce, 2017.).



Slika 4 Strukturna formula vinske kiseline (izvor: web 9)

Jabučna kiselina

Početkom dozrijevanja grožđa, bobice imaju visoku koncentraciju jabučne kiseline (25 g/l), a kasnije opada na iznos 3-5 g/l. Jabučna kiselina je lako topljiva u vodi i alkoholu.

Pad koncentracije kiselina u grožđu, osobito jabučne kiseline vezan je uz oksidaciju, izgaranje u procesu disanja, a ovi procesi povezani su s temperaturom zraka. Jabučna kiselina prelazi iz mošta u vino, stoga će u godinama koje su nepovoljne za sazrijevanje grožđa, vino imati veću koncentraciju jabučne kiseline. Vina bogata jabučnom kiselinom su neharmonična, te okus vina podsjeća na zeljaste biljke. Djelovanjem kvasca, bakterija mliječno-kiselog vrenja dovodi do prelaska jabučne u mliječnu kiselinu (Radovanović, 1986.).

Limunska kiselina

Pored vinske i jabučne kiseline, u grožđu se nalazi i limunska kiselina ali u znatno manjem udjelu. Tijekom sazrijevanja grožđa, udio limunske kiseline se ne mijenja puno. Udio limunske kiseline u moštu iznosi oko 0,7g/l.

Limunsku kiselinu stvaraju plijesni iz šećera. Plijesan Botrytis cinerea prevodi jedan dio šećera u limunsku kiselinu. Limunska kiselina iz mošta prelazi u vino, ali nema veliki utjecaj na aciditet vina zbog malog udjela. Kod slabo kiselih vina, limunska kiselina se koristi za pojačavanje aciditeta umjesto vinske kiseline, ali najviše 50 g/l vina (Radovanović, 1986.).

2.3.4. Aldehidi i ketoni

Aldehidi i ketoni su spojevi koji imaju veliki učinak na senzorska svojstva vina, stvarajući karakteristične arome, bouquet vina ili neke nepoželjne mirise. Vrlo su reaktivni i lako oksidiraju u karbonske kiseline. Njihova aktivnost se inaktivira vezivanjem sumporaste kiseline, što predstavlja jedan od glavnih razloga sumporenja bačvi. Iako ih ima malo, aldehidi i ketoni vinu daju voćnu aromu (Prce, 2014.). Najzastupljeniji aldehid je acetaldehid koji nastaje tijekom alkoholne fermentacije, a jedan dio nastaje tijekom čuvanja vina (web 2).

2.3.5. Esteri

Esteri su organski spojevi koji nastaju između alkohola i kiselina. Tijekom fermentacije (hlapljivi esteri), odležavanja i starenja vina (nehlapljivi esteri) dolazi do povećanja udjela estera u vinu. Time se može zaključiti da estera ima više u vinu nego u grožđu. Esteri octane kiseline daju ugodan miris i svježinu vinu. To su: etil acetat, propil acetat, izopropil acetat, izobutil acetat i izoamil acetat. Od estera masnih kiselina u vinu su zastupljeni: etil propionat, etil valerijat, etil heksanoat, etil oktanoat i etil dekanoat (Vrdoljak, 2009.; Mihovilović, 2016.).

Shematski tijek reakcije nastajanja estera:

$$\mathbf{R - COOH + CH_3CH_2OH \rightarrow R - COO - CH_3 - CH_2 + H_2O}$$

2.3.6. Tvari arome

Aromatične tvari su tvari koje se nalaze u svim sortama grožđa vinove loze. Neke sorte grožđa imaju jače izraženu aromu, a neke manje. Tijekom vinifikacije, tvari arome prelaze u vino, međusobno reagiraju i kao takve stvaraju u specifičnu aromu vina, tzv.“bouquet”.

Tvari arome pripadaju velikom broju kemijskih spojeva, kao što su: hlapljive karbonske kiseline, alkoholi, esteri, aldehidi, ketoni, eterična ulja, više masne kiseline, terpeni, te tvari slične smolama i voskovima.

Aroma u vinu se nalazi u koncentracijama od nekoliko ng/l do nekoliko mg/l.

Pojam primarna (sortna) aroma vina obuhvata sve aromatske spojeve koji potječu iz grožđa. Zastupljene su u zrelom i prezrelom grožđu, te nastaju primjenom posebnih tehnologija u

predfermentativnoj fazi (prosušivanjem grožđa, karbonskom maceracijom), prelaze ne izmijenjene u vino i daju vinu specifičan miris. To su terpenski spojevi (linalol, geraniol, nerol i dr.) i alkoholi sa šest ugljikovih atoma (1-heksanol, 2-heksanol, trans i cis oblici 2- i 3- heksen-1-ola).

Sekundarne (fermentativne) arome nastaju mikrobiološkom transformacijom mošta (alkoholna i malolaktička fermentacija), a predstavljene su acetatnim, etilnim esterima i višim alkoholima (1-propanol, 2-metil – 1propanol, 2 i 3 metil-1- butanol).

Tercijarna aroma (bouquet) se formira za vrijeme dozrijevanja i starenja vina, kemijskim i biokemijskim transformacijama (hidrolizom, esterifikacijom, oksidacijom), već spomenutih aromatskih spojeva (sortnih i fermentativnih aroma) (Pichler, 2017.).

Tvari arome se najvećim dijelom nalaze u pokožici grožđa, dok ih u unutarnjem dijelu bobice, u mesu ima manje. Sadržaj aromatičnih tvari u grožđu ovisi o zrelosti i zdravstvenom stanju grožđa. Sazrijevanjem grožđa postiže se maksimalna koncentracija aromatičnih tvari. Ako je grožđe bilo pljesnjivo, enzimi razaraju aromatične sastojke i time opada miris grožđa.

Također, na sadržaj arome u grožđu utječu klima i zemljište. U toplijim, sunčanim krajevima i ocjeditim terenima, grožđe je bogatije aromama nego u sjevernim krajevima i vlažnim terenima (Radovanović, 1986.).

2.3.7. Fenoli

Fenoli imaju važnu ulogu u vinarstvu, odgovorni su za razlike između crnih i bijelih vina a posebno za boju i okus crnih vina. Fenolne tvari lako oksidiraju već u samom dodiru sa zrakom. Oksidacija je intenzivnija enzimatskim djelovanjem polifenoloksidaze što dovodi do posmeđivanja vina (Prce, 2014.). Grožđe i vino sadrže širok spektar fenolnih spojeva.

Polifenoli su spojevi biljnog podrijetla koji se mogu naći u sjemenkama i veoma su bitni za kakvoću vina. Fenolni spojevi ili polifenoli su sekundarni biljni metaboliti koji su građeni od aromatskih prstenova sa jednom ili više hidroksilnih skupina. Polifenoli se ekstrahiraju u vino tijekom procesa vinifikacije iz različitih dijelova grožđa (kožice, sjemenke i peteljke). Kultivar, godina proizvodnje, okolinski i klimatski uvjeti, bolesti loze, tip tla, geografski položaj i stupanj

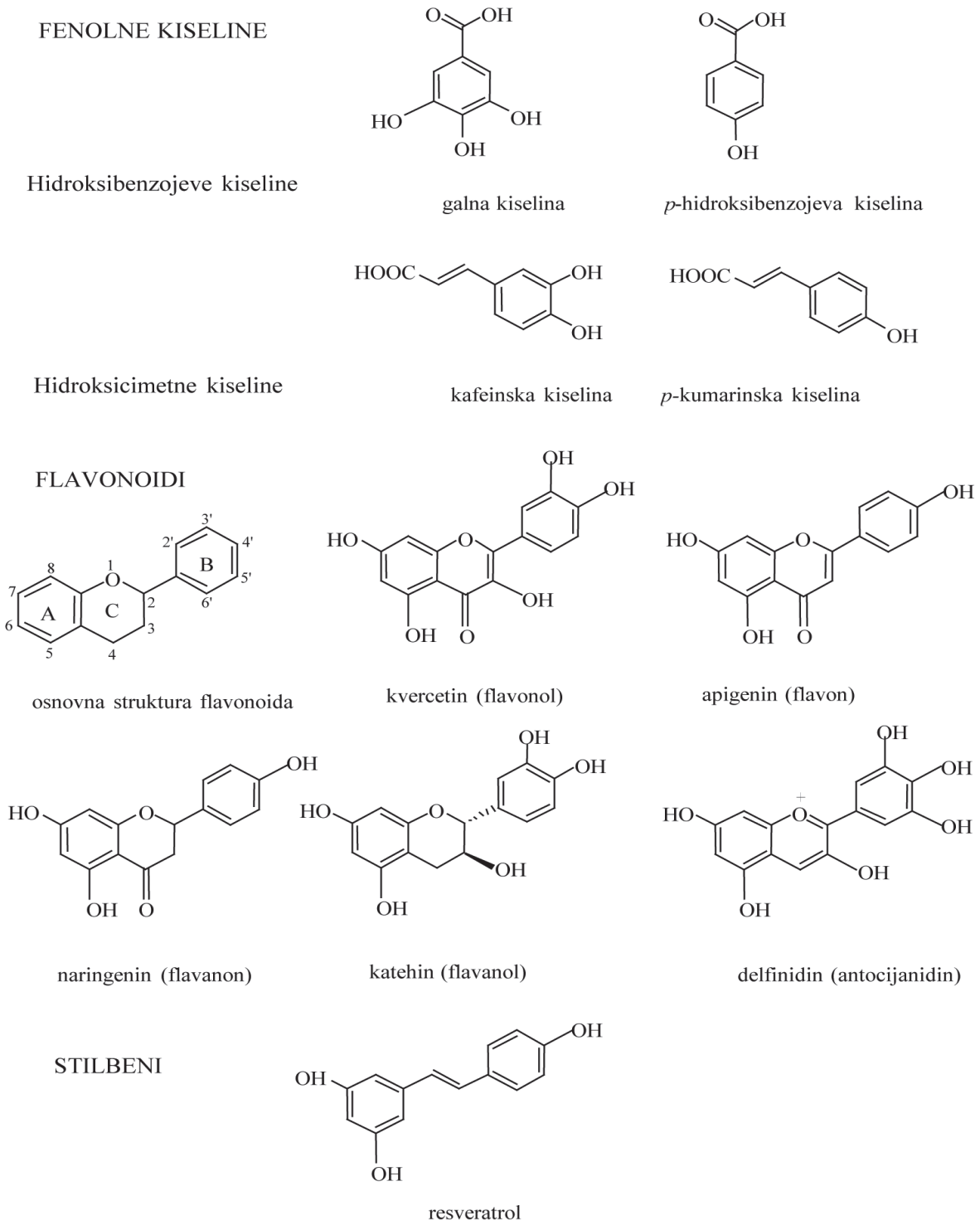
zrelosti utječu na koncentraciju polifenola u grožđu. Oni utječu na boju, aromu, gorčinu, oporost i kvalitetu vina (Rastija i Medić-Šarić, 2009.; Basha i sur., 2004.).

Polifenole sačinjavaju: fenolne kiseline, flavonoidi, stilbeni. Među fenolnim kiselinama, razlikuju se derivati hidroksibenzojeva kiselina i derivati hidroksicimetne kiseline (Rastija i Medić-Šarić, 2009.; Rastija i sur., 2016.).

Fenolni spojevi se dijele na:

- flavonoide,
- neflavonoide.

Predstavnici neflavonoida u grožđu i vinu su fenolne kiseline (hidroksibenzojeve i hidroksicimetne) i stilbeni, a predstavnici flavonoida su flavonoli, proantocijanidini, antocijani i flavan-3-oli.



Slika 5 Strukturne formule polifenola prisutnih u vinu (Rastija i sur., 2016.)

Bijelo grožđe i bijelo vino sadrže manje koncentracije polifenolnih spojeva u odnosu na crno. Koncentracija polifenola u grožđu je 50-350 mg/l, a u vinu 800-4000 mg/l.

Polifenoli u vinu mogu nastati od mikroorganizama i drvenih bačvi u kojima se vino čuva, također, dio polifenola se može ekstrahirati i iz peteljke ili lišća tijekom procesa prerade grožđa.

S obzirom da se bijela vina dobivaju iz mošta uz lagano prešanje, u njihovom polifenolnom profilu su zastupljeni neflavonoidi koji uglavnom potječu iz mesa bobice. Kod proizvodnje crnih vina, duži kontakt s kožicom (maceracija) nakon muljanja, a prije prešanja ili veliki pritisak tijekom prešanja, doprinose većoj koncentraciji flavonoida.

Fenol je najjednostavniji aromatski alkohol, molekulske mase 94,1. Sadrži jedan benzenov prsten i hidroksilnu skupinu kao funkcionalnu skupinu (Puhelek, 2016.; Rastija i sur., 2016.).

