

Utjecaj koncentriranja membranskim procesom nanofiltracije na tvari arome vina Cabernet Sauvignon

Maglica, Matea

Master's thesis / Diplomski rad

2020

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:109:094926>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-20**

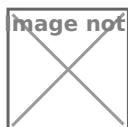


image not found or type unknown

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Matea Maglica

**UTJECAJ KONCENTRIRANJA MEMBRANSIM PROCESOM
NANOFILTRACIJE NA TVARI AROME VINA CABERNET SAUVIGNON**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2020.

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 18, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambeno inženjerstvo
Nastavni predmet: Tehnologija vina
Tema rada je prihvaćena na VIII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2019./2020. održanoj 24. lipnja 2020.
Mentor: izv. prof. dr. sc. *Anita Pichler*
Pomoć pri izradi: *Ivana Ivić*, mag. ing.

Utjecaj koncentriranja membranskim procesom nanofiltracije na tvari arome vina Cabernet Sauvignon

Matea Maglica, 0113141800

Sažetak: Aroma predstavlja jedan od najvažnijih parametara za određivanje kvalitete vina. Spojevi arome koji su odgovorni za miris vina hlapivi su pri sobnoj temperaturi. Oni nastaju i mijenjaju se kroz sve faze procesa proizvodnje vina: od zrenja grožđa do fermentacije mošta te odležavanja vina. U svrhu korekcije aromatskog profila vina vrlo često se primjenjuje postupak koncentriranja vina nanofiltracijom. Stoga, cilj ovog rada je bio ispitati utjecaj koncentriranja crnog vina Cabernet Sauvignon nanofiltracijom na aromatski profil dobivenih retentata. Postupak koncentriranja proveden je na membranskom filteru s pločastim modulom primjenom četiri različita tlaka (25, 35, 45 i 55 bara) te dva temperaturna režima (s i bez hlađenja). Rezultati su pokazali da su primijenjeni procesni parametri, tlak i temperatura, imali značajan utjecaj na zadržavanje spojeva arome u vinskih retentatima. Procesi bez hlađenja rezultirali su određenim gubitkom pojedinih aromatskih spojeva u retentatima u odnosu na početno vino i retentate dobivene koncentriranjem s primjenom hlađenja. Veće zadržavanje spojeva arome u retentatima postignuto je i primjenom višeg tlaka. Iz tog razloga, najveće zadržavanje aromatskih tvari zabilježeno je u retentatu dobivenom postupkom nanofiltracije na 55 bar uz hlađenje.

Ključne riječi: aroma, nanofiltracija, zadržavanje, tlak, temperatura

Rad sadrži: 59 stranica
14 slika
6 tablica
0 priloga
36 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

1. prof. dr. sc. <i>Mirela Kopjar</i>	Predsjednik
2. izv. prof. dr. sc. <i>Anita Pichler</i>	član-mentor
3. prof. dr. sc. <i>Nela Nedić Tiban</i>	Član
4. doc. dr. sc. <i>Ante Lončarić</i>	zamjena člana

Datum obrane: 28. rujna 2020.

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 18, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program of 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. VIII held on June 24, 2020

Mentor: *Anita Pichler*, PhD, associate prof.

Technical assistance: *Ivana Ivić*, mag. ing.

The Influence of Concentration with a Membrane Process of Nanofiltration on the Aroma Compounds of Cabernet Sauvignon Wine
Matea Maglica, 0113141800

Summary:

Wine aroma represents one of the most important quality parameter. The aroma compounds responsible for the wine odour are volatile at room temperature. They are formed and changed through all stages of the wine production process: from grape ripening to must fermentation and wine aging. In order to correct the aroma profile of wine, concentration of wine by nanofiltration could be applied. The aim of this study was to examine the influence of Cabernet Sauvignon red wine concentration by nanofiltration on the aroma profile of the obtained retentates. The concentration procedure was performed on a plate-and-frame membrane filter using four different pressures (25, 35, 45 and 55 bar) and two temperature regimes (with and without cooling). The results showed that the applied process parameters, had a significant impact on the retention of aroma compounds in wine retentates. Processes without cooling resulted in a certain loss of individual aroma compounds in the retentates comparing to the untreated wine and retentates obtained by concentration with the application of cooling. Greater retention of volatile compounds in retentates was also achieved by applying higher pressure. For this reason, the highest retention of aroma compounds was recorded in the retentate obtained by the nanofiltration process at 55 bar with cooling.

Keywords: aroma, nanofiltration, retention, pressure, temperature

Thesis contains: 59 pages
14 figures
6 tables
0 supplements
36 references

Original in: Croatian

Defense committee:

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

Defense date: September 28, 2020

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

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. GROŽĐE	4
2.1.1. Podrijetlo i botanička svojstva vinove loze	4
2.1.2. Mehanička i kemijska svojstva.....	5
2.2. VINO	6
2.2.1. Definicija i podjela vina	6
2.2.2. Kemijski sastav vina	10
2.3. PROIZVODNJA CRNIH VINA	19
2.4. MEMBRANSKI PROCESI	24
2.4.1. Vrste membranskih procesa	26
2.4.2. Vrste membrana i materijali za membrane	29
2.4.3. Vrste modula	31
2.5. Plinska kromatografija	34
2.5.1. Masena spektrometrija	36
2.5.2. SPME analize.....	36
3. EKSPERIMENTALNI DIO	38
3.1. ZADATAK	39
3.2. MATERIJAL I METODE	39
3.2.1. Priprema koncentriranog vina Cabernet Sauvignon	39
3.2.2. Analiza tvari arome.....	40
4. REZULTATI	43
4.1. Tablični prikazi analizom dobivenih rezultata	44
4.2. Grafički prikazi analizom dobivenih rezultata	47
5. RASPRAVA	50
6. ZAKLJUČCI	54
7. LITERATURA	56

1. UVOD

Vinova loza je vrlo stara kultura što dokazuju pronađeni fosilni ostaci stari oko 60 milijuna godina, a što se smatra i jednim od najvažnijih znanstvenih dokaza o postojanju vinove loze u tako dalekoj prošlosti. Najraniji pisani dokument iz vinogradarstva je Biblija (Pichler, 2017).

Vinova loza (*lat. Vitis vinifera*), iz porodice *Ampelideae* ili *Vitaceae*, jedna je od najranije kultiviranih biljnih vrsta. Osnovne dijelove grozda čine peteljka i bobica. Sastavni dijelovi bobice su kožica, meso i sjemenke. S obzirom na fiziološka, kemijska, senzorska i druga svojstva korištena je za potrošnju u svježem neprerađenom stanju te kao sirovina za proizvodnju vina, alkoholnih i bezalkoholnih pića te drugih proizvoda.

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

Cabernet Sauvignon jedna je od najpoznatijih vinskih sorti crnog grožđa, a nastaje križanjem cabernet franca i sauvignon bijelog. U hrvatska vinogorja, ponajprije u Istri, stigao je 1880. godine iz njezine domovine Francuske (Bordeaux).

Bobica Cabernet Sauvignona je mala, tamno crna i debele pokožice te u idealnim uvjetima dozrijevanja bude vrlo aromatična. Ima visok sadržaj tanina te pulpu bogatu šećerom i kiselinama što Cabernet Sauvignon čini jako zahvalnom sortom za proizvodnju različitih tipova vina.

Tijekom proizvodnje, vina se često podvrgavaju procesu koncentriranja koje je moguće provesti pomoću raznih metoda, a jedna od najčešćih su membranski procesi. Toj skupini pripada nanofiltracija koja daje brojne mogućnosti obrade mošta ili vina koje uključuju korekcije kemijskog sastava (kiselina, šećera, alkohola, arome, boje i dr.). Nanofiltracija se temelji na primjeni selektivnih membrana koje razdvajaju početnu otopinu na retentat koji zaostaje na membrani te permeat koji prolazi kroz nju. Zadržavanje pojedinih spojeva ovisi o primijenjenim procesnim parametrima kao što su tlak i temperatura.

Cilj ovoga rada je ispitati utjecaj koncentriranja postupkom nanofiltracije na tvari arome crnog vina Cabernet Sauvignon, uz primjenu četiri različita tlaka (25, 35, 45 i 55 bara) i dva temperaturna režima (s primjenom i bez primjene hlađenja).