Flavonoidi

Flavonoidi su žuti pigmenti različitih intenziteta obojenja koji su sadržani u kožici bijelog i crnog grožđa. U grožđu se nalaze u obliku glikozida koji hidroliziraju tijekom fermentacije, a u vinu se nalaze u obliku aglikona (Prce, 2014.). Flavonoidi su najvažnija i najopsežnija grupa polifenola. Struktura i sastav flavonoida, određeni su samim genetskim profilom pojedinog kultivara. Važan dio strukture i boje vina potječe od flavonoida koji se nalaze u kožici, sjemenkama i mesu grožđa. Flavonoidi obuhvaćaju različite grupe spojeva:

- flavan–3–ol (katehin, epikatehin),
- proantocijanidini,
- antocijani (pelargonidin, cijanidin, peonidin, delfinidin, petunidin, malvidin),
- flavonoli (kemferol, kvercitin, miricetin, izoramnetin) (Puhelek, 2016.).

Flavonoidi se u prirodi javljaju kao slobodni ili vezani s drugim flavonoidima, šećerima, neflavonoidima ili kombinacijom istih. Značajnu ulogu u strukturi i boji vina imaju i flavonoidi koji se nalaze u kožici, sjemenci i (nešto rjeđe) u mesu bobice (Rastija i sur., 2016.).

Flavanoli

Najviše se nalaze u sjemenci bobice grožđa. Ekstrakcija flavanola iz sjemenke je povećana tijekom vinifikacije. Što je duže vrijeme trajanja maceracije, viša temperatura i viši sadržaj alkohola tijekom maceracije i fermentacije povećava se ekstrakcija flavanola. Svi spojevi imaju izraženu trpkost, gorčinu i talože se nakon vezanja s proteinima.

Katehin je glavni flavanol u kožici grožđa, dok je epikatehin zastupljen u sjemenkama. Katehin i epikatehin imaju gorak okus kada se nalaze u obliku monomera. Gorčina opada, a trpkost se pojačava s povećanjem stupnja polimerizacije, tj. povećanjem veličine molekule, odnosno dužine lanca. Katehini su prekursori posmeđivanja u bijelim vinima te značajno pridonose okusnom profilu vina.

Flavonoli

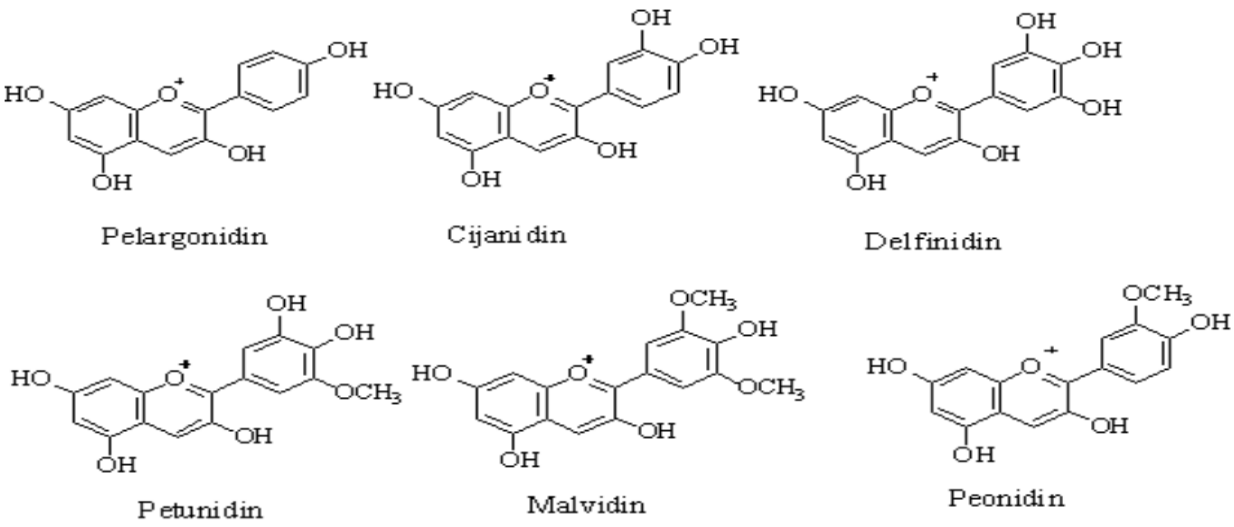
U bijelim vinima su detektirani: kvercetin, kemferol i izoramnetin. Flavonoli miricetin, laricitrin i siringetin su specifični za crne sorte grožđa i nisu pronađeni u bijelim sortama. Kvarcetin je najzastupljeniji flavonol svih bijelih sorti, kao što su Chardonnay, Rajnski Rizling, Viogner i Sauvignon bijeli, u kojima je zastupljeno preko 70% ukupnih flavonola.

Koncentraciju flavonola u vinu može povećati prisutnost lišća u masulju. Odgođeno prešanje grožđa, uz dodani SO_2 zbog sprječavanja oksidacije, kao i samo prešanje rezultira povećanom koncentracijom flavonola u moštu i vinu. Maceracija bijelog masulja čiji je cilj veća ekstrakcija tvari arome i naglašavanje sortnog karaktera također rezultira povećanjem koncentracije flavonola (Puhelek, 2016.).

Proantocijanidini su u grožđu i vinu prisutni uglavnom u polimernim oblicima (Puhelek, 2016.).

Antocijani

Antocijani su pigmenti crvene do plave boje crnog grožđa, smještene u pokožici bobice. Manji broj sorti sadrži antocijane ne samo u pokožici grožđa nego i u soku grožđa, i nazivaju se tzv. bojadiseri. Grožđe bojadisera se koristi za popravljanje boje vina od osnovnih sorti. Antocijani iz grožđa pri preradi i vinifikaciji prelaze u vino, tesu glavni nosioci boje crnih vina. Intenzitet boje crnih vina ovisi o količini antocijana u vinu i ponašanja antocijana pod određenim uvjetima. Tijekom procesa fermentacije smanjuje se udio antocijana, koji su dospjeli u vino tijekom procesa maceracije. Antocijani se vežu s acetaldehidom stvarajući neraskidivi kompleks. Tijekom čuvanja, starenja vina antocijani se polako gube. Do toga dolazi zbog hidrolize antocijana u nestabilne oblike, a dio antocijana se kondenzira s taninima i drugim tvarima. Antocijani s teškim metalima, npr. željezo stvara neraskidivi kompleks kao što je slučaj sa plavim prijelomom vina (Radovanović, 1986.). Antocijani su vrlo nestabilne molekule, na čiju stabilnost utječu različiti faktori: temperatura, pH, svjetlost, kisik, prisutnost enzima te struktura (**Slika 6**) i koncentracija antocijana (Andabak, 2017.).



Slika 6 Strukture antocijanidina (izvor: web 10)

Promjenom pH vrijednosti dolazi do promjene boje antocijana. Pri nižim pH vrijednostima, antocijani imaju rubin crvenu boju, gdje se povećanjem pH vrijednosti crvena boja vina pretvara

u plavu sve do modre nijanse plave boje. Promjena boje je reverzibilna, te se snižavanjem pHvrijednosti (kisela pH sredina) boja vina vraća u prvobitno stanje, tj. crvenu boju.

Sumpordioksid (SO_2) također ima utjecaj na reverzibilnu promjenu boje antocijana. Uz prisustvo sumpordioksida, antocijani gube crvenu boju. Kada nema više prisutnog SO_2, antocijanima se vraća crvena boja. Pod utjecajem SO_2 dolazi do veće ekstrakcije antocijana iz pokožice grožđa. Antocijani se slabo otapaju u običnoj vodi ali se dobro otapaju u alkoholu (Radovanović, 1986.).

Neflavonoidi

Neflavonoidne spojeve dijelimo na hidroksibenzojeve i hidroksicimetne kiseline, hlapive fenole i stilbene. Ovi spojevi nisu obojeni, ali pospješuju i stabiliziraju boju crnih vina. Neflavonoidi se nalaze u grožđu i vinu u malim koncentracijama, uz iznimku hidroksicimetnih kiselina. Najznačajniji predstavnici neflavonoida u bijelim vinima su već spomenute fenolne kiseline i stilbeni. Ostali neflavonoidi u vinu potječu dozrijevanjem vina u drvenim bačvama (galna i elaginska kiselina) (Puhelek, 2016.).

2.3.8. Tanini

Tanini su važan sastojak vina. Tanini predstavljaju fenolne tvari koje vinu daju opor okus. Opor okus vina nastaje zbog interakcije tanina (topljivih fenolnih spojeva u vodi) s bjelančevinama. Tanini talože bjelančevine uslijed čega dolazi do bistrenja mošta i vina. Tanini imaju antiseptičko djelovanje na vino, također,djeluju inhibitorno na neke enzime. Za vrijeme tehnološke zrelosti grožđa, tanini su najzastupljeniji u sjemenkama bobice i u peteljci. Sadržaj tanina u vinima je različit, što ovisi o sorti vinove loze, načinu prerade, maceraciji, klimatskim i drugim uvjetima. Kod proizvodnje crnih vina, tijekom procesa maceracije, tanini iz peteljke i sjemena prelaze u mošt. Koncentracija tanina u crnom vinu je 2-4 g/l (Serafine i sur., 1997.; Radovanović, 1986.).

Tanini utječu na intenzitet i stabilnost boje crnih vina. Tanini s antocijanima stvaraju kompleks, time intenzitet boje crnih vina postaje jači s izrazito rubin nijansom. Starenjem vina se smanjuje koncentracija antocijana, pri čemu ulogu crvene boje u vinu preuzimaju tanini. U starim crnim vinima gdje skoro nema antocijana, tanini daju boju crnim vinima (Radovanović, 1986.).

2.3.9. Enzimi

Enzimi su prirodni proteini, biološki katalizatori koji imaju sposobnost ubrzavanja biokemijskih reakcija tijekom procesa fermentacije, vinifikacije i starenja vina. Enzimi imaju značajnu ulogu u proizvodnji vinate pri razvijanju sekundarnog bouquet-a. Najvažniji enzimi su saharaza (invertaza), pektolitički enzimi, tanaza i katalaza. Enzimi grožđa nisu aktivni u prisustvu SO_2 pri proizvodnji vina (izuzetak su gljivične pektinaze).

Saharaza provodi hidrolizu saharoze u glukozu i fruktozu, a pektinaza je važna pri bistrenju vina gdje hidrolizira pektinske tvari na poligalakturonsku kiselinu i metanol. Tanaza u vino dospijeva iz pljesnjivog grožđa i katalizira tvorbu taninskih tvari. Katalaza ubrzava oslobađanje kisika iz vodikovog peroksida i ostalih peroksidnih spojeva, te na taj način ne dolazi do izražaja toksičnog djelovanje spojeva (Buntić, 2016.; Mihovilović, 2016.).

Dodatak pektolitičkih enzima, celulaze i ksilanata tijekom procesa maceracije, poboljšava se ekstrakcija fenolnih spojeva koji doprinose aromi vina (Gil i Valles, 2001.).

2.3.10. Mineralne tvari

Isparavanjem vode i potpunim spaljivanjem suhe tvari, vrši se određivanje pepela u namirnici. Pepeo čine anorganske tvari koje ulaze u sastav vina. U vinu se pepeo sastoji od kalcijevih, kalijevih i magnezijevih soli sumporne, fosfatne i karbonatne kiseline, te od tragova fluora, bakra, željeza, mangana i drugih elemenata. Bolju aromu i bouquet vina, te jače izražene sortne karakteristike grožđa imaju vina s većom količinom mikroelemenata (Fe, Mn, Zn, Co, Ni).
Mineralne tvari u sirovinu dospijevaju iz zemljišta i čine sastavni dio iste, dok manji dio mineralnih tvari dolazi u vino pri preradi grožđa i njege vina. 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 veće količine pepela jer se tijekom fermentacije masulja ekstrahiraju veće količine mineralnih tvari iz čvrstih dijelova grožđa (Vrdoljak, 2009.).

2.3.11. Ekstrakt vina

Ukupni suhi ekstrakt u vinu čine sve mineralne i organske tvari koje pod specifičnim fizikalnim uvjetima nisu hlapljive. Ukupni suhi ekstrakt u vinu predstavljaju ugljikohidrati, mineralne tvari, nehlapljive kiseline, polifenoli, viši alkoholi, tvari boje. Ekstrakt u vinu može biti ukupni suhi ekstrakt, nereducirani ekstrakt i reducirajući ekstrakt, neutralni ekstraktni ostatak (Spajić, 2017.). Kvalitetne i vrhunske sorte daju vina s više ekstrakta, dok stolne sorte daju vina s manje ekstrakta. Kvalitetne i vrhunske sorte crnih vina imaju 19 g/l i 20 g/l ekstrakta bez šećera.

Tablica 1 Prikaz minimalne količine ekstrakta bez šećera za neka vina propisana Zakonom o vinu prema boji vina (Pichler, 2017.)

Boja vina	Kakvoća vina		
	Stolno (g/l)	Kvalitetno (g/l)	Vrhunsko (g/l)
Bijela vina	15	17	18
Crvena vina	16	18	19
Crna vina	17	19	20

Čimbenici koji utječu na udio ekstrakta u vinu su: klimatske prilike, geomorfološki čimbenici, vrsta tla i zdravstveno stanje grožđa. Vinogradarski predjeli koji su izloženi manjem utjecaju sunca daju manje ekstrakta, a predjeli izloženi većem utjecaju sunca daju vina s više ekstrakta (Vrdoljak, 2009.; Pichler, 2017.).

2.3.12. Dušične tvari

Spojevi s dušikom se u moštu i vinu nalaze kao organski i anorganski spojevi. Mikroorganizmi u moštu koriste dušične tvari, te ih ugrađuju u svoje stanice tijekom rasta. Sukladno tome vino sadrži manje dušika što je posljedica ugradnje aminokiselinskog dušika u stanice kvasca za fermentaciju. Mošt dobiven kontinuiranim prešanjem sadrži manje ukupnog dušika jer se proteini vežu i talože s taninskim tvarima.

Dušične tvari mogu utjecati na boju, aromu, bistroću i postojanost vina, iako se u vinu nalaze u malim količinama. Ukoliko se nalaze u većim količinama, mogu uzrokovati zamućenje vina, a pri tome su i dobar izvor dušika bakterijama uzročnicima kvarenja vina (Mihovilović, 2016.).

2.3.13. Proteini

Proteini su makromolekule izgrađene od aminokiselina. Proteini su vrlo nestabilni spojevi koji se u vinu ponašaju kao koloidi s pozitivnim električnim nabojem, i talože se s taninima. Proteini u vinu potječu iz grožđa i iz kvasca. Odumiranjem kvasca, proteini prelaze u vino.

Proteini u vinu, osobito u bijelom vinu su nestabilni i spontanose talože. Nestabilnost mladih bijelih vina potječe od sadržaja veće količine koaguliranih proteina. Koagulirani proteini u crnim vinima predstavljaju manji problem iz razloga što se proteini talože s taninima. Razlog tomu je veći udio tanina u crnim vinima za razliku od udjela u bijelim vinima (Mihovilović, 2016.).

2.3.14. Antioksidativna stabilnost vina

Antioksidacijska aktivnost predstavlja višestruko djelovanje polifenolnih spojeva, kao što susposobnosti sparivanja elektrona slobodnog radikala, što se još naziva antiradikalna aktivnost i sposobnost vezanja iona prijelaznih metala (Fe^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}, Mg^{2+}). Antioksidansi su tvari koje štite stanice od oksidacijskog djelovanja slobodnih radikala, sprječavaju oksidaciju oksidabilnih spojeva. To su spojevi koji inhibiraju ili odgađaju oksidaciju supstrata kada su prisutni u koncentraciji manjoj od supstrata. Antioksidansi neutraliziraju slobodne radikale dajući im svoj elektron ili inhibiraju stvaranje slobodnih radikala. Antioksidansi imaju svojstva kojima djeluju kao reducirajuće sredstvo. Slobodni radikali su vrlo reaktivni jer sadrže jedan ili više nesparenih elektrona u elektronskim orbitalama. 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.

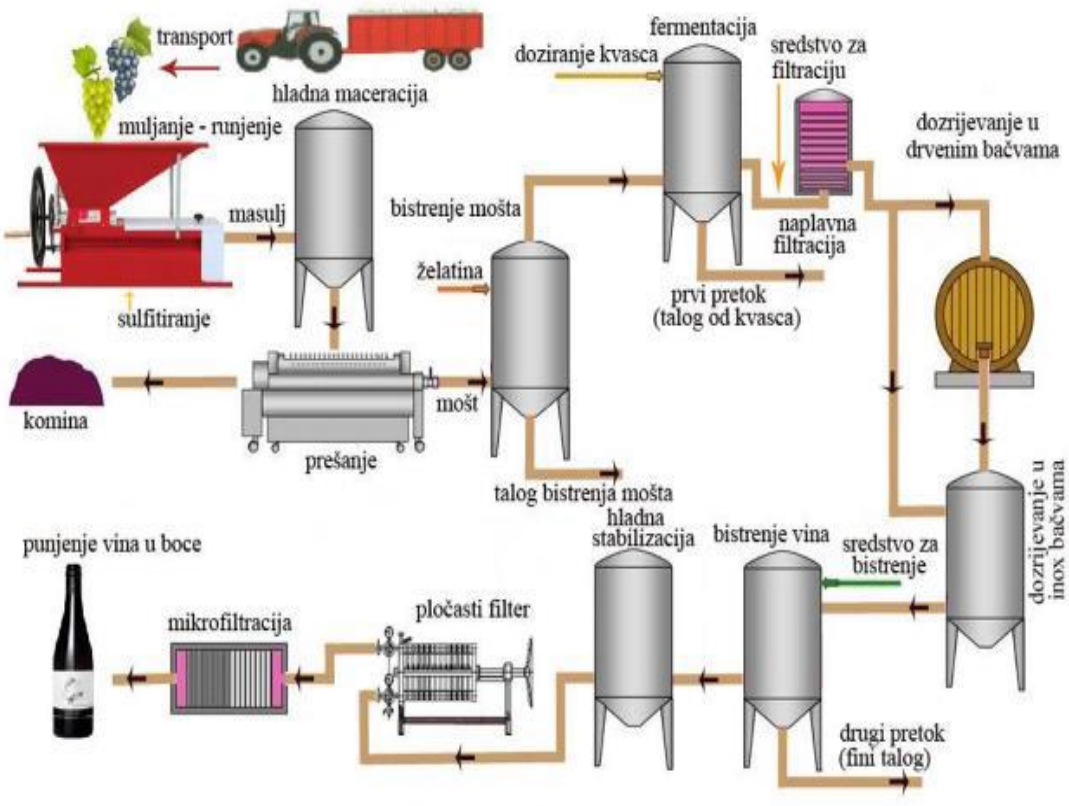
Polifenoli i drugi antioksidansi mogu hvatanjem slobodnih radikala i drugim antioksidacijskim aktivnostima smanjiti rizik od nastajanja mnogih bolesti (Prce, 2014.).

2.4. PROIZVODNJA VINA

Enologija je znanstvena disciplina koja se bavi tehnologijom proizvodnje vina, gdje se grožđani sok prevodi u vino. Ova disciplina proučava kemijski sastav vina, proizvodnju i čuvanje kakvoće vina s ciljem poboljšanja iskorištenja sirovine i da se ustanove načini koji omogućavaju dobivanje vina konstantne kakvoće.

2.4.1. Proizvodnja crnih vina

Proces proizvodnje crnih vina se razlikuje od proizvodnje bijelih vina. Proces proizvodnje započinje kada grožđe dostigne tehnološku zrelost. Tehnološka zrelost je postignuta kada sadržaj šećera u grožđu dostigne maksimum, tj. sadržaj šećera u bobicama ne raste, a kiseline se smanjuju. Nakon berbe, potrebno je u što kraćem roku pristupiti preradi grožđa (web 3).



Slika 7 Vinifikacija crnih vina (Andabak, 2017.)

Faze vinifikacije crnih vina su:

- muljanje – runjanje i punjenje posuda,
- maceracija i alkoholna fermentacija,
- odvajanje mošta od taloga ocjeđivanjem i prešanjem,
- završna alkoholna i eventualno malolaktična fermentacija.

Muljanje i runjanje grožđa

Muljanje i runjanje grožđa je prvi proces prerade grožđa. Runjanje je proces gdje se bobice odvajaju od peteljke, s obzirom da peteljke sadrže tanine koji vinu daju trpki i gorak okus. Muljanje je proces gdje se bobice gnječe kako bi se lakše odvojio tekući dio od čvrstog dijela. Nakon prvog procesa prerade dobiva se masulj. Masulj čine kruta faza (sjemenke, meso i pokožica) i tekuća faza (mošt-grožđani sok). Operacije muljanja i runjanje treba provoditi u što kraćem vremenskom periodu kako bi se procesi oksidacije sveli na minimum.



Slika 8 Muljača – runjača (izvor: web 11)

Nakon toga masulj se prebacuje u posudu za fermentaciju, uz prethodno manje sumporenje masulja. Sumporenje se provodi kako bi se zaštitile bojane tvari od oksidacije, reducirao rad i razmnožavanje nepoželjnih divljih kvasca i bakterija. Količina sumporenja ovisi o:

- zdravstvenom stanju grožđa (trulo grožđe se više sumpori),
- zrelosti grožđa (manje kiseline-više sumporenja),

- vremenu u trenutku berbe (više se sumpori po toplom vremenu),
- razdoblju od berbe do prerade,
- trajanju i načinu stiskanja,
- temperaturi mošta.

Posude koje se pune masuljom, pri vrhu se mora ostaviti prazan prostor oko 20% volumena posude, jer se tijekom procesa fermentacije stvara plin (CO_2) (Andabak, 2017.).

Maceracija

Maceracija je proces koji slijedi nakon muljanja-runjanja grožđa. Maceracija je obavezan postupak kod proizvodnje crnih vina. Tijekom maceracije u masulj se dodaju pektolitički enzimi. Pektolitički enzimi razgrađuju pektin u kožicama bobica, time se bojane tvari u potpunosti oslobađaju (antocijani, tanini, vitamini) (Andabak, 2017.). Crna vina dobivena maceracijom odlikuju se specifičnim karakteristikama kao što su: vizualne, mirisne i okusne karakteristike. Pored aromatskih, dušičnih i minaralnih tvari, polisaharida (pektina), maceracijom se izdvajaju i fenolne tvari (antocijani i tanini) koji daju boju i strukturu vinu.

Postoji nekoliko načina maceracije:

- klasična maceracija,
- maceracija zagrijavanjem,
- karbonska maceracija,
- flash ekstrakcija,
- delestage (oksidacijom) (web 4).

U tanku, osim procesa maceracije,odvija se i alkoholna fermentacija.



Slika 9 Maceracija (izvor: web 12)

Alkoholna fermentacija

Alkoholna fermentacija je osnovna faza u proizvodnji vina gdje se mošt prevodi u vino dodatkom selekcioniranih kvasca. Kvasci prevode glukozu i fruktozu u alkohol. Kada nestane glukoze i fruktoze razlaže se manoza, ali kvasci nikada ne fermentiraju pentozu. Selekcionirani kvasci (*Saccharomyces cerevisiae*) se koriste radi usmjerenog vrenja te kako bi se dobio proizvod zadovoljavajuće kvalitete i zadovoljavajućih karakteristika. Osim selekcioniranog kvasca, alkoholnu fermentaciju mogu provodit kvasci koji se nalaze u moštu i to je tzv. spontana fermentacija. Spontana fermentacija (bez selekcioniranog kvasca) traje duže od fermentacije sa selekcioniranim kvascima i ne osigurava dobivanje vina zadovoljavajuće kvalitete. Prije dodatka kvasca, također se dodaje amonijev sulfat kao izvor dušika. Da bi se povećala ekstrakcija fenolnih spojeva i terpenskih aroma iz masulja, dodaju se pektolitički enzimi glikozidaze (Andabak, 2017.; Pichler, 2017.).

Alkoholna fermentacija se može provoditi u drvenim, metalnim ili betonskim vrionicima. Fermentacija crnih vina se najčešće provodi u vinifikatorima. Vinifikatori su posude za vrenje bez prisustva kisika i uz miješanje masulja. Alkoholna fermentacija se odvija u dvije odvojene faze:

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

Na početku alkoholne fermentacije potrebno je provesti aeriranje masulja, što se može provoditi kružnim pretakanjem iz jednog u drugi vinifikator. Aeriranje masulja je također bitno zbog razmnožavanja kvasca prije početka fermentacije. Početak fermentacije se provodi na temperaturi oko 20 °C, kako bi se razmnožili kvasci, a kasnije se fermentacija provodi na temperaturi 25 °C, te traje od 8 do 15 dana (Kordić, 2017.). Fermentacija crnih vina se odvija pri višim temperaturama od temperature fermentacije bijelih vina. Previsoka temperatura vrenja bi uzrokovala burnu fermentaciju, zbog čega bi iz masulja izašao CO_2 i hlapljivi aromatični spojevi. Tijekom vrenja kvasci razlažu šećer na etanol i CO_2. Osim primarnih produkata nastaju i manje količine sekundarnih produkata: glicerol, jantarna kiselina, acetaldehid, viši alkoholi, hlapljive kiseline, aminokiseline i metanol.