2. TEORIJSKI DIO

2.1. GROŽĐE

2.1.1. Podrijetlo i botanička svojstva vinove loze

Vinova loza (*Vitis Vinifera*) je jedna od najstarijih kultiviranih biljnih vrsta čiji živi predak još uvijek postoji. Predak vinove loze je divlja euroazijska loza *Vitis sylvestris* koja je predstavnik roda *Vitis* na području Europe i zapadne Azije (Maletić i sur., 2008).

Prema botaničkom kodeksu loza pripada porodici *Ampelideae* ili *Vitaceae*. Biljke su iz ove porodice povijuše vitkog stabla koje traže potporanj uz koji se oslanjaju, penju i učvršćuju viticama ili pužu po zemlji. Cvijet je dvospolan ili jednospolan, skupljen u cvat - grozd.

Porodicu *Vitaceae* čini oko 11 rodova i preko 600 vrsta, od kojih je rod *Vitis* važan za vinogradarsku proizvodnju. Rod *Vitis* se dijeli na dva poroda:

- *Muscadinia*, kojem pripadaju vrste: *Vitis rotundifolia* i *Vitis munsoniana* i
- *Euvitis*, kojem pripada oko 30 američkih vrsta, 40 azijskih vrsta i jedna euroazijska vrsta *Vitis vinifera*.

Euroazijska vrsta dijeli se na:

- *Vitis vinifera* var. *Sylvestris* - europska divlja loza; karakterizira ju mali grozd, sitne bobice, većinom crne boje i
- *Vitis vinifera* var. *Sativa* - europska, domaća, kulturna loza, koju karakterizira dvospolni cvijet, krupni grozdovi i velike bobice, sočne, visoke kvalitete. Ovdje se ubrajaju mnogobrojne sorte, a računa se da na svijetu ima oko 500 sorti vinove loze (Licul i Premužić, 1997).

Sorte vinove loze za proizvodnju vina moraju pripadati vrsti *Vitis vinifera* ili križancima *Vitis vinifera* s drugim vrstama roda *Vitis* (Zakon o vinu, 32/2019).

Od američkih vrsta loze najvažnije podloge su *Vitis riparia*, *Vitis rupestris*, *Vitis berlandieri* i korištene su kao podloga za europske vinske loze. Ključno je odabrati odgovarajuću podlogu prema vrsti tla i bujnosti, jer bujnost podloge određuje bujnost i rodnost plemke.

Osim vinove loze roda *Vitis*, također postoje i hibridi vinove loze: američko-američki hibridi, europsko-američki i kompleksni hibridi, koji su dobiveni namjerno ili su nastali slučajnim oprašivanjem te su prilagodljiviji različitim klimatskim uvjetima i otporniji na bolesti kao što su filoksera, peronospora, pepelnica (Zorčić, 1996; Prce, 2014).

2.1.2. Mehanička i kemijska svojstva

Postotni udio pojedinih dijelova grozda od velike je važnosti za količinu i kvalitetu vina. Karakterističan je za svaku pojedinu sortu vinove loze te osim o sorti, ovisi još o nizu čimbenika kao što su: klimatski uvjeti, podneblje, zemljišni uvjeti (poglavito od gnojidbe i uporabe fitofarmaceutskih sredstava) te zdravstveno stanje i dozrelost.

Grozd se sastoji od peteljkovine (peteljka + peteljčica) i bobice. Peteljka predstavlja skelet grozda, a čine ju peteljka i peteljčica. Osnovni dio peteljke koji se više ili manje grana, završava s peteljčicama koje nose cvijet, a nakon oplodnje i bobicu. Udio peteljkovine u grozdu iznosi 2 do 5%, a kemijskim sastavom utječe na kakvoću konačnog proizvoda (vina). O duljini peteljčice ovisi tip grozda. Kod dugih peteljčica bobice su razmaknute jedna od druge, a grozdovi su rastresiti, dok su kod kratkih peteljčica grozdovi zbijeni. Rastresiti grozdovi su karakteristika stolnog grožđa, dok vinski kultivari imaju više zbijene grozdove. Peteljkovina služi za provođenje hranjiva do bobica te kao njihov nosač. Što je manje peteljkovine, to je veći randman grozda i obratno. Kemijskim sastavom peteljka je vrlo slična listu vinove loze. Najveći udio mineralnih tvari zauzima kalij. U moštu s peteljkovinom, ukupna količina polifenola, osobito tanina, bit će povećana i do 25% u odnosu na vina koja se dobiju preradom masulja bez peteljkovine, uz uvjet da je vrijeme maceracije oba masulja bilo jednako. U početku berbe peteljkovina je zelena i lako lomljiva te ako takva dospije u vino, ono dobiva okus na zeleno i gorko. Siromašna je šećerom te ima nisku realnu kiselost (pH iznad 4) (Zoričić, 1996).

Bobica, glavni dio grozda, se sastoji od sjemenki (3 do 5%), mesa (75 do 85%) i kožice (7 do 10%). Kožica bobice se sastoji od 6 do 10 slojeva. Kemijski sastav kožice uvelike utječe na kakvoću vina, jer sadrži tvari arome i boje te daje vinima karakterističan bouquet (okus). Kožica sadrži vodu (60 do 80%), celulozu (3 do 4%), minerale (2 do 4%), ima najviše bojila (od 1 pa čak i do 15% izraženo kao ukupni polifenoli), tvari mirisa (arome), 3 do 7% kiselina, 1 do 3% šećera i 1,5 do 5,2% dušičnih tvari. Veoma oštećena kožica tijekom prerade utječe na dobivanje veće količine taloga u moštu (Zoričić, 1996). Ovisno o sorti, bobica može sadržavati od 2 do 7 sjemenki ili biti bez njih. Sjemenka se sastoji od masne jezgre koju okružuje drvena ljuska obavijena taninskom kutikulom. Kao i kod kožice, tako i kod sjemenke, najveći udio čini voda 25 do 50%, šećeri 30 do 35%, ulje 12 do 20%, koje biljka sprema kao rezervnu hranu u klici, dok

tanina (3 do 6%) i minerala (2 do 5%) ima znatno manje. Kao i za peteljke, tako i za sjemenke važi pravilo da se pri proizvodnji vina primjenjuju strojevi koji neće trgati i gnječiti peteljke i sjemenke. Oštećenjem sjemenki tijekom vrenja, započinje ekstrakcija tanina, a rezultat su opora i gorka vina (Zoričić, 1996).

Meso bobice čini 75 do 85% težine bobice. Zbog velikih stanica s finom celulozno-pektinskom membranom, unutrašnjost mu je ispunjena tekućom fazom tj. moštom. Na membranu stanice otpada 0,3 do 0,5% mase, ostalo je čisti mošt (sok). Prema razlikama u količini sastojaka, postoje više ili manje sočne sorte, tj. gustoća ovisi o sadržaju šećera, a najveća je kod prezrelog grožđa. Meso bobice razlikuje se po strukturi i sastavu, te se može podijeliti u 3 zone:

- središnja zona, najbliža sjemenki,
- periferna zona, blizu koštice i
- međuzona, najbogatiju šećerima i vinskom kiselinom.

Kemijski sastav mesa: voda 75 do 80%, šećer 10 do 25%, kiselina (organska) 0,5 do 1%, mineralne tvari 0,3 do 1%, celuloza 0,6%, 0,1 do 0,4% tanina (Zoričić, 1996., Prce, 2014).

2.2. VINO

2.2.1. Definicija i podjela vina

Prema Zakonu o vinu (NN 32/19), vino je poljoprivredni prehrambeni proizvod dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta, od svježeg i za preradu u vino pogodnog grožđa. Groždem se u smislu ovoga Zakona podrazumijeva zdrav, zreo, prezreo, prosušen ili prirodno smrznut plod vinove loze priznatih kultivara namijenjen proizvodnji vina ili drugih proizvoda od grožđa i vina, a čiji sok sadrži minimalnu količinu šećera od 64 °Oechsle.

Podjela vina prema Zakonu o vinu (NN 32/19)

Vina u užem smislu riječi:

- mirna vina - po sadržaju neprevrelog šećera: suha, polusuha, slatka, poluslatka;
- pjenušava vina - po sadržaju neprevrelog šećera: vrlo suha, suha, polusuha, slatka, poluslatka;
- biser vina - po sadržaju neprevrelog šećera: vrlo suha, suha, polusuha, slatka, poluslatka i

- gazirana vina - po sadržaju neprevrelog šećera: vrlo suha, suha, polusuha, slatka, poluslatka.