Nakon burnog (glavnog) vrenja u vinu zaostaje manji udio šećera zbog čega se u bačvama ili cisternama nastavlja tiho (naknadno) vrenje pri čemu fermentira preostali šećer. Kod grožđa koje ima visok udio šećera, redovito dolazi do naknadnog vrenja i vino sporije dozrijeva (Prce, 2014.).

Klasična maceracija se odvija istovremeno s alkoholnom fermentacijom čime se pospješuje razgradnja stanične stjenke pokožice i dolazi do bolje ekstrakcije tvari boje. Boja se najintenzivnije ekstrahira u prvih 3-5 dana vrenja nakon čega je završena ekstrakcija boje. Nakon tog perioda intenzivnije se povećava sadržaj tanina, pa predugim ostavljanjem masulja na vrenju u vino se otapa više tanina zbog čega kasnije postaje previše oporo i trpko. Zbog toga se nakon 3- 5 dana vrenje masulja prekida i vrši prešanje.

Tiho vrenje je od velikog značaja za svojstva budućeg vina. U procesu tihog vrenja povećava se udio alkohola, a smanjuje udjel šećera u vinu, pri čemu se smanjuje aktivnost kvaščevih stanica. Dio kvasca u vinu smanjuje svoju aktivnost, a znatan broj kvaščevih stanica izumire, oko 20-30%, što ima za posljedicu opadanje intenziteta fermentacije. Nakon izumiranja kavasca, uslijed autolize, iz kvaščevih stanica u vino prelaze dušični spojevi, među kojima su od velikog značaja aminokiseline. Istovremeno, uslijed pada temperature i oslobađanja ugljikovog dioksida smanjuje se i volumen tekućine. Smanjenjem volumena tekućine, povećava se otpražnjeni prostor iznad površine vina, što omogućava jače prodiranje zraka u otpražnjeni prostor iznad vina čime se stvaraju uvjeti za njegovu aeraciju. Otpražnjeni prostor u sudovima treba svjesti

na minimum, što se može učiniti nadopunjavanjem posuda s vinom iste kategorije i kakvoće ili pak kupažiranjem vina različite kakvoće u cilju stvaranja određenih tipova vina. Tiho vrenje može trajati i više mjeseci. Međutim, kod većine moštova s uobičajenim sadržajem šećera (oko 20%) ovaj proces ne traje dugo i obično završava od 10 do 30 dana nakon burne fermentacije (Andabak, 2017.).

Otakanje i prešanje vina

Nakon završene maceracije i alkoholne fermentacije vino se otače s taloga, tj. krutih dijelova masulja u barrique bačve ili u inox tankove, pri čemu slijedi prešanje ocijeđenog masulja kako bi se izdvojilo preostalo vino (Kordić, 2017.).



Slika 10 Preša (izvor: web 13)

Malolaktička fermentacija

Malolaktičkom fermentacijom se jabučna kiselina prevodi u slabiju mliječnu kiselinu. Jabučna kiselina je oporog okusa.Tijekom dozrijevanja zbog izlučivanja vinske kiseline u obliku kalijeva tartarata i posebice zbog razgradnje jabučne kiseline u mliječnu smanjuje se ukupan broj kiselina. Ovaj postupak se često naziva i drugo vrenje jer se zbog razgradnje jabučne kiseline stvara CO_2 koji ima bitnu ulogu u formiranju kakvoće vina, stime da je ovo u potpunosti bakterijsko vrenje u kojem sudjeluje mnoštvo bakterija. Biološka razgradnja jabučne kiseline u

mliječnu (JMF) - koju provodi Leuconostoc oenos, doprinosi kakvoći vina čineći ga manje kiselim, harmoničnim i mekšim. Razgradnjom jabučne kiseline vino postaje stabilnije s obzirom na bakterije mliječnog vrenja kao uzročnike kvarenja. Bakterije koje provode mliječno vrenje su otporne na nisku vrijednost pH, visoki udio alkohola, nisku temperature skladištenja te dodatak SO_2. Bakterije rastu u vinu, iako nešto sporije i pri tome sintetiziraju enzime koje provode dekarboksilaciju jabučne kiseline u mliječnu. Smatra se da bakterije roda Leuconostoc provode jabučno-mliječno vrenje dok su predstavnici roda Lactobacillus više orijentirani na korištenje šećera i drugih sastojaka vina. Pored mliječne kiseline i ugljičnog dioksida nastaju i drugi sekundarni produkti vrenja kao što su acetaldehid, octena kiselina, diacetil, aceton, butandiol, etilni laktat (Prce, 2014.).

Njega i čuvanje vina

Nakon otakanja i prešanja provode se postupci nužni za njegu i dozrijevanje vina kako bi se očuvala svježina i kvaliteta vina. To su: nadolijevanje posuda vinom ili dodatak inertnog plina, pretakanje, postupci stabilizacije, bistrenje te dozrijevanje vina.

Tijekom odležavanja vina potrebno je nadopuniti drvene bačve ili inoks tankove, ako dođe do smanjenja volumena vina. Nadolijevanje tankova i bačvi mora biti do vrha kako bi se spriječila kontaminacija vina s kisikom te rast aerobnih mikroorganizama. Prazan prostor se ispunjava vinom ili nekim inertnim plinom (argon, dušik, helij i sl.) (Kordić, 2017.).



Slika 11 Odležavanje vina u bačvama (izvor: web 14)

Stabilizacija i bistrenje vina

Po završetku fermentacije potrebno je provesti stabilizaciju vina. Stabilizacija vina predstavlja niz mjera i operacija kojima se sprječava mutnoća i taloženje u vinima nakon njihovog punjenja u boce.

Bistrenje se obavlja pomoću želatine i bentonita. Sredstva za bistrenje se primjenjuju određenim redom, prvo se u vino dodaje želatina koja se raširi po vinu kao mreža i sakuplja krupne čestice, a zatim se dodaje bentonit koji taloži sitne čestice (proteine) nadno tanka.

Nakon bistrenja, vino se filtrira. Filtracija vina može se provesti pomoću:

- naplavnih filtera,
- pločastih filtera,
- membranskih filtera.

Filtrirano vino odlazi na liniju za punjenje u boce, a potom na čepilicu nakon čega se skladišti u prostoru za skladištenje (Kordić, 2017.; Pichler, 2017.).

Punjenje vina u boce

Prije punjenja vina u ambalažu, potrebno je napraviti laboratorijske analize kao što su: udio ukupnog i slobodnog sumpornog dioksida, zdravstveno stanje, stabilnost vina, a od senzorskih analiza utvrđuje se boja, bistroća, okus i miris vina. Punjenje vina u boce provodi se u zasebnoj prostoriji koja je opremljena sterilizatorom boca, punilicom i čepilicom boca te etiketirkom. Kvalitetna i vrhunska vina se pune u staklenu ambalažu od 750 ml.

2.5. ODREĐIVANJE SASTOJAKA AROME PLINSKOM KROMATOGRAFIJOM

2.5.1. Plinska kromatografija

Plinska kromatografija (engl. gas chromatography, GC) je separacijska tehnika u kojoj se vrši odjeljivanje između mobilne plinovite faze i tekuće ili čvrste stacionarne faze u koloni. Eluaciju sastavnica omogućava tijek inertne plinovite mobilne faze. Za razliku od ostalih kromatografski

tehnika, ovdje mobilna faza ne ulazi u interakciju s molekulama analita. Uzorak je otopljen upokretnoj fazi, koja može biti tekućina, plin, fluid u superkritičnim uvijetima i kreće se uzduž nepokretne faze. Nepokretna faza može biti u koloni ili na ravnoj plohi.

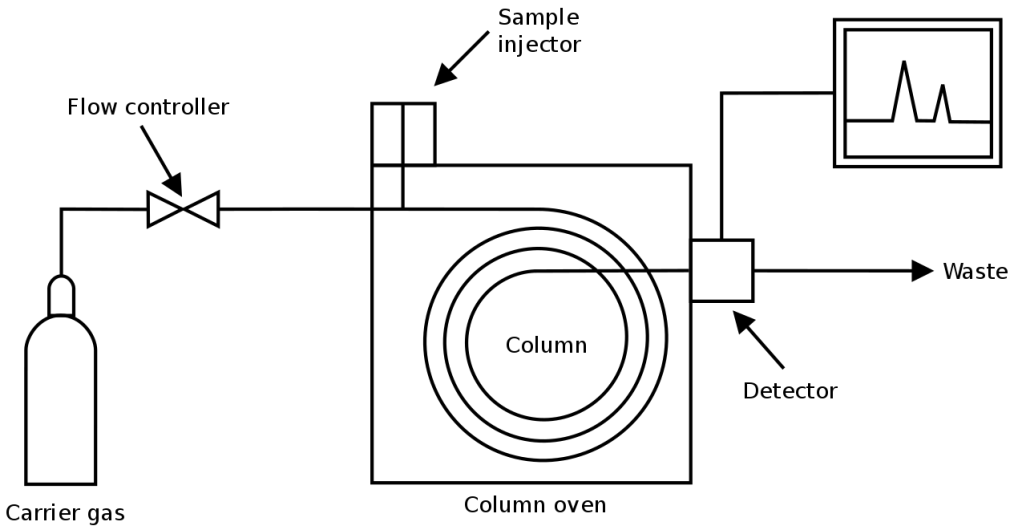
Ova kromatografska tehnika, s obzirom na stacionarnu fazu se može podijeliti na dva osnovna tipa:

Plinsko-tekućinska kromatografija (GLC)

Stacionarna faza je tekućina imobilizirana, adsorpcijom ili kemijskim vezama, na površini inertne čvrste faze ili na stijenkama kapilarne kolone.

Plinsko-čvrsta kromatografija (GSC)

Stacionarna faza je u čvrstom stanju, pri čemu se zadržavanje analita događa isključivo zbog fizičke adsorpcije analita na čvrstu fazu (Primorac, 2007.).



Slika 12 Kromatograf (Web 18)

Injektor je uređaj za unošenje uzorka i spojen je s kolonom. Može biti izravni, prijemosni, kolonski i s isparivačem. Kromatografske kolone su srce sustava, a dijelimo ih na preparativne i analitičke. Detektori mogu biti univerzalni i selektivni. Univerzalni detektor daje odziv za svaki sastojak u eluatu osim za mobilnu fazu, a selektivni daje odziv za određene grupe sastojaka u eluatu. Danas je umjesto pisača sustav uglavnom spojen na računalo gdje se spremaju podaci (Primorac, 2007.).

Sastojci su raspoređeni između dvije faze od kojih je jedna stacionarna (nepokretna), a druga mobilna (pokretna) i kreću se u određenom smjeru. Mobilnu fazu čini inertni plin uz koji se provodi eluiranje, a samo odvajanje sastojaka na GC koloni je uvjetovano njihovom razlikom u hlapivosti. Naizmjeničnom adsorpcijom i desorpcijom lakše hlapivih sastojaka se provodi razdvajanje smjese hlapivih sastojaka uz prisustvo plina nosioca (Vrdoljak, 2009.). Parovi mobilna-stacionarna faza odabiru se tako da je moguće ostvariti raspodjelu komponenata uzorka do nekog određenog stupnja. Komponente koje stacionarna faza jače zadržava sporije prolaze kroz kolonu, dok one koje stacionarna faza slabije zadržava putuju brže. Kao posljedica razlike u brzini putovanja kroz kolonu, komponente uzorka se razdvajaju u vrpce koje se dalje mogu kvantitativno i kvalitativno analizirati. Kako bi se dobili zadovoljavajući rezultati analize, uzorak koji se unosi u sustav za analizu mora biti odgovarajuće veličine i unesen kao "čep" plina. Sporo injektiranje uzorka rezultira slabim razdvajanjem komponenata uzorka. Injektiranje uzorka se najčešće provodi uz pomoć mikrošprice za injektiranje plinskog ili tekućeg uzorka kroz silikonsku gumu na početku kolone gdje dolazi do rasprskivanja i isparavanja uzorka. Temperatura prostora bi trebala biti veća za oko 50˚C temperature vrelišta najslabije hlapive komponente u uzorku kako bi isparavanje bilo potpuno (Primorac, 2007.). Plin nosač ili mobilna faza služi za prijenos uzorka kroz kolonu. Koriste se nereaktivni inertni plinovi poput dušika, vodika, helija ili argona. Analiza počinje unosom male količine uzorka u injektor koji potom raspline uzorak i pomiješa ga s mobilnom fazomna početku kolone. Mobilna faza s odijeljenim analitom na kraju kolone prolazi kroz detektor koji prevodi detektirane promjene u električni signal koji se ispisuje kao kromatogram. U plinskoj kromatografiji se koriste punjene ili kapilarne kolone. Kapilarne kolone su bolje od punjenih jer provode bolje odjeljivanje, analiza je brža i zahtjevaju manje uzorka (Spajić, 2017.).

2.5.2. Spektrofotometrija masa

Spektrofotometri su instrumenti koji daju podatke o molekularnoj strukturi. Razlikuju se:

- Infracrveni spektar (IC),
- spektar nuklearno–magnetske rezonancije (NMR),

- ultraljubičasti spektar (UV),
- spektar elektro–spinske rezonancije (ESR),
- spektar masa.

Spektometar masa je uređaj u kojem se molekule bombardiraju snopom elektrona bogatih energijom. Dolazi do ionizacije i cijepanja molekula u mnogo fragmenata, od kojih su neki pozitivno nabijeni ioni. Svaka vrsta iona ima određenu masu i naboj, tj. određeni odnos m/e što je karakteristična veličina za tu vrstu iona. Niz iona se analizira na način da se dobije signal za svaku vrijednost m/e koja je prisutna. Intenzitet svakog signala prikazuje relativnu količinu iona koja daje taj signal. Osnovni signal je najviši signal ili maksimum (engl. peak). Intenzitet osnovnog signala označava se sa 100, te se obzirom na njegov intenzitet izražava intenzitet ostalih signala.

Spektar masa je dijagram koji pokazuje relativne intenzitete signala za različite vrijednosti m/e. Za dokazivanje identičnosti dva spoja i kao pomoć pri određivanju strukture novog spoja može poslužiti spektar masa. Dva spoja su identična ako su im jednake fizikalne konstante (talište, vrelište, gustoća). U kombinaciji plinskog kromatografa i masenog spektrometra, plinskom kromatografijom se razdvajaju sastojci, a maseni spektrometar služi kao detector (Zobundžija, 2016.).

Sprektometar se sastoji od: izvor zračenja, selektor valnih duljina, kiveta za uzorak, pretvornik zračenja, sustav za očitavanje signala (detektor), procesor signala (računalo) i pisač (Spajić, 2017.).

2.5.3. SPME

Zbog dugotrajne pripreme uzoraka i upotrebe organskog otapala, analitičke tehnike poput ekstrakcije tekuće-tekuće ili ekstrakcija na čvrstoj fazi nisu bile zadovoljavajuće učinkovitosti, te su Zhang i Pawliszyn 1993. godine razvili novu tehniku pripreme uzoraka poznatu kao mikroekstrakcija na čvrstoj fazi ili tzv. SPME (engl. solid phase microextraction) tehnika. SPME tehnika se primjenjuje za pripremu čvrstih i tekućih uzorka poput vina, piva, voća, ulja i meda

SPME tehnika se sastoji od dvije odvojene faze:

- apsorpcije - zaostajanje analita na stacionarnoj fazi,
- desorpcije.

Na ekstrakciju utječu: tip uzorka, vrijeme ekstrakcije, ionska jakost, pH uzorka, temperatura ekstrakcije i mućkanje uzorka, dokna desorpciju utječu temperatura i vrijeme desorpcije. Za uspješan postupak obje faze moraju biti optimizirane.

SPME tehnika omogućuje otkrivanje tragova arome, koje nije moguće otkriti konvencionalnom ekstrakcijom tekuće-tekuće. Upotrebom modela vina uočena je primarna važnost kožice bobica grožđa kao izvor aromatičnih prekursora koji se lako otpuštaju u vino maceracijom, što je posebno izraženo kod crnog vina.

Kombinacija SPME analize i kapilarne plinske kromatografije na masenom spektrometru (GC-MS) koristi se za određivanje isparljivih komponenti vina. Kod vina je karakterističan skup identificiranih komponenti uz odgovarajuće relativne abundacije, tzv. ˝aromagrami˝. Za većinu komponenti granica detekcije je u µg/l. Lako se mogu identificirati alkoholi, terpeni i esteri (Zobundžija, 2016.).

SPME aparatura

Aparature se sastoji od kućišta koje nalikuje olovci, unutar kojeg se nalazi igla. Unutar igle na polimernoj stacionarnoj fazi prevučenoj preko silikatne niti dužine 1 cm odvija se adsorpcija sastojaka. Igla štiti punilo tijekom uporabe i čuvanja, te prilikom prolaza kroz septum injektora plinskog kromatografa i omogućava lakše rukovanje (Zobundžija, 2016.).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak rada je ispitati utjecaj sorte na aromatske i fenolne sastojke crnih vina iz vinogorja podregije Južna Dalmacija. U tu svrhu uzeti su uzorci crnih vina Babić, Babica, Blatina, Plavac i Tribidrag. Antocijani, antioksidacijska aktivnost i polimerna boja odredit će se upotrebom spektrofotometra, aodređivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka provest će se primjenom instrumentalne plinske kromatografije i mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME). U radu će biti korišten plinski kromatograf tvrtke Agilent 7890 B s maseno-selektivnim detektorom Agilent 5977.

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. Karakteristike crnih vina

Babić

Babić je autohtona hrvatska sorta grožđa podrijetlom iz šibenskog područja te raširena u Srednjoj i Južnoj Dalmacije. Zreli grozd je srednje velik do velik, često s razvijenim sugrozdićima iz koljenca. Peteljka je tanka i krhka. Zrele bobice su srednje do velike, izrazito tamnoplave boje, okrugle, meke i tanke kožice, sočnog mesa. Grožđe postiže izrazito dobru kakvoću na suhom kamenitom tlu te na položajima s izrazito toplom klimom. Rodnost je obilna, osobito na plodnom i vlažnom tlu. Otpornost na bolest autohtone sorte Babićje vrlo slaba, a posebno je osjetljiva na peronosporu i sivu trulež.

Sorta Babić je tipična vinska sorta koja na škrtim terenima daje visoku kakvoću, a u uvjetima dobre plodnosti postižu se vrlo visoki prinosi, vina srednje kakvoće. Dobivaju se vina s visokom razinom kiselina koje ublažuju visok sadržaj alkohola. Vina su bogata taninima s visokim udjelom ekstrakta, koncentracijom šećera od 15 do 20% i ukupne kiselosti od 5 do 7 g/l. Vino je modrocrvene boje, ugodne voćne arome koje vinu daju punoću okusa s udjelom alkohola od 11,5 do 13,5%. Zbog visokog udjela tanina, sorta Babić je pogodna za čuvanje i starenje, osobito u hrastovim bačvama čime se obogaćuje aroma vina (Ivandija, 2008.; web 5).



Slika 13 Babić (izvor: web 15)

Babica

Sorta Babica se smatra relativno mladom sortom. Uglavnom se nalazi na području Kaštela, te se pretpostavlja da je tamo i nastala. Sorta se uzgaja u vinogorju Trogir-Kaštela koja spada u podregiju Srednje i Južne Dalmacije. Sorta Babica je pored sorte Plavac mali crni osnovna sorta za proizvodnju tradicionalnog kaštelanskog ružičastog vina Opola.

Grozd sorte Babica je srednje velik, srednje zbijen do zbijen, koničan. Bobice su srednje veličine i okrugle, a kožica tamno modre boje s obilnim maškom (mikroorganizmima koji su donijeli vjetar i kukci). Meso bobice je sočno i ukusno. Sorta ima stabilnu i redovitu rodnost, dobru kakvoću te povoljne uzgojne karakteristike.

Od sorte Babica se mogu proizvesti laganija crna vina koja se mogu piti kao mlada. Vinificira se u kombinaciji s nekom drugom lokalno važnom sortom (Ivandić, 2017.; Skračić i Banović, 2017.).



Slika 14 Grozd Babice (Skračić i Banović, 2017.)

Blatina

Blatina je jedna od autohtonih sorti Hercegovine. Blatina je vrlo izbirljiva prema tipu tla na kojem se uzgaja. Važna je sposobnost tla da zadrži vlagu tijekom vegetacije iz razloga što u izrazito sušnim uvjetima uzgoja dolazi do neželjene pojave smežuranja bobica grozda i rapidnog opadanja prinosa. Ukoliko u vremenskom razdoblju od šaranja do pune zrelosti Blatina nema na raspolaganju dovoljne količine vlage, u uvjetima žarkih i sušnih ljetnjih mjeseci podbacuje u prinosu i formira tzv. čereze tj. sasušene bobice grozda. Preradom sasušenih bobica grožđa se dobiva iznimno malo grožđanog soka. Blatini ne odgovara uzgoj na suviše vlažnim položajima, a iznimno je važno da tijekom cvatnje Blatine ne bude obilnih, dugotrajnih padalina. Osjetljiva je na ekstremno visoke temperature praćene jakim dnevnim osunčanjem koje u pojedinim godinama mogu prouzročiti palež i sušenje grozdova. Blatina dozrijeva u trećem razdoblju, i formira grozdove srednje veličine. Grozdovi su konusnog ili piramidalnog oblika, rastresiti ili zbijeni u ovisnosti od uspješnosti oplodnje. Bobice su nejednake veličine, pretežno srednje velike, okrugle s tankom pokožicom tamnoplave do crne boje. Blatina je osjetljiva prema plamenjači i pepelnici. Mošt sadrži 18-23,5% šećera i 6-7 g/l ukupnih kiselina. Sadržaj alkohola u izuzetno dobrim godinama može biti od 13 do 15 vol%. Vino je tamnocrvene boje, aromatičnog i vrlo ugodnog okusa (Rotim i sur., 2017.).



Slika 15 Blatina (Rotim i sur., 2017.)

Plavac Mali

Plavac mali je autohtona vinska sorta Srednje i Južne Dalmacije. U Dalmaciji se Plavac Mali uzgaja na uskom obalnom području od Kanavala do Primoštena, zatim na otoku Pelješcu i otocima Mljetu, Lastovu, Korčuli, Visu, Hvaru i Braču. Uzgoj sorte Plavac mali izvan područja specifičnih položaja uzgoja, nisu dali zadovoljavajuće rezultate, što je pokazatelj specifičnosti i vezanosti ove sorte za izvorno područje (Andabak i sur., 2016.).

Zreo grozd je srednje veličine, slabo zbijen do zbijen, s kratkim peteljkama. Zrele bobice su srednje velike, okrugle, tamnoplave s izrazitim maškom. Kožica bobice je debela, a meso bobice je čvrste konzistencije sa sočnim ne obojenim sokom. Dozrijevanje bobica je neujednačeno, te se na jednom grozdu mogu naći zelene i prosušene bobice. Na dobrim položajima daje izrazito visoku kakvoću grožđa. Sorta Plavac Mali je dobro otporna na bolesti, ali ima nešto veću osjetljivost na pepelnicu (Ivandija, 2008.).



Slika 16 Plavac mali (izvor: web 17)

Tribidrag

Sinonimi: Crljenak kaštelanski, Pribidrag, Primitivo (ITA), Zinfandel (SAD), Kratošija (MNE). Tribidrag je „Dalmatinski feniks“, za kojeg je dokazano da je genetički istovjetan Zinfandelu (najpopularnija crna sorta u SAD-u). U Republici Hrvatskoj ova je sorta pronađena u Kaštel Novom, a zatim pod sinonimom Pribidrag kod Omiša. Postoje mnogi povijesni zapisi o uzgoju sorte pod imenom Tribidrag u Dalmaciji. Tribidrag se uzgaja na području Republike Hrvatske u podregiji Srednje i Južne Dalmacija te Sjeverne Dalmacija na 63,4 ha (Andabak i sur., 2016.).



Slika 17 Tribidrag (izvor: web 16)

3.2.2. Kemijske analize vina

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 omogućava točno mjerenje ukupnih antocijana, bez obzira na prisutnost polimeriziranih, degradiranih pigmenata i drugih tvari koje bi mogle smetati.

Antocijani su određivani metodom prema Giusti i Wrolstadu (2001.) s malom modifikacijom. 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 absorbanca pri valnim duljinama od 508 nm i 700 nm. Sadržaj antocijana je izračunat prema slijedećoj formuli:

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

gdje je:

A – absorbancija uzorka, a izračunava se prema izrazu:

$$A = (A508 - A700)pH\ 1 - (A508 - A700)pH\ 4,5$$

M – 449,2,

FR – faktor razrjeđenja,

E – molarna absorptivnost; 26 900,

I – duljina kivete; 1 cm.

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

Određivanje antioksidacijske aktivnosti

Antioksidacijska aktivnost određena je primjenom ABTS metode. U ovoj 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.).