Specijalna vina:

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

Pema boji vina:

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

U kvalitetne kategorije vina se razvrstavaju ovisno o kakvoći prerađenoga grožđa, prirodu po hektaru, stupnju zrelosti grožđa, prerade i njege, randmanu, količini prirodnog alkohola i drugih sastojaka te organoleptičkim (senzorskim) svojstvima.

Prema razlici vina u kakvoći:

1) stolna vina

- stolna vina bez oznake zemljopisnog podrijetla i
- stolna vina s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom.

2) kvalitetna vina

- kvalitetna vina s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom.

3) vrhunska vina

- vrhunska vina s kontroliranih i ograničenih vinorodnih područja,
- vrhunska vina s kontroliranih i ograničenih specifičnih vinorodnih područja,
- predikatna vina s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom i
- kvalitetna i vrhunska vina koja su u podrumskim uvjetima čuvana pet ili više godina, od toga najmanje tri godine u boci, mogu nositi oznaku „arhivsko vino“.

Sorte grožđa za proizvodnju vina

Klasifikacija sorti vinove loze ovisi o:

- morfološkim obilježjima - boja, oblik, veličina bobice, oblik grozda i lista,
- fiziološkim obilježjima - vrijeme dozrijevanja,
- gospodarskim obilježjima i
- geografskom podrijetlu - sorte iz zapadne Europe, crnomorskog bazena, Azije i istočnih zemalja.

Klasifikacija prema fiziološkim obilježjima:

- vrlo rane sorte,
- rane sorte,
- srednje kasne sorte,
- kasne sorte i
- vrlo kasne sorte.

Klasifikacija prema gospodarskim obilježjima

Prema namjeni dijele se na:

- vinske sorte,
- stolne sorte,
- sorte za sušenje i
- sorte za ostale namjene (proizvodnja destilata, sok).

Vinske sorte

- visokokvalitetne sorte za proizvodnju vrhunskih vina,
- kvalitetne sorte za proizvodnju kvalitetnih vina na izuzetnim položajima i
- sorte niske kakvoće za proizvodnju stolnih vina.

Podjela vinskih sorti

- preporučene sorte, od kojih se preradom dobivaju vrhunska i kvalitetna vina s oznakom kontroliranog podrijetla,

- dopuštene sorte, koje se ne ističu u proizvodnji vina, ali ni ne narušavaju njegovu kvalitetu, već ga u određenim agroekološkim uvjetima dopunjuju i
- privremeno dopuštene sorte, zatečene u pojedinim vinogorjima na dan stupanja na snagu Pravilnika, a zbog svojih organoleptičkih i gospodarskih svojstava nisu predviđene Pravilnikom te im je uzgoj dopušten samo do njihovog biološkog iskorištenja.

Najvažnije vinske sorte u Hrvatskoj

Kontinentalna Hrvatska

Bijela vina:

- Graševina bijela,
- Rizling Rajnski bijeli,
- Chardonnay bijeli,
- Traminac mirisavi,
- Traminac crveni,
- Pinot bijeli,
- Pinot sivi i
- Sauvignon bijeli.

Crna vina:

- Frankovka crna,
- Cabernet Sauvignon crni,
- Portugizac crni,
- Pinot crni,
- Zweigelt i
- Merlot crni.

Primorska Hrvatska

Bijela vina:

- Malvazija Istarska bijela,
- Pošip bijeli,
- Grk bijeli,
- Maraština bijela,
- Žilavka bijela,
- Kujundžuša bijela i
- Žlahtina bijela.

Crna vina:

- Plavac Mali,
- Babić crni,
- Merlot crni,
- Teran crni,
- Cabernet Sauvignon crni,
- Plavina crna i
- Crljenak.

2.2.2. Kemijski sastav vina

Kemijski sastav vina vrlo je raznolik budući da ima velik broj komponenti koje prema kemijskoj građi pripadaju različitim grupama spojeva. Zakon o vinu određuje granične vrijednosti pojedinih sastojaka te njihove odnose, a rezultati dobiveni kemijskim analizama moraju biti u skladu s istima (Zakon o vinu, 32/2019.).

2.2.2.1. Tvari arome

Grožđe kao plod vinove loze sadrži u sebi aromatične, buketne tvari, stoga se aroma vina često naziva bouquet. Tvari arome najzastupljenije su u kožici bobice, a kod nekih sorata i u lišću, dok su manje zastupljene u mesu i sjemenkama. Aroma vina je kompleksna i formira se tijekom

zrenja, složenim kemijskim, biokemijskim i mikrobiloškim procesima te ovisi o sorti vinove loze, zrelosti grožđa, načinu uzgoja, klimi, sastavu tla, primjeni agrotehničkih mjera uzgoja i samoj tehnologiji proizvodnje vina. Aromu vina čine različiti hlapivi sastojci prisutni u malim koncentracijama (od nekoliko mg/L do nekoliko ng/L), a to su hlapive karboksilne kiseline, alkoholi, esteri, aldehidi, ketoni, eterična ulja, više masne kiseline, terpeni te tvari slične smolama i voskovima.

Aromatične tvari koje sadrže eterična ulja u kombinaciji s esterima prelaskom u vino daju svojstven miris, nazvan primarnom aromom. Jačina primarne arome ovisi o stanju zrelosti, zdravstvenom stanju grožđa te utjecaju klime tla i položaja vinograda.

Najvažniji hlapivi spojevi primarne arome grožđa, koji su nositelji sorte arome, su monoterpeni (geraniol, linalol, nerol, α -terpineol, citronelol i hotrineol). Mogu biti slobodni u hlapivom obliku ili vezani za šećere – glikozidi. Zaslužni su za voćne i cvjetne mirise pojedinih sorti grožđa. Sekundarna aroma razvija se tijekom obrade grožđa. Također, postoji aroma fermentacije kao produkt alkoholne fermentacije, te aroma starenja nastala dozrijevanjem i starenjem vina i kao nusprodukt reakcije vina i drveta. Tvari arome se određuju instrumentalnim metodama: tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC), plinska kromatografija (GC), analitičkim metodama te senzorskim ocjenjivanjem (Prce, 2014., Vrdoljak, 2009).

2.2.2.2. Alkoholi

U vinu je prisutan velik broj alkohola, no dvije su osnovne skupine: alifatski i aromatski. Alifatski mogu biti monovalentni (najzastupljeniji metanol i etanol) i viševalentni. Dopusćeni udio alkohola u vinu kreće se od minimalno 8,5 vol.%, što je odlika stolnih vina, pa sve do maksimalnih 15 vol.%, koje karakterizira vrhunska i kvalitetna vina.

Etilni alkohol ili etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) je glavni proizvod alkoholne fermentacije te je drugi po količini zastupljeni spoj nakon vode. Nastaje alkoholnom fermentacijom prirodnih šećera, a koliko će ga nastati ovisi o količini prisutnog šećera u grožđu i moštu. Ako je nužno, prilikom popravljivanja mošta, u nekim slučajevima dodaje se i saharoza. Prema Zakonu o vinu (NN 32/2019) najniži sadržaj stvarnog alkohola u vinu koje se plasira u promet, ovisno od kakvoće i

zone proizvodnje kreće se kod stolnih vina, od 8.5 vol.% do 15 vol.% kod kvalitetnih i vrhunskih vina (Vrdoljak, 2009).

Metilni alkohol ili metanol (CH₃OH) za razliku od etanola, nije produkt fermentacije, već je nusprodukt. Nastaje hidrolizom pektinskih spojeva (polimeri galakturonske kiseline), prisutnih u čvrstim dijelovima grožđa (sjemenka, peteljkovina), posredstvom enzima pektinesteraze. Sorte grožđa bogatije pektinom daju vina s višim udjelom metanola. U crnim vinima sadržano je najviše metanola, čak 152 mg/L, rose vina imaju oko 91 mg/L, dok najmanje imaju bijela vina, 63 mg/L, a što je posljedica kontakta tekuće faze s krutom (trop) za vrijeme maceracije masulja. Metanol je toksičan za centralni živčani sustav te oksidacijom prelazi u formaldehid i mravlju kiselinu. Vino plemenitih sorti grožđa nemaju metanola preko kritičnog sadržaja od 350 mg/kg, za razliku od hibridnih sorti grožđa koja sadrže visoki udio metanola pa su toksična te nije dopuštena njihova proizvodnja (Horvat, 2010; Zoričić, 1996).