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 $\lambda_{vis\text{-}max}$. 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):

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

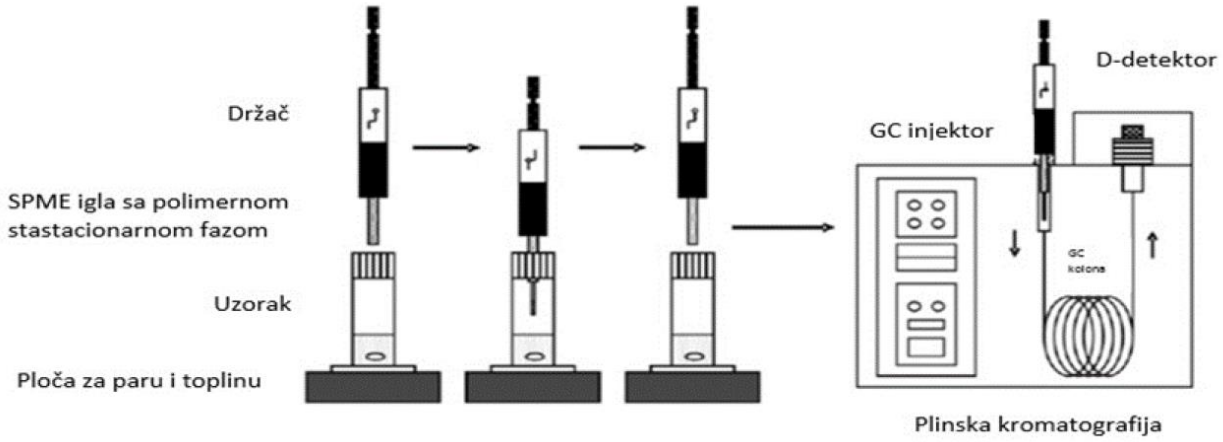
Izračun postotka polimerne boje:

$$\text{Postotak polimerne boje} = (\text{polimerna boja}/\text{gustoća boje}) \times 100$$

Analiza arome vina plinskom kromatografijom primjenom SPME analize

Priprema uzorka

Za ekstrakciju hlapivih sastojaka korištena je tehnika mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME). Osnova SPME aparature 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 18 SPME držač za uzorkovanje (Zobundžija, 2016.)

Uvjeti rada plinskog kromatografa:

Paramatri ekstrakcije:

- temperature 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,
- temperature injektora : 250°C,
- temperature detektora: 280°C,
- desorpcija uzorka u injector: 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:

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

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 vina Južne Dalmacije

Vinske sorte	Antioksidacijska aktivnost (mmolTE/100 mL)	Antocijani (mg/L)	Polimerna boja (%)
Babić	8,194	110,770	59,197
Babica	7,228	85,329	58,519
Blatina	5,311	67,563	68,059
Plavac	3,923	47,628	78,182
Tribidrag	3,347	40,788	88,312

Tablica 3 Retencijski indeksi aromatičnih spojeva identificiranih u ispitivanim uzorcima vina Babić, Babica, Blatina, Plavac i Tribidrag

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

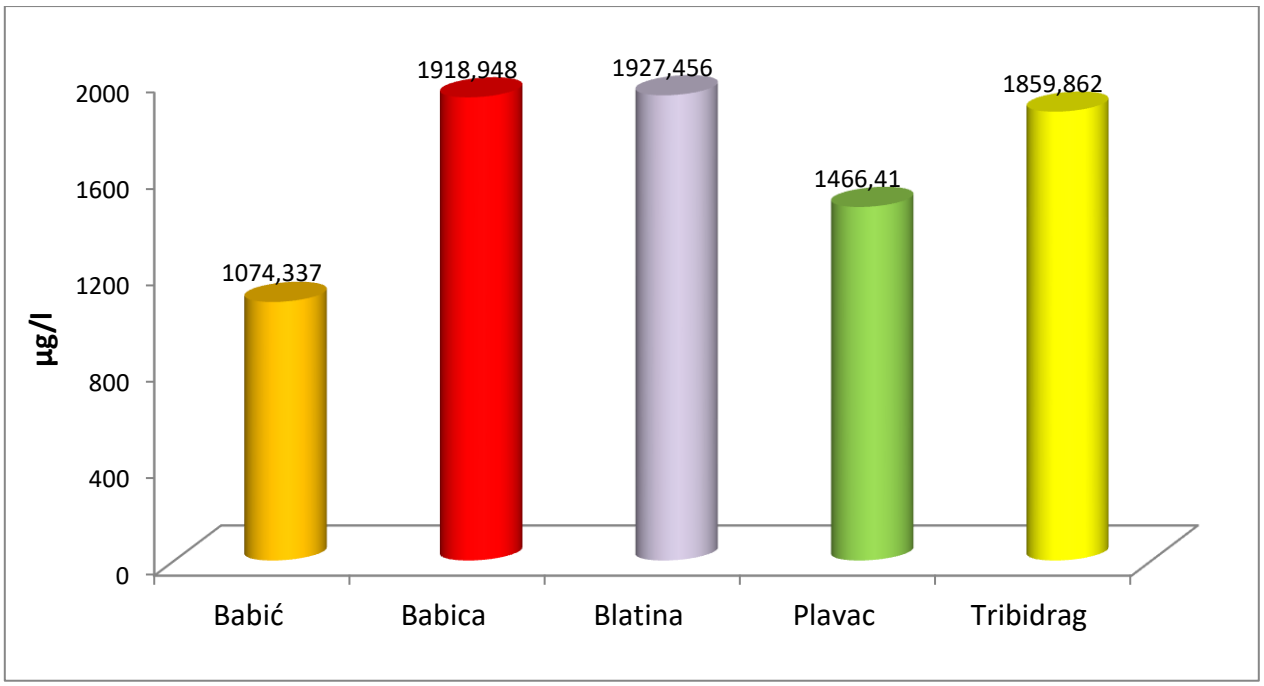
Esteri	
Etil heksanoat	996
Etil sorbat	1092
Dietilsukcinat	1179
Etil oktanoat	1191
Etil fenilacetat	1235
Dietilglutarat	1276
Etil dekanoat	1383
Etil vanilat	1579
Etil laurat	1583
Izopropillaurat	1615
Izoamildekanoat	1634
Etil tridekanoat	1681
Etil miristat	1787
Izopropilmiristat	1817
Diizobutilftalat	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, aldehida, ketona i terpena identificiranih u autohtonim vinima Južne Dalmacije

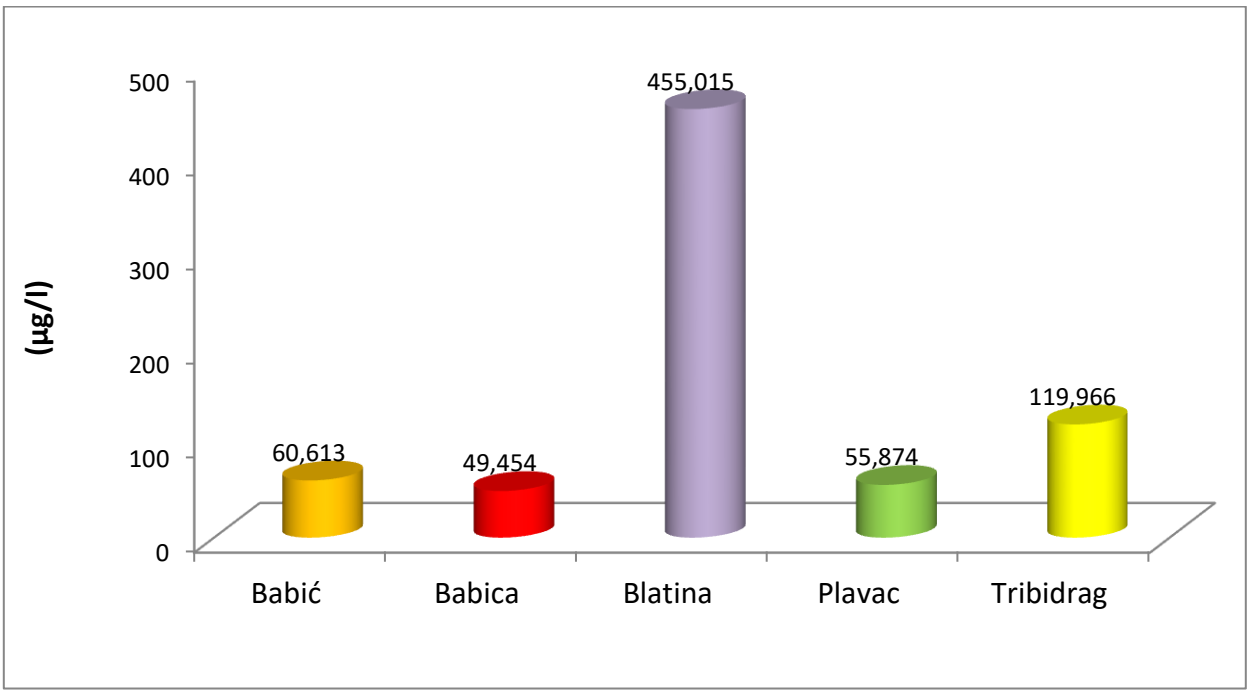
Spoj	Babić	Babica	Blatina	Plavac	Tribidrag
Alkoholi (µg/l)					
Metionol	5,694	7,428	15,075	13,066	9,759
Etil heksanol	-	13,53	-	-	13,378
Oktanol	9,188	23,298	-	18,572	22,319
Feniletil alkohol	996,15	1842,982	1837,673	1378,463	1792,544
Dodekanol	63,304	31,71	74,708	56,309	21,862
Kiseline (µg/l)					
Heksanska kiselina	17,923	-	-	-	9,3
Oktanska kiselina	42,69	35,01	348,667	-	100,47
Dekanska kiselina	-	14,444	106,348	55,874	10,196
Aldehidi i ketoni (µg/l)					
Benzaldehid	-	-		84,544	-
Dekanal	6,515	-	12,623	7,464	-
Dodekanal	114,283	-	161,617	94,804	6,576
Geranil aceton	26,836	-	17,597	-	11,681
Lilial	9,382	9,79	10,017	16,056	8,578
Tetradekanal	158,526	-	209,534	135,616	-
α-heksilcinamal	10,269	9,639	15,692	17,98	4,571
Terpeni (µg/l)					
Linalool	-	11,733	-	33,702	25,726
Citronelol	-	-	4,425	-	7,304
β-damascenon	2,326	8,079	9,471	6,331	5,929
Nerolidol	-	12,851	22,29	-	12,4
Fluoren	6,243	-	-	7,71	12,788
α-cedrol	-	-	5,313	-	-

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

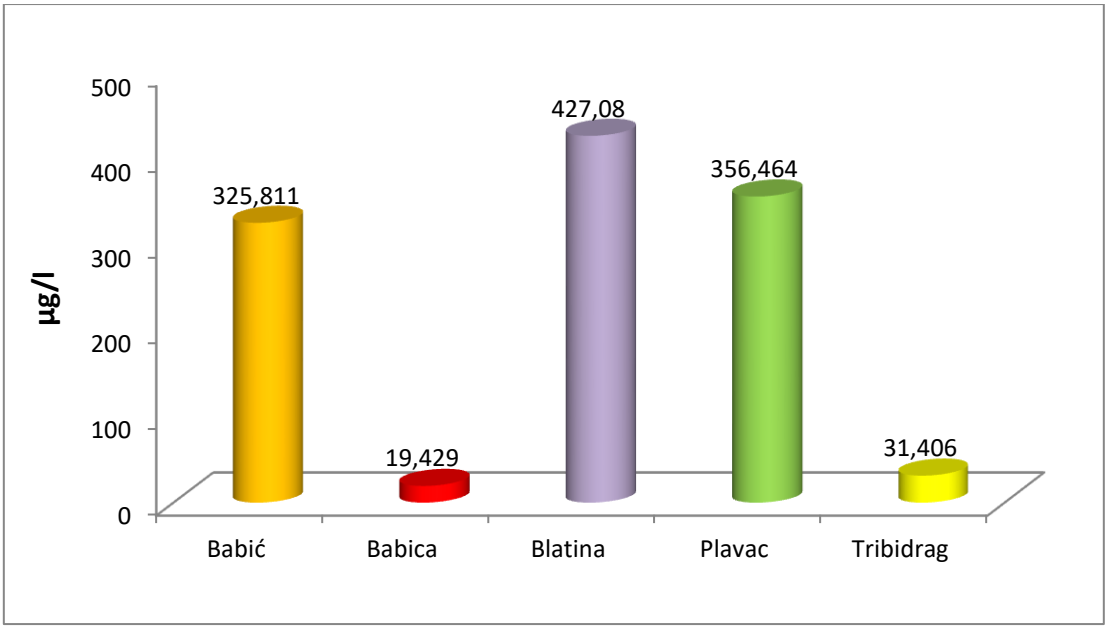
Spoj	Babić	Babica	Blatina	Plavac	Tribidrag
Esteri (μg/l)					
Etil heksanoat	46,608	79,886	41,634	84,769	74,982
Etil sorbat	-	-	191,177	-	-
Dietil sukcinat	875,52	1630,505	645,845	1588,23	1634,356
Etil oktanoat	328,939	173,739	-	486,915	205,474
Etil fenilacetat	36,602	14,67	17,51	37,25	19,815
Dietil glutarat	5,85	-	-	5,489	-
Etil dekanoat	23,385	-	27,213	53,425	110,179
Etil vanilat	6,286	-	-	8,323	-
Etil laurat	9,19	13,767	9,273	12,606	15,44
Izopropil laurat	7,36	5,977	9,513	-	3,175
Izoamil dekanoat	-	4,727	-	4,892	6,767
Etil miristat	39,077	32,903	26,499	62,71	28,926
Izopropil miristat	22,221	5,501	31,763	31,676	12,502
Diizobutil ftalat	13,766	12,654	24,619	30,394	15,026
Etil pentadekanoat	22,694	16,504	28,046	52,659	19,671
Etil palmitat	32,946	115,225	177,893	86,487	183,329
Etil linoleat	1,932	6,639	2,082	7,74	28,739
Etil stearat	6,306	27,785	9,742	20,472	50,387
Ostali identificirani spojevi (μg/l)					
4-etil fenol	177,868	55,776	11,457	24,246	41,305
Vitispiran	22,588	-	20,855	45,758	19,888
4-etil gvajakol	40,739	9,231	11,367	-	12,048
p-benzokvinon	29,555	27,081	27,26	29,474	25,478



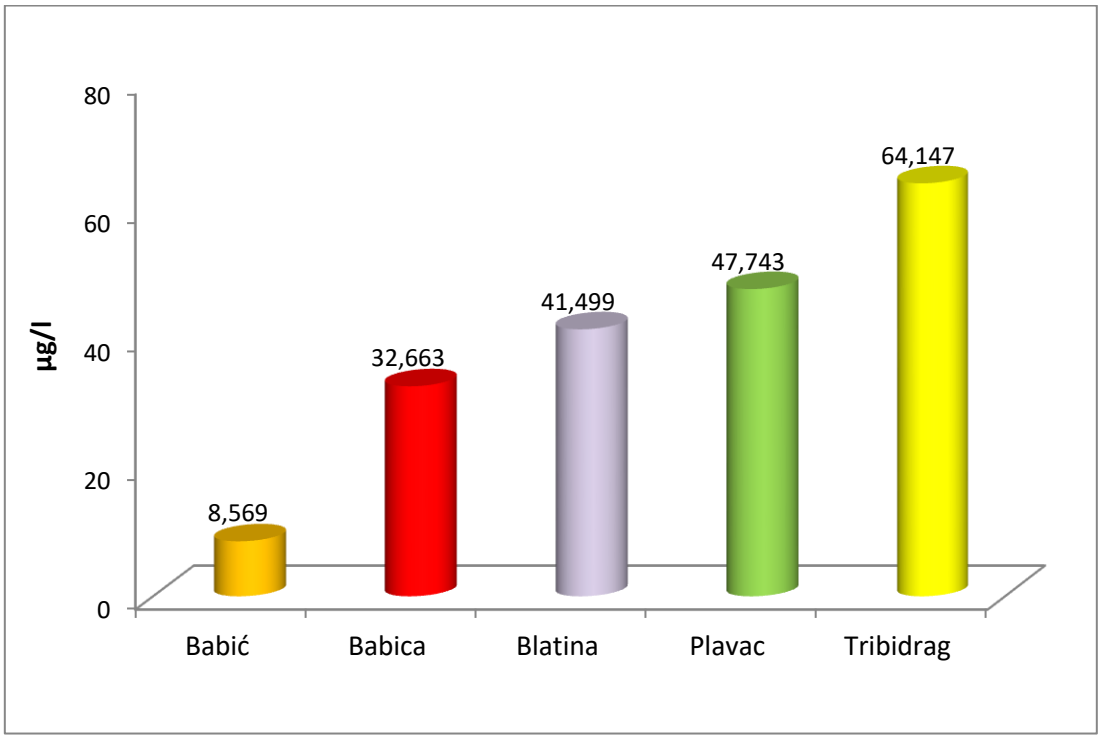
Slika 19 Koncentracija ukupnih alkohola u autohtonim vinima Južne Dalmacije



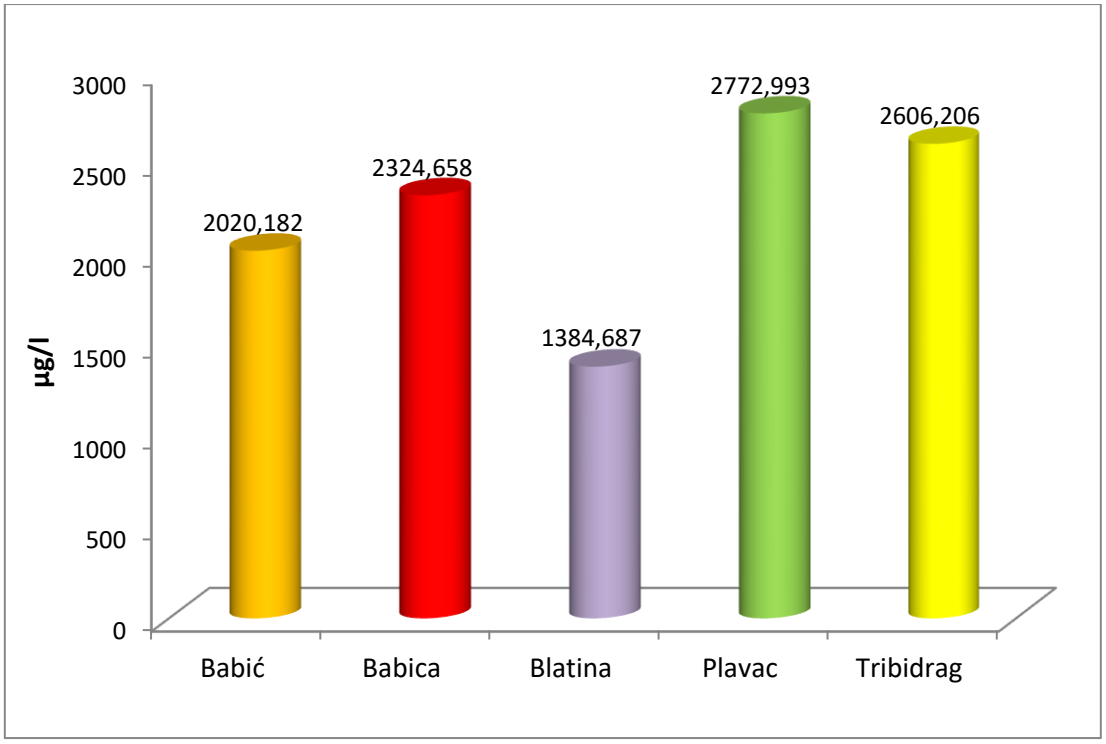
Slika 20 Koncentracija ukupnih kiselina u autohtonim vinima Južne Dalmacije



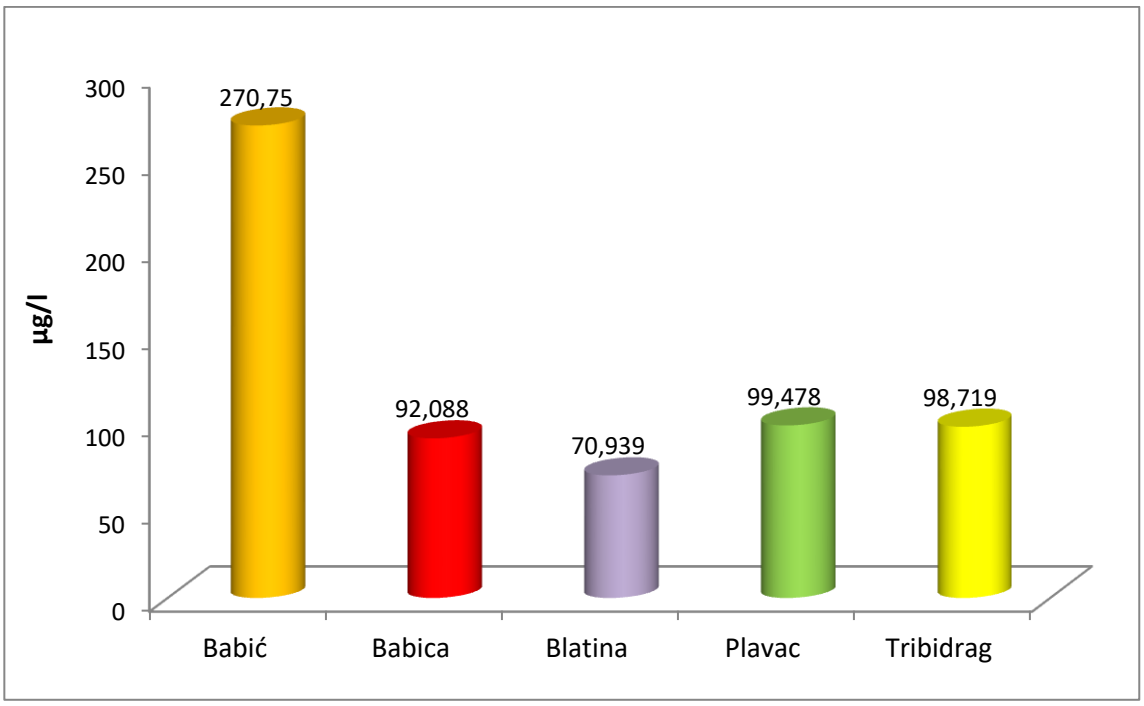
Slika 21 Koncentracija ukupnih aldehida i ketona u autohtonim vinima Južne Dalmacije



Slika 22 Koncentracija ukupnih terpena u autohtonim vinima Južne Dalmacije



Slika 23 Koncentracija ukupnih estera u autohtonim vinima Južne Dalmcije



Slika 24 Koncentracija ostalih spojeva identificiranih u autohtonim vinima Južne Dalmacije

5. RASPRAVA

Aromatski profil i fenolni sastav analiziranih vina prikazani su u **Tablicama 2,3,4, i 5**te na **Slikama 19, 20, 21, 22, 23 i 24.**

Crna vina sadrže visok udio fenolnih spojeva koji se ekstrahiraju iz čvrstih dijelova bobice (kožice i sjemenke) tijekom faze maceracije. Pored toga što crnim vinima daju karakterističnu boju i trpkost, fenolni spojevi djeluju i kao antioksidansi u organizmu, budući da sprječavaju štetno djelovanje slobodnih radikala. Antioksidacijska aktivnost u analiziranim vinima prikazana je u **Tablici 2**, iz koje je vidljivo da je najveću vrijednost imalo vino sorte Babić (8,19 mmol/100 mL), a najmanju vino sorte Tribidrag (3,35 mmol/100 mL) te Plavac (3,92 mmol/100 mL). U skupinu fenolnih spojeva spadaju i antocijani (pigmenti plave do crvene boje). Najveću koncentraciju antocijana sadržavalo je vino sorte Babić (110,77 mg/L). Nešto manja koncentracija pronađena je u vinu sorte Babica (85,33 mg/L), dok je u vinima sorte Plavac sadrža i tribidrag antocijana bio gotovo dvostruko manji (47,63 i 40,79 mg/L). U **Tablici 2** prikazan je i udio polimerne boje, gdje je najveću vrijednost ponovno ima vino sorte Tribidrag (88,31 %).

Aromatski profil vina predstavlja kombinaciju primarne (arome koja je karakteristična za samu sortu grožđa), sekundarne (arome koja nastaje tijekom fermentacije mošta) te tercijarne arome (arome koja se razvija tijekom odležavanja i skladištenja vina). Svi spojevi arome koji se mogu pronaći u vinima najčešće se dijele na sljedeće skupine: više alkohole, masne kiseline, karbonilne spojeve, terpene, estere i ostale. Spojevi arome koji su pronađeni u autohtonim vinima Južne Dalmacije prikazani su u **Tablici 3, 4 i 5**.

Viši alkoholi, koji nastaju kao sekundarni produkti metabolizma kvasca tijekom fermentacije, doprinose slatkastoj, cvjetnoj ili mednoj aromi vina. U analiziranim vinima, od pet identificiranih viših alkohola, najveću koncentraciju u svim sortama imao je feniletil alkohol, od 996,15 μg/L u vinu sorte Babić, do 1842,98 μg/L u vinu sorte Babica. Pored feniletil alkohola, u svim uzorcima pronađen je i dodekanol, čija je najmanja koncentracija bila 21,86 μg/L u vinu sorte Tribidrag, a najveća 74,71 μg/L u vinu sorte Blatina, te metionol, čija je koncentracija bilo značajno manja (najveću koncetraciju metionola sadržavalo je vino sorte Blatina; 15,08 μg/L). Etil heksanol pronađen je samo u vinima sorte Babica i Tribidrag (oko 13 μg/L), dok su oktanol sadržavala sva vina osim vina sorte Blatina. Unatoč tome, vino sorte Blatina je sadaržavalo najveću ukupnu koncentraciju viših alkohola (1927,46 μg/L).