Viši alkoholi nastaju u procesu vrenja, a najveći dio nastaje iz aminokiselina, njihovom izmjenom (dezaminacija, dekarboksilacija) pomoću kvasaca ili razgradnjom šećera, ovisno o vrsti i sastavu mošta te načinu proticanja vrenja.

Najzastupljeniji su izoamilni, amilni i izobutilni alkohol, koji čine 90% ukupnih viših alkohola, te u minimalnim količinama, ali dajući posebnu aromu, propilni, heksilni, heptilni alkohol i njihovi izomeri. Ovi alkoholi s kiselinama daju estere koji poboljšavaju kakvoću vina. Koncentracija im ovisi o sorti grožđa, vrsti kvasca te uvjetima prerade. Bijela vina sadrže 200 do 400 mg/L viših alkohola, dok crna sadrže 280 do 480 mg/L. Pored gore navedenih viših alkohola, jedan od najzastupljenijih aromatskih alkohola prisutnih u vinu je fenetil alkohol koji utječe na bouquet vina te glicerol koji utječe na okus vina, daje osjećaj punoće i blagosti i pojačava slatkoću vina (Horvat, 2010; Prce, 2014; Vrdoljak, 2009; Zoričić, 1996).

2.2.2.3. Kiseline

Prema Zakonu o vinu (NN, 32/2019), u njemu mora biti najmanje 4,5 g/L, a najviše 14 g/L ukupnih kiselina izraženih kao vinska kiselina. Nakon šećera, organske kiseline su najvažniji sastojak mošta. Kiselost uzrokuju kiseline i njihove kisele soli, slobodne ili djelomično vezane, a nastaju nepotpunom oksidacijom šećera u bobicama grožđa te tako preko mošta prelaze u vino.

Kiseline u vinu se dijele na organske (hlapive i nehlapive), anorganske i soli različitih kiselina. Najzastupljenije kiseline koje prelaze iz grožđa u vino su: vinska, jabučna, limunska, jantarna i oksalna. Vinske kiseline, uz jabučnu, u moštu ima u najvećem udjelu (Zoričić, 1996).

Organske kiseline u vinu su vrlo važne za organoleptička svojstva vina te za fizikalno-kemijsku i mikrobiološku ispravnost vina (Horvat, 2010). Mogu biti:

- podrijetlom iz grožđa odnosno mošta - vinska, jabučna, limunska, askorbinska, oksalna, glikolna, glukonska;
- nastale alkoholnom fermentacijom - piruvična, mliječna, octena, sukcinna (antimikrobno djelovanje, pojačanje arome), oksalna i fumarna kiselina (aseptičko antimikrobno djelovanje);
- mliječna kiselina nastala malolaktičnom fermentacijom iz jabučne kiseline i
- kiseline nastale razvojem sive plijesni na grožđu.

Hlapive organske kiseline čine grupu masnih kiselina prisutnih u vinu, a koje pod određenim uvjetima mogu ispariti. Nastaju metabolizmom kvasaca i octeno kiselim vrenjem. Količina nastale kiseline ovisi o soju kvasca pa tako selekcionirani kvasci produciraju manje hlapive kiseline. Također ovisi o temperaturi fermentacije, pa tako pri nižim temperaturama nastaju manje hlapive kiseline. Najvažnija hlapiva organska kiselina je octena kiselina, koncentracije u vinu od 0,3 do 0,6 g/L. Nastaje kao sekundarni proizvod alkoholnog vrenja iz acetaldehida ili nakon alkoholnog vrenja tijekom čuvanja vina, oksidacijom etanola. U većim količinama ova kiselina nastaje kao rezultat kvarenja, čiji su izazivači bakterije (octikavost, zavrelica, vinski cvijet i dr.), dok u koncentraciji do 0,3 g/L nema štetno djelovanje, štoviše, pozitivno utječe na okus vina (Pichler, 2016).

Nehlapive organske kiseline su: jabučna, maslačna, vinska, jantarna, limunska, dioksimaleinska i pirogroždana. Vinska kiselina ključna je kiselina u vinu, koncentracije 0,5 do 5,5 g/L, a u moštu 1 do 8 g/L. Glavni je pokazatelj kiselosti vina, a o njezinoj prisutnosti ovisi pH vina. Jednim dijelom se ova kiselina istaloži u obliku soli (primarni kalijev tartarat i sekundarni kalcijev tartarat). Sastavni je dio zelenih dijelova vinove loze.

Koncentracija jabučne kiseline opada dozrijevanjem grožđa, a posljedično je povezano s temperaturom zraka. Veća koncentracije ove kiseline daje zeljasti, neharmonični okus vina. Mliječno-kiselim vrenjem pretvara se u manje kiselu, mliječnu kiselinu (Prce, 2014).

Mliječna kiselina je blaga, ugodna kiselina koja utječe na organoleptička svojstva vina. Zbog nje je vino blago kiselkasto do kiselo, u usporedbi s onim u kojem je zaostala jabučna kiselina.

Jantarna kiselina sekundarni je produkt alkoholne fermentacije iz acetaldehida. Nalazi se u vinu u vrlo malim količinama, a daje mu gorčinu.

Limunska kiselina se nalazi u vrlo mali količinama u vinu, a nastaje previranjem šećera djelovanjem plijesni ili postupkom dokiseljavanja (Vrdoljak, 2009).

Anorganske kiseline prisutne u vinu najčešće se javljaju u obliku kalijevih i kalcijevih soli, a najvažnije su sumporna i fosforna (Horvat, 2010).

2.2.2.4. Aldehidi i ketoni

Aldehidi i ketoni reaktivni su spojevi koji vezivanjem sumporaste kiseline i njenih soli tvore lako topljive kiseline. Vrlo su značajni jer tvore karakterističnu aromu i bouquet vina te time i organoleptička svojstva vina.

Aldehidi u čistom obliku daju oštar miris koji se uspoređuje s voćem. Najintenzivniji miris daje heptanal. Alkoholnim vrenjem nastaju novi aldehidi, uglavnom acetaldehid na koji otpada 90%. Alifatskih aldehida u vinu ima vrlo malo, od kojih je najzastupljeniji spomenuti acetaldehid, a oni daju ugodan voćni miris. Acetaldehid je međuproizvod koji nastaje pri razgradnji šećera alkoholnim vrenjem te prelazi u etilni alkohol. Količina acetaldehida povezana je s koncentracijom SO₂ dodanog u mošt, pa se tako količina acetaldehida u nesumporenom vinu kreće od 15 do 390 mg/L, dok u sumporenom ona iznosi 100 do 150 mg/L. Acetaldehid ima specifičan miris te se u slobodnom stanju on prenosi na vino, dok veća količina ovog spoja daje vinu miris na oksidiranost, starost. Furfural u vinu nastaje zagrijavanjem, a najviše nastaje destilacijom vina (Vrdoljak, 2009; Zoričić, 1996).

Ketoni su u vinu znatno manje zastupljeni. Najzastupljeniji je aceton, slijede ga acetoin i diacetil. Većina ketona ima miris svježeg maslaca, što u većim količinama uzrokuje neugodnu užeglu aromu (Vrdoljak, 2009).

2.2.2.5. Esteri

Spojevi koji nastaju reakcijom između alkohola i kiselina, esterifikacijom. Udio estera se povećava za vrijeme fermentacije i odležavanja vina, pa ih tako najmanje ima u grožđu. Razlikuju se kiseli i neutralni esteri. Kiseli esteri nastaju esterifikacijom za vrijeme čuvanja i starenja vina te imaju voćni miris. Neutralni esteri nastaju u tijeku alkoholnog vrenja radom kvasaca, stoga se nazivaju i fiziološkim, a mogu nastati i prilikom kvarenja vina. Vino sadrži estere octene, mliječne i jantarne kiseline koje se i najjače esterificiraju. Esteri kiselina i viših alkohola daju bouquet vinima. Svježinu i ugodan miris vinu daju esteri octene kiseline: etil acetat, propil acetat, izopropil acetat, izobutil acetat i izoamil acetat. Etil acetat u većim koncentracijama crnim vinima daje trpki i opori okus. Esteri masnih kiselina s parnim brojem ugljikovih atoma (posebice C6 i C8), imaju ugodan voćni miris, kao što su: etil propionat, etil valerijat, etil heksanoat, etil oktanoat i etil dekanoat (Vrdoljak, 2009; Prce, 2014).

2.2.2.6. Ugljikohidrati

Šećer je osnovni sastojak grožđa te se na osnovu njega i kiselina određuje tehnološka vrijednost grožđa. Udio šećera u grožđu i moštu ovisan je o sorti, okolišnim i vremenskim uvjetima. Visokokvalitetne sorte mogu sadržavati 22 do 28% šećera, dok se kod kvalitetnih sorti količina šećera kreće od 18 do 22%. Kvasci brže i lakše pretvaraju glukozu nego fruktozu do etanola, CO₂ i drugih spojeva (Vrdoljak, 2009). Prirodni ugljikohidrati postoje u raznim oblicima, većina je u obliku oligosaharida ili polisaharida (polimera), dok je kemijski sastav svih ugljikohidrata isti.

Od monosaharida u grožđu, moštu i vinu većinom su prisutne heksoze, D-glukoza i D-fruktoza, te manjim dijelom pentoze, L-arabinoza i D-ksiloza. Na početku dozrijevanja najviše je glukoze, a zrenjem dolazi do rasta udjela fruktoze u odnosu na glukozu. U punoj zrelosti odnos fruktoze i glukoze je podjednak, jedino je kod prezrelog grožđa fruktoza nešto viša. Ukupna koncentracija glukoze i fruktoze u zrelom grožđu iznosi od 150 do 250 g/L, tj. u prosjeku 13 do 25% (Ribereau-Gayon i sur., 2006).

Od oligosaharida u grožđu prisutni su saharoza, maltoza, laktoza, melibioza, rafinoza i trehaloza, ali je saharoza najvažniji oligosaharid, dok su ostali prisutni samo u tragovima i nemaju utjecaj na kakvoću vina.

Od visokomolekularnih polisaharida u grožđu prisutni su pentozani, pektini, škrob, glikogen, smole i sluzave tvari, a većina njih otežava taloženje i bistrenje vina.

Određivanje šećera u grožđu i moštu provodi se moštnim vagama (Oechslova i Baboova ili Klosterneuburška), te refraktometrom (Horvat, 2010; Zoričić, 1996).

2.2.2.7. Enzimi

Organski biokatalizatori, enzimi, u moštu i vinu imaju ulogu pokretača kemijskih reakcija tijekom vinifikacije, taloženja i bistrenja vina tijekom odležavanja, starenja i njege vina te u razvoju sekundarnog bouquet-a. Saharaza hidrolizira saharozu na glukozu i fruktozu. Tanaza u vino dopijeva iz plijesni trulog grožđa, a katalizira tvorbu taninskih tvari. Katalaza ubrzava oslobađanje kisika, vodikovog peroksida i ostalih peroksidnih spojeva te time ne dolazi do toksičnog djelovanja ovih spojeva. Pektinaza je karakterističan za bistrenje vina, a hidrolizira pektinske tvari na metanol i poligalakturonsku kiselinu (Vrdoljak, 2009).

2.2.2.8. Fenolni spojevi

Fenolni spojevi su široka i složena grupa spojeva, odgovorni za razlike između bijelih i crnih vina. Posebno su važni za svojstva i kakvoću crnih vina, dok su u bijelim vinima prisutni u znatno nižim koncentracijama. Imaju baktericidna, antioksidativna i vitaminska svojstva. Ovisno o načinu prerade grožđa, u moštu su fenoli prisutni iz kože, sjemenke i soka grožđa kao i peteljke. Ukupno fenola u grožđu ima više nego u vinu. Tradicionalnim postupcima vinifikacije ekstrahira se najviše 60% fenola od ukupno prisutnih u grožđu. Grožđe i mošt sadrže dvije osnovne grupe polifenola: flavonoide i neflavonoide. Flavonoidi primarno potječu iz kože, flavonoli, antocijani i flavan-3-oli iz sjemenke i peteljke grožđa. Neflavonoidni spojevi su dio mesa bobice grožđa, a pripadaju im derivati hidroksicimne kiseline, hidroksibenzojeve kiseline i stilbeni. Crno grožđe sadrži oko 5500 mg/L ukupnih fenola, izraženo kao galna kiselina. Njihova koncentracija u grožđu značajno varira, što ovisi o kultivaru te klimatskim i agrotehničkim uvjetima, a najviše ih se nalazi u sjemenci (46 do 69%), u koži oko 50%, u soku 5% i u mesu bobice 1%. Povećanje sadržaja fenola ovisno je o rastu bobice, dok prezrelo i presušeno grožđe sadrži manje fenola. Dozrijevanjem grožđa dolazi do polimerizacije fenola, čime nastaju okusom mekši i manje trpki

fenoli. Sastav fenolnih spojeva je bitan faktor u određivanju vremena berbe crnog grožđa (Moreno i Peinado, 2012).

2.2.2.9. Mineralne tvari

Anorganske tvari zaostale isparavanjem vode te potpunim spaljivanjem suhe tvari vina čine pepeo. Mineralne tvari u sirovinu dopijevaju iz zemljišta te su njihov sastavni dio, dok manji dio dolazi u vino preradom grožđa i njegovom vina. Sadržaj mineralnih materijala u moštu kreće se od 2 do 5 g/L, dok je u moštu crnih sorti i veći, budući da se tijekom fermentacije masulja ekstrahira i veća količina mineralnih tvari iz čvrstih dijelova grozda. Ovisi o sorti i boji vinove loze, kakvoći i zrelosti grožđa, sastavu tla, mikro- i makroklimatskim uvjetima te tehnologiji prerade grožđa u vino. Pepeo u vinu sastoji se od kalijevih, kalcijevih i magnezijevih soli sumporne, karbonatne i fosfatne kiseline, te od tragova bakra, fluora, mangana, željeza i drugih elemenata. Veća količina mikroelemenata (Fe, Mn, Zn, Co, Ni) rezultira boljom aromom i boljim bouquetom vina te jače izraženim sortnim karakteristikama grožđa (Vrdoljak, 2009).

2.2.2.10. Ekstrakt vina

Ukupni suhi ekstrakt ili ukupna suha tvar vina čini skup svih organskih i mineralnih tvari sadržanih u vinu, nehlapivih pod specifičnim fizikalnim uvjetima. Ekstraktu pripadaju ugljikohidrati, nehlapive kiseline (vinska, mliječna, jabučna), mineralne tvari, glicerol, butilen, glikol, tanini i tvari boje (Vrdoljak, 2009). Sadržaj ekstrakta ovisi o klimatskim uvjetima, vrsti tla, položaju vinograda, tehnologiji prerade, duljini maceracije prije fermentacije, jačini prešanja, vrsti kvasca te mnogim drugim čimbenicima (Prce, 2014). Crna vina zbog većeg sadržaja tanina, sadrže više ekstrakta (25 do 30 g/L) od bijelih vina (do 25 g/L). Uslijed toga, kvalitetne i vrhunske sorte sadrže veću količinu ekstrakta od stolnih sorti. Ekstrakt u vinu podijeljen je na:

- ukupni suhi ekstrakt – sastojci vina nehlapivi pod specifičnim fizikalnim uvjetima
- reducirajući ekstrakt - dobije se kada se od ukupnog suhog ekstrakta oduzme sadržaj ukupnih šećera umanjen za 1 g ako je sadržaj šećera preko 1 g/L.
- nereducirani ekstrakt bez šećera - dobije se kada se od ukupnog suhog ekstrakta oduzme sadržaj ukupnih šećera u vinu.

Teška vina imaju mali sadržaj alkohola, a visoki sadržaj ekstrakta. Blaga vina imaju srednji sadržaj ekstrakta, a i srednje su jaka. Mekani okus karakteristika je vina s većim sadržajem glicerola. Prazna ili vodena vina su alkoholno i ekstraktno siromašna (Zoričić, 1996).

2.2.2.11. Dušične tvari

Dušične tvari u vino prelaze iz grožđa. Količina u grožđu, moštu i vinu ovisi o sorti vinove loze, stupnju zrelosti, zdravstvenom stanju grožđa (zdravije grožđe sadrži više dušičnih spojeva), bogatstvu tla dušičnim spojevima, gnojidbi, načinu prešanja (samotok sadrži manje dušičnih tvari od prešavine). Najveći sadržaj dušičnih tvari nalazi se u površinskim dijelovima bobice te u sjemenkama. Ako se u vinu nalaze u malim količinama, dušične tvari svejedno imaju utjecaja na boju, aromu, bistroću i postojanost vina. Po prirodi su pozitivno nabijeni koloidi, stoga utječu na stabilnost, jer uzrokuju zamućenje vina ukoliko su prisutne u većim količinama. Dušični spojevi su u moštu i vinu prisutni kao organski i anorganski spojevi. Mikroorganizmi u moštu upotrebljavaju dušične tvari na način da ih ugrađuju u svoje stanice tijekom rasta. Vino sadrži manje dušika što je posljedica ugradnje aminokiselinskog dušika u stanice kvasaca za fermentaciju. Mošt nastao kontinuiranim prešanjem sadrži manje ukupnog dušika jer se proteini vežu i talože s taninskim tvarima (Vrdoljak, 2009; Zoričić, 1996).

2.2.2.12. Koloidi vina

Koloidi su sluzave tvari vina, po prirodi proteini i pektinske tvari, veličine čestica od 1–100 μm . Imaju vrlo nepovoljan učinak na organoleptička svojstva vina, jer uzrokuju povećanje viskoznosti, zamućenje, opalesciranje (poluprovodnost) i pojavu kataforeze (posjedovanje istovrsnog naboja). Razlikuju se liofilne i liofobne koloidne tvari. Liofilni koloidi povećavaju kiselost vinima zbog sposobnosti vezivanja vode. Liofobni koloidi uglavnom sadrže kompleksne spojeve bakra, željeza i fosfora te imaju povećanu osjetljivost na elektrolite, stoga već pri malim promjenama pH dolazi do njihove koagulacije (Vrdoljak, 2009).

2.2.2.13. Proteini

Proteini, makromolekule građene od aminokiselina, u vinu sudjeluju s 10% u odnosu na ukupni dušik te se ponašaju kao koloidi s pozitivnim električnim nabojem. Vrlo su nestabilni spojevi, talože se s taninima te uzrokuju mutnoću vina. U vinu potječu iz grožđa te odumiranjem kvasaca prelaze u vino. Koagulirani proteini u bijelom vinu su nestabilni i u povećanim količinama te se spontano sporije talože, nego oni u crnim vinima. Količina koaguliranih proteina u crnim vinima manji je problem jer se oni talože s taninima, a to za posljedicu ima brže i lakše taloženje. Naime, udio tanina u crnim vinima je veći u odnosu na bijela vina. Bistrenje vina se može ubrzati dodatkom određenih bistrila poput bentonita (Vrdoljak, 2009).

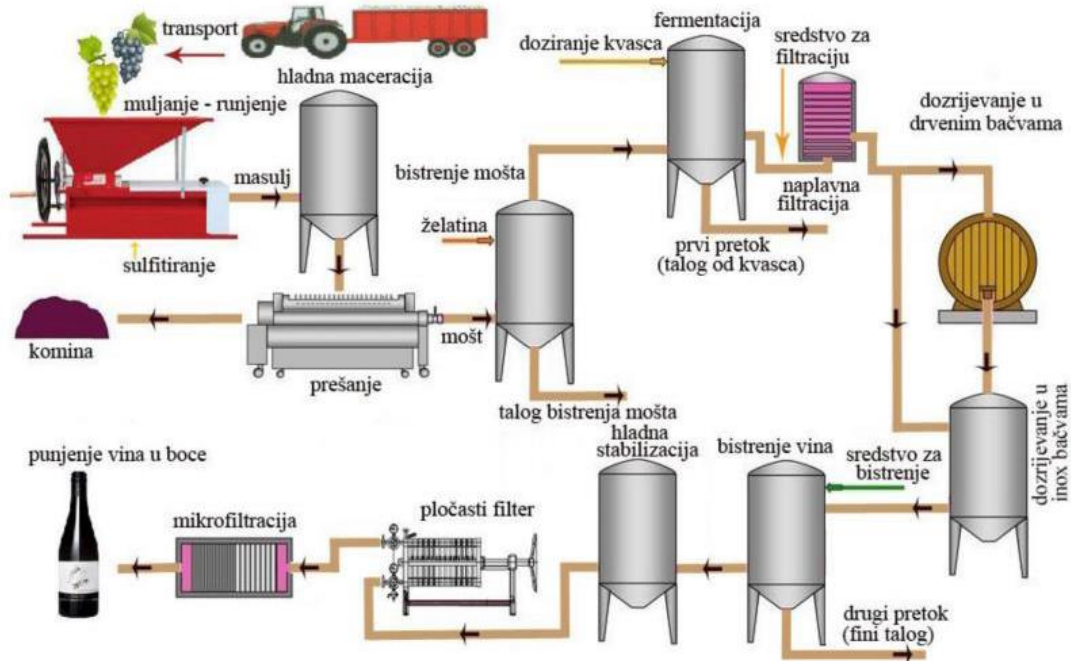
2.3. PROIZVODNJA CRNIH VINA

Enologija, znanstvena disciplina koja se bavi tehnologijom proizvodnje vina, proučava kemijski sastav vina, proizvodnju i čuvanje kakvoće vina s ciljem poboljšanja iskorištenja sirovine te načina dobivanja vina konstantne kakvoće (Prce, 2014).

Crna vina produkt su paralelnog postupka maceracije i alkoholne fermentacije mošta. U vinarskoj praksi najčešće se primjenjuje klasična vinifikacija (**Slika 1**), ali postoje i drugi načini dobivanja crnog vina, npr. termovinifikacija i karbonska maceracija.

Faze vinifikacije crnih vina:

- muljanje – runjanje grožđa i punjenje posuda,
- sumporenje (sulfitiranje) masulja,
- maceracija i alkoholna fermentacija,
- odvajanje mošta od taloga ocjeđivanjem i prešanjem te
- završna alkoholna i eventualno malolaktična fermentacija (Kontrec, 2017).



Slika 1 Vinifikacija crnih vina (web 1)

Prvi postupak u preradi grožđa je muljanje. To je odvajanje bobica od peteljkovine, a njihovo razdvajanje naziva se ruljanje, koje se vrši jer peteljka sadrži tanine koji daju trpak i gorak okus vinu te utječu na kvalitetu mošta. Muljanje ima za cilj zgnječiti grožđe kako bi se lakše odvojila tekuća od krute faze. Masulj, odnosno zgnječeno grožđe, sadrži krutu fazu (sjemenke, meso i pokožicu) i tekuću fazu (groždani sok). Povećanjem temperatura tijekom vrenja i stvaranja alkohola dolazi do raspadanja stanica kože iz kojih tvari boje prelaze u mošt. Zajedno s tvarima boje otapaju se i drugi sastojci kože (mineralne tvari, pektini, tanini, dušične tvari).

Masulj se nakon toga sumpori na 1h s 10 – 15 g K–metabisulfita ili s 100 – 150 ml 5% otopine SO₂ u vodi. Količina i vrijeme sumporenja ovisi o mnogim čimbenicima kao što su: zdravstveno stanje grožđa (trulo grožđe se sumpori više), zrelost grožđa (manje kiseline, više sumpora), vrijeme u trenutku berbe (više se sumpori po toplom vremenu), otečenost grožđa u razdoblju od berbe do prerade, trajanje i način stiskanja, temperatura mošta. Uloga sumpora je sprječavanje djelovanja oksidacijskih enzima (zaštita tvari boje od oksidacije koja boji mošt u tamnu boju), reduciranje rada i razmnožavanje štetnih mikroorganizama (divljih kvasaca i bakterija) dok ne počne fermentacija s poželjnim plemenitim kvascima te ubrzavanje taloženja

mošta, odnosno svih nečistoća. Sumporni dioksid ima višestruko djelovanje, kao antiseptik utječe na rad cjelokupne mikroflore mošta i vina, dok se kao antioksidans veže za fenolne tvari i sprječava njihovu oksidaciju. Vezivanje sumpornog dioksida ovisno je o temperaturi mošta odnosno vina te o količini ukupnih kiselina, pH i stupnju oksidacije. Također, bitna uloga sumporenja je selekcija kvasaca, postaju otporniji i bolji te obavljaju vrenje do završetka (Vrdoljak, 2009; Jakobi, 2015).

U suvremenoj tehnologiji kvalitetnih crnih vina, masulju se dodaju pektolitički enzimi koji razgrađuju pektin u kožici bobica u kojima se nalaze bojane tvari te se na taj način bojane tvari u potpunosti ekstrahiraju.

Nakon sumporenja, masulju se dodaje selekcionirani kvasac, uslijed čega slijedi vrenje mošta ili alkoholna fermentacija, jednu od osnovnih faza u procesu proizvodnje vina. Stvaranje vina započinje vrenjem mošta. Fermentacija uvelike ovisi o temperaturi, pa tako pri onoj od 25 °C fermentacija započinje nakon 12 sati, kod 17 do 18 °C nakon 24 sata, a kod 15 °C fermentacija započinje tek nakon pet do šest dana, dok kod 10 °C gotovo da i ne kreće. Mošt od grožđa koje ima višu temperaturu je bogatiji šećerima, što olakšava i ubrzava samu fermentaciju, dok nasuprot prevelika koncentracija šećera može otežati fermentaciju. Za intenzitet ekstrakcije pojedinih tvari tijekom maceracije, odnosno za ukupnu kvalitetu vina, temperatura fermentacije također je od temeljne važnosti, stoga se vinifikacija mladih, voćnih vina, namijenjenih brzom potrošnji, odvija na nešto nižim temperaturama (do 25 °C), dok se kod vina namijenjenih dužem čuvanju i odležavanju, maceracijom nastoji provesti što bolja ekstrakcija svih fenolnih komponenti, pa je preporučljiva viša temperatura (25-28 °C) pa čak i iznad 30 °C. Uz temperaturu, niska ukupna kiselost povećava opasnost od kontaminacije bakterijama i zahtijeva bolju pažnju i veću zaštitu masulja (Kontrec, 2017). Alkoholna fermentacija je prirodno zaštićen proces, koji provode nativni ili prirodni kvasci (spontana fermentacija), koji se pojavljuju na vinovoj lozi na početku zrenja ili ju provode selekcionirani vinski kvasci (dobiveni umjetnim putem). Provodi se u dvije odvojene faze: glavno (burno) vrenje i naknadno (tiho) vrenje. Glavno vrenje može biti toplo i odvija se na temperaturama od 15 do 18 °C (maksimalno 20 °C) u trajanju od 5 do 10 dana te hladno vrenje koje se odvija na 10 do 15 °C u trajanju od 7 do 14 dana. Naknadno (tiho) vrenje odvija se na minimalnoj temperaturi od 15 °C u trajanju od 3 do 6

tjedana. Suвременa tehnologija preporuča hladno vrenje, jer je pri visokim temperaturama vrenje burno i CO₂ naglo izlazi te odnosi aromatične tvari i alkohol. Kraj vrenja označava prijelaz mošta u mlado vino (Prce, 2014).

Crna vina dobivena maceracijom odlikuju se specifičnim karakteristikama (vizualnim, mirisnim i okusnim) koje ih čine različitima od bijelih vina. Maceracija je postupak ekstrahiranja pojedinih sastojaka iz čvrstih dijelova grožđa. Uz aromatske, dušične i mineralne tvari, polisaharide (pektine), zaslužna je za nakupljanje fenolnih tvari (antocijana i tanina) koji generalno čine boju i strukturu vina. Tijekom maceracije intenzitet obojenja se povećava prvih 8 do 10 dana, potom opada. Klasična maceracija odvija se istovremeno s alkoholnom fermentacijom, što pospješuje razgradnju stanične stijenke pokožice te dolazi do boljeg izdvajanja boje (Vrdoljak, 2009). Uz klasičnu maceraciju razlikuju se još i: karbonska, maceracija zagrijavanjem, flash ekspanzija i delestage (oksidacijom). Odabir optimalne duljine maceracije ovisan je o tipu vina koje se želi proizvesti, karakteristikama (intenzitet taničnosti i harmonija strukture nisu kompatibilni), kvaliteti primarne sirovine te uvjetima tijekom maceracije (fermentacije). Maceracija je također ovisna o vrsti posude za fermentaciju crnog grožđa, pa se tako u zatvorenim posudama može macerirati dulje vrijeme, nema gubitka alkohola evaporacijom, manja je aeracija pa ne postoji opasnost od zaraze mikroorganizmima, dok u otvorenim posudama mošt u kontaktu sa zrakom lakše fermentira, ali su rizici kvarenja veći i velik je gubitak alkohola (i do 0,5 vol.%). Klasična maceracija odvija se na temperaturama od 20 do 25 °C. Vrenje tada teče tiho, a tako nastala vina harmonična su s okusom i mirisom svojstvenim sorti. Temperatura viša od 25 °C nije preporučljiva, jer dolazi do znatnijeg pogoršanja kakvoće vina (Pichler, 2016; Kontrec, 2017).

Otakanje je odvajanja vina od dropa u posudu gdje se dovršava alkoholna i eventualno kasnije malolaktična fermentacija. Svakako posude moraju biti sasvim pune i zatvorene. Nakon ove faze slijedi vađenje ocijeđenog masulja i prešanje kako bi se izdvojilo preostalo vino. Masulj se prenosi u prešu pomoću crpke. Vrlo je važno osigurati postupno otjecanje mošta, da bi se paralelno povećavao i održavao pritisak kako bi se spriječilo naglo smanjenje volumena kanala za istjecanje mošta između krutih čestica masulja. Nepoželjna oksidacija masulja se sprječava što bržim i kraćim vremenskim periodom trajanja prešanja. Način postizanja pritiska ovisi o konstrukciji preše, a one se dijele na: mehaničke, hidraulične, pneumatske i kontinuirane.

Masulj u preši koji istječe gravitacijskim tokom daje sok samotok, a sok koji istječe pod pritiskom je prešavina. Vina dobivena samotokom znatno su kvalitetnija od vina dobivenih prešanjem. Na početku prešanja obično upotrebljavaju se niži tlakovi (0,7 do 1 bar). Rezultat je prešavina prvih frakcija, lako izdvojiva i gotovo jednaka samotočnoj frakciji. Povećanjem tlaka izdvaja se prešavina druge frakcije, vrlo različita od samotočne frakcije. Bitna stvar tijekom prešanja je između faza nekoliko puta protresti (prorahliti) masulj u preši. Ne preporuča se dodavanje prešavina vinima namijenjenim brzom potrošnji te kvalitetnim vinima dobivenim od jako zrelog grožđa, jer se dobiju jako tanična vina. S druge strane, dodavanje prešavina je često potrebno vinima za starenje; vrlo mali postotak prešavine čini ih kompletnijima i na okus homogenijima. U praksi uglavnom samotok i prešavina nisu odvojivi. Na kvalitetu prešavine utječe kvaliteta same sirovine, uvjeti punjenja preše i tijekom prešanja, pritisak i broj ciklusa prešanja, a takva vina imaju veću koncentraciju svih sastojaka osim alkohola (Kontrec, 2017).

Naknadno (tiho) vrenje s uobičajenim sadržajem šećera (oko 20%) odvija se na minimalnoj temperaturi od 15 °C u trajanju od 3 do 6 tjedana, nakon burne fermentacije. U periodu tihog vrenja, uz privođenje fermentacije kraju, odigravaju se i drugi proces značajni za buduća svojstva vina. Oko 20 do 30% kvašćevih stanica izumire i imaju smanjenu aktivnost jer je povećan sadržaj alkohola te smanjen sadržaj šećera. Nakon izumiranja uslijed autolize, iz kvašćevih stanica u vino prelaze dušični spojevi, aminokiseline. Također, padom temperature i oslobađanjem ugljikovog dioksida smanjuje se volumen tekućine, a povećava se prazni prostor iznad površine vina, što omogućava jače prodiranje zraka u taj prostor čime se stvaraju uvjeti za njegovu aeraciju. Otpražnjeni prostor je potrebno nadopunjavati kako bi se proces tihog vrenja priveo kraju bez štetnih posljedica po vino (Jakobi, 2015).

Nakon vrenja vina nemaju razvijen karakterističan sortni okus i miris te su izrazito mutna. Malolaktična fermentacija i taloženje tartarata tijekom dozrijevanja dovode do smanjenja kiselosti vina. To je kontrolirani biološki proces pretvorbe jabučne kiseline u mliječnu, gdje selekcionirane malolaktične bakterije momentalno prevladaju divlje endogene mikroorganizme. Ovakva reaktivacija daje zaštitu bakterijama od simultanih nepovoljnih uvjeta stvorenih nepovoljnim pH, sumpornim dioksidom, alkoholom, temperaturom i manjkom hranjiva. Malolaktična fermentacija se naziva i drugo vrenje, jer se razgradnjom jabučne kiseline,

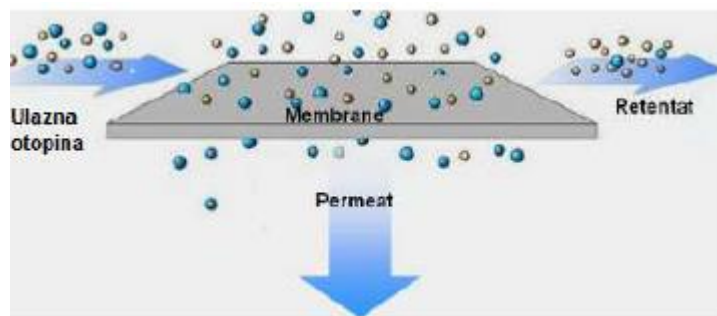
oslobađa CO₂, koji ima bitnu ulogu u formiranju kakvoće vina, pa tako završetkom ove fermentacije nastaju vina koja ne sadrže jabučnu nego mliječnu kiselinu, mekšeg su okusa, blažeg i harmoničnog, manje kisela s kompleksnijom aromom, u usporedbi s vinima u kojima nije nastupila malolaktična fermentacija. Malolaktična fermentacija zastupljenija je u proizvodnji crnih vina, nego bijelih.

Stabilizacija vina se odvija: bistrenjem i taloženjem mošta, bistrenjem vina, sumporenjem mošta i vina, hladnom stabilizacijom vina, pretakanjem i filtracijom. Spontano bistrenje je normalan proces u vinu nakon alkoholne fermentacije, dok se primjenjivanje bistrenja vina sastoji u unošenju određenih sredstava u vino koji putem kemijskih i fizičko – kemijskih reakcija iz njega odstranjuju nestabilne sastojke. Ta sredstva mogu biti organska (želatina i tanin) i mineralna (bentonit).

Kod većine sredstava proces bistrenja se odvija na principu elektrostatičkih odnosa između sredstava koja se unose u vino i sastojaka koji se u njemu nalaze. Kvaliteta bistrenja ovisi o aciditetu odnosno pH vina, temperaturi, pripremi i načinu unošenja sredstva u vino i dr. (Zoričić, 1996; Muštovic, 1985; Pichler, 2016).

2.4. MEMBRANSKI PROCESI

Membranski procesi su među separacijskim procesima vrlo razvijena tehnologija sa sve većom primjenom, osobito na područjima kemijskog inženjerstva, biotehnologije i prehrambenog inženjerstva. Temelje se na primjeni polupropusnih (semipermeabilnih) membrana, određene fizičke i kemijske strukture, koje selektivno propuštaju odnosno zadržavaju određene molekule i ione (Slika 2).



Slika 2 Osnovni princip membranske filtracije (Schmeling i sur., 2010).

Membranskim procesima je zajedničko postojanje membrane koja ima ulogu tankog sloja koji razdvaja dvije tekuće faze (fluida) i omogućava selektivni transport tvari kroz membranu djelovanjem pogonske sile (najčešće tlaka). Razlikuju se po mehanizmima i principima separacije, a karakterizirani su pojavom da se ulazna otopina djelovanjem tlaka potiskuje kroz membranu i razdvaja u dvije struje: permeat i retentat (koncentrat). Ulazna otopina dolazi na membranu pod tlakom, a permeat je skup prodiranih komponenata koje prolaze kroz membranu, u kojemu je smanjena koncentracija otopljenih tvari. Retentat ili koncentrat je skup svih komponenata koji zaostaje na membrani i kojemu se povećava koncentracija tvari tijekom filtracije u odnosu na ulaznu otopinu.

Prednosti membranskih postupaka su:

- kontinuirano zadržavanje,
- manje energetske potrebe i troškovi,
- mogućnost kombiniranja s drugim separacijskim postupcima,
- zadržavanje pod blagim uvjetima,
- lakoća prenošenja u veće mjerilo,
- varijabilnost membranskih proizvoda,
- podesivost sustava te
- minimalna potreba za aditivima.

Nedostatci membranskih postupaka su:

- koncentracijska polarizacija,
- membransko blokiranje,
- relativno kratki životni vijek membrana (ispod 10 godina),
- niska selektivnost ili nizak protok i
- faktor prenošenja u veće mjerilo je linearan (Dolar, 2009; Pozderović, 2011).

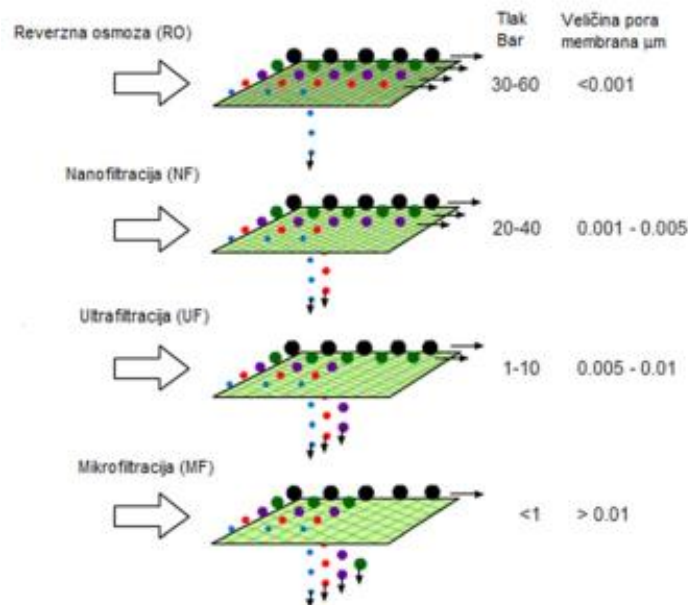
2.4.1. Vrste membranskih procesa

Ovisno o cilju separacije, membranski procesi se dijele na procese koji služe za:

- čišćenje: uklanjanje nepoželjnih nečistoća (npr. uklanjanje soli ili organskih tvari iz vode),
- koncentriranje (npr. koncentriranje arome voćnih sokova),
- razdjeljivanje: smjesa treba biti razdvojena u dva ili više željenih dijelova (npr. razdvajanje komponenti sirutke u tehnologiji mlijeka) te
- posredovanje pri reakciji: provođenje kemijske ili biokemijske reakcije s kontinuiranim odvođenjem produkta kroz membranu da bi se povećala brzina reakcije (npr. membranski bioreaktor za obradu otpadnih voda) (Mulder, 1996).

Također, membranski postupci se mogu klasificirati prema: pokretačkoj sili, mehanizmu zadržavanja, membranskoj strukturi i fazama u kontaktu.

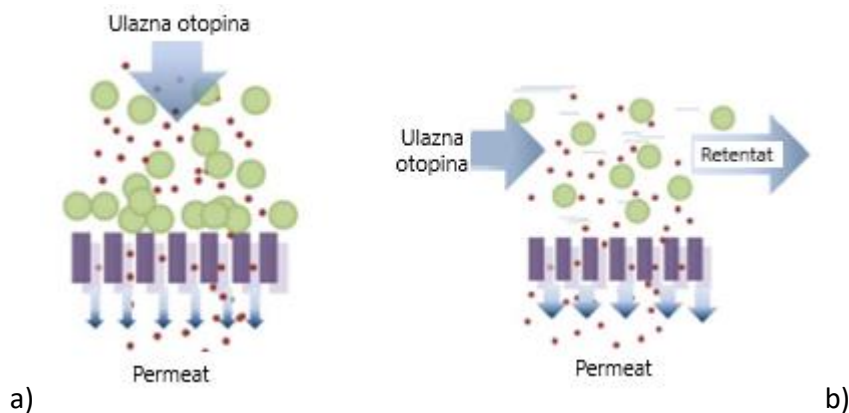
Najznačajniji membranski procesi koji imaju primjenu u prehrambenoj industriji su: mikrofiltracija (MF), ultrafiltracija (UF), nanofiltracija (NF) i reverzna osmoza (RO). Razlikuju se (**Slika 3**) po vrsti membrana (odnosno njihovoj veličini pora) i tlaku koji je potrebno primijeniti da bi došlo do uspješnog razdvajanja komponenti u nekom sustavu.



Slika 3 Tlačni membranski procesi (web 2)

Ovisno o toku tečenja fluida u odnosu na membranu, razlikuju se dva osnovna postupka membranske filtracije (**Slika 4**):

- 1) „