U analiziranim vinima identificirane su tri masne kiseline: heksanska, oktanska i dekanska kiselina, koje doprinose masnoj i voštanoj aromi s kiselom notom. Iako su u vinu sorte Tribidrag pronađene sve tri navedene kiseline (ukupna koncentracija kiselina je bila 119,97 μg/L), najveću ukupnu koncentraciju kiselina sadržavalo je vino sorte Blatina (455, 02 μg/L), u kojem su pronađene oktanska i dekanska

kiselina. Najmanju koncentraciju kiselina sadržavalo je vino sorte Babica (49,45 μg/L), te vino sorte Plavac, u kojem je identificirana samo dekanska kiselina u koncentraciji od 55,87 μg/L.

U karbonilne spojeve ubrajamo aldehide i ketone, a u analiziranim vinima identificirano ih je ukupno sedam, gdje se najviše ističu dodekanal i tetradekanal s najvećim udjelom (doprinose masnoj i voštanoj aromi s citrusnom i cvjetnom notom). Najveću ukupnu koncentraciju karbonilnih spojeva sadržavalo je vino sorte Blatina (427,08 μg/L), a najmanju vino sorte Babica (19,43 μg/L). Lilial i α-heksilcinamal identificiran je u svim uzorcima, dok je benzaldehid pronađen samo u vino sorte Plavac (84,54 μg/L).

Sortnu aromu vina određuju terpeni, skupina aromatičnih spojeva koji se dijele na slobodne terpene (odgovorne za aromu grožđa) te vezane terpene koji se oslobađaju tijekom određenih faza procesa proizvodnje vina (maceracija, ekstrakcija, enzimska hidroliza, fermentacija itd.). Aroma koju vinu daju terpeni najčešće je citrusna, svježa, slatka i cvjetna. Od ukupno šest identificiranih terpena (linalool, citronelol, β-damascenon, nerolidol, fluoren i α-cedrol) u analiziranim vinima, samo je β-damascenon pronađen u svim uzorcima, dok je α-cedrol identificiran samo u vinu sorte Blatina (5,31 μg/L). Najveću ukupnu koncentraciju terpena sadržavalo je vino sorte Tribidrag (64,15 μg/L), dok su u vinu sorte Babić identificirana samo dva terpena (β-damascenon i fluoren), ukupne koncentracije 8,57 μg/L.

Najveću skupinu spojeva arome predstavljali su esteri, nastali reakcijom acetil-CoA s višim alkoholima, koji doprinose cvjetnoj i voćnoj aromi vina. Najveću koncentraciju estera sadržavalo je vino sorte Plavac (2772,99 μg/L), a najmanju vino sorte Blatina (1384,69 μg/L). Identificirano je ukupno 18 estera, a najzastupljeniji je bio dietil sukcinat, koji je identificiran u svim uzorcima, s najvećom koncentracijom u vinu sorte Tribidrag (1634,36 μg/L). Od ostalih estera, nešto veću koncentraciju imali su etil heksanoat, etil oktanoat, etil dekanoat te etil palmitat. Većina estera pronađena je u svim analiziranim uzorcima, međutim, etil sorbat (slatke arome tropskog voća) pronađen je samo u vinu sorte Blatina (191,18 μg/L). Najveći broj estera pronađen je u vinima sorte Babić i Plavac, koji su za razliku od ostalih uzoraka, sadržavali dietil glutarat i etil vanilat, koji daju toplu, voćnu i slatkastu aromu.

Od ostalih spojeva, u analiziranim vinima identificirani su sljedeći spojevi: 4-etil fenol, 4-etil gvajakol, vitispiran i P-benzokvinon. Za razliku od ostalih spojeva arome koji su gore navedeni, 4-etil fenol i 4-etil gvajakol doprinose neugodnoj aromi vina (po štali i miševima), a najveću koncentraciju tih spojeva imalo je vino sorte Babić.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovu dobivenih rezultata, izvučeni su sljedeći zaključci:

- Aromatski profil i udio fenolnih spojeva u vinu ovisi, kako o tehnološkim postupcima proizvodnje, tako i o samoj sorti grožđa od koje se vino proizvodi.

- Rezultati analiza vina pokazali su vidljive razlike među sortama u ukupnom udjelu antocijana te antioksidacijskoj aktivnosti. Vino sorte Babić imalo je najveću vrijednost antioksidacijske aktivnosti, dok su vina sorte Plavac i Tribidrag imali najmanju. Također, vino sorte Tribidrag imalo je najveći udio polimerne boje.

- Što se tiče aromatskog profila, vino sorte Blatina sadržavalo je najveću ukupnu koncentraciju viših alkohola, kiselina i karbonilnih spojeva, dok su najveće koncentracije terpena pronađene u vinu sorte Tribidrag, te estera u vinu sorte Plavac.

- Najmanji broj pronađenih spojeva sadržavala su vina sorte Babica i Babić, posebice karbonilnih spojeva (u vinu sorte Babica pronađena su samo dva aldehida) te terpena (vino sorte Babić sadržavalo je najmanju koncentraciju terpena).

- Najveća skupina aromatskih spojeva su esteri, gdje su među najzastupljenijima bili etil esteri masnih kiselina. Najveću koncentraciju u svim vinima imao je dietil sukcinat.

- U vinima su identificirani 4-etil fenol i 4-etil gvajakol, koji nastaju kao produkti metabolizma divljeg kvasca *Brettanomyces*, koji se može pronaći u vinskim podrumima.

7. LITERATURA

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

Andabaka Ž, Stupić D, Karoglan M, Marković Z, Preiner D, Maletić E, Karoglan Kontić J: Povijesni tijek uzgoja najvažnijih autohtonih dalmatinskih sorata vinove loze (*Vitis vinifera L.*). *Glasnik zaštite bilja* 39:14-20, 2016.

Basha MS, Musingo M, Colova SV: Compositional differences in the phenolics compounds of muscadine and bunch grape wines. *African Journal of Biotechnology* 3:523-528, 2004.

Buntić B: Utjecaj dodataka pektolitočkih enzima na kolorimetrijske karakteristike crnog vina. *Završni rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2016.

Gil VJ, Valles S: Effect of macerating enzymes on red wine aroma at laboratory scale: exogenous addition or expression by transgenic wine yeasts. *Journal of agricultural and food chemistry* 49:5515-5523 , 2001.

Ivandić L: Utjecaj primjene pektolitičkih enzima na sadržaj antocijana tijekom vinifikacije crnog grožđa. *Završni rad*. Kemijsko-tehnološki fakultet, Split, 2017.

Ivandija T: Autohtone vinske sorte. *Glasnik zaštite bilja* 31:117-125, 2008.

Kontrec M: Utjecaj načina berbe grožđa na tijek fermentacije i kvalitetu crnih vina. *Diplomski rad*. Poljoprivredni fakultet, Osijek, 2017.

Kordić M: Elaborat tehničko-tehnološkog rješenja vinarije. *Diplomski rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2017.

Mihovilović M: Utjecaj procesnih parametara na zadržavanje tvari boje i arome vina od jabuke. *Diplomskirad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2016.

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

MPS, Ministarstvo poljoprivrede RH: *Zakon o vinu*. Narodne novine 79/17, 2017.

Pichler A, Pozderović A, Prskalo A, Andrašek A, Kopjar M: Utjecaj geografskih i klimatskih uvjeta na sadržaj tvari arome, polifenola i antocijana u crnim vinima erdutskog vinogorja istočne Slavonije. *Glasnik zaštite bilja* 38:34-43, 2015.

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

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

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

Puhelek I: Sastav aromatskih spojeva, aminokiselina i organskih kiselina u vinima klonskih kandidata kultivara kraljevina. *Doktorski rad*. Agronomski fakultet, Zagreb, 2016.

Radovanović V: *Tehnologijavina.* IRO,,Građevinska knjiga", Beograd, 1986.

Rastija V i Medić-Šarić M: Kromatografske analize polifenola. *Kemija u industriji* 58:121–128, 2009.

Rastija V, Mihaljević K, Drenjančević M, Jukić V: Korištenje saznanja o polifenolnom profile hrvatskih vina u marketinške svrhe. *Radovi Zavoda za znanstveni i umjetnički rad u Požegi* 5:39-56, 2016.

Rotim N, Gašpar M, Perić I: Vinski kultivar vinove loze u Hercegovini. *Glasnik zaštite bilja* 40:78-85, 2017.

Serafini M, Maiani G, Ferro-Luzzi A: Effect of ethanol on red wine tannin-protein (BSA) interactions*. Journal of agricultural and food chemistry* 45:3148-3151, 1997.

Skračić Ž, Banović M: Usporedba karakteristika sorata vinove loze Babica i Tribidrag. *Glasnik zaštite bilja* 40:5, 2017.

Sokolić I: *Pravi hrvatski vinogradarsko-vinarski leksikon.* Vitagraf d.o.o., Rijeka, 1993.

Spajić A: Utjecaj ranije zaustavljene alkoholne fermentacije na aromatski profil i boju vina sorte Graševina. *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.

Vrdoljak I: Utjecaj membranske filtracije na aromu i kemijski sastav vina sorte Graševina. *Diplomski rad*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2009.

Zobundžija D: Utjecaj dodataka na tvari boje i arome kupinovog vina. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2016.

Web izvori:

Web 1: http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=vinova_loza [27.10.2018.]

Web 2: https://www.veleri.hr/files/datotekep/nastavni_materijali/k_vinarstvo_2/Vinarstvo%20III%20-novo.pdf [24.7.2018.]

Web 3: https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/tehnologija-proizvodnje-vina [1.11.2018.]

Web 4: https://www.veleri.hr/files/datotekep/nastavni_materijali/k_vinarstvo_1/8%20-%20Vinifikacija%20crnih%20vina.pdf [24.7.2018.]

Web 5: http://vinacroatia.hr/hrvatska-vina/primorska-hrvatska/dalmacija/ [13.11.2018.]

Web 6: http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=Datoteka:BOBICA_shema.png [11.11.2018.]

Web 7: https://zir.nsk.hr/islandora/object/ptfos:1398/preview [10.11.2018.]

Web 8: https://hr.wikipedia.org/wiki/Glicerol#/media/File:Glycerin.svg [10.11.2018.]

web 9: https://www.google.hr/search?biw=1242&bih=553&tbm=isch&sa=1&ei=2OLmW8bbBILRsAGxmZfYDA&q=strukturna+formula+vinske+kiseline&oq=strukturna+formula+vinske+kiseline&gs_l=img.3...4596.9144.0.10142.22.22.0.0.0.0.131.2135.6j14.20.0....0...1c.1.64.img..2.7.788...0j0i8i30k1j0i30k1j0i5i30k1j0i24k1.0.mNqJfqwlxc8#imgrc=B4bxP30JL1Sl5M [10.11.2018.]

Web 10: https://repozitorij.kemija.unios.hr/islandora/object/kemos%3A10/datastream/PDF/view [10.11.2018.]

Web 11: http://www.mit.com.hr/vinarska-oprema/muljaca-runjaca-jolly-60-mv.php [10.11.2018.]

Web 12: https://www.google.hr/search?q=maceracija+crnog+gro%C5%BE%C4%91a&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiEy8fWvMreAhUBDSwKHfjuCbQQ_AUIDigB&biw=1242&bih=553#imgdii=5dD4BAon8FjmqM:&imgrc=yzKG-_xQfG_M9M [10.11.2018.]

Web 13: https://www.bauhaus.hr/vrt-i-okucnica/vrtlarstvo/vinski-program/muljace-i-prese.html [10.11.2018.]

Web 14: https://www.google.hr/search?q=maceracija+crnog+gro%C5%BE%C4%91a&source=lnm

s&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiEy8fWvMreAhUBDSwKHfjuCbQQ_AUIDigB&biw=1242&bih=553#imgdii=rTYmaUWZY7msfM:&imgrc=Ssr1S8wEowPRhM [10.11.2018.]

Web 15: http://vinopedia.hr/wiki/images/8/87/Babic_crni.jpg [6.11.2018.]

Web 16: https://tribidrag.org/about-tribidrag/?lang=en [6.11.2018.]

Web 17: https://www.google.hr/search?biw=1242&bih=597&tbm=isch&sa=1&ei=TIz0W92-HIO6kwWO9K3YCQ&q=plavac+mali+gro%C5%BE%C4%91e&oq=plavac+mali+gro%C5%BE%C4%91e&gs_l=img.3..0i30.485.3251..3856...0.0..0.88.558.7.....0....1..gws-wiz-img.....0j0i5i30j0i24.yDgzSHVn_f8#imgrc=DTcPu4X6zSFLVM [20.11.2018.]

Web 18: https://hr.wikipedia.org/wiki/Plinska_kromatografija [14.12.2018.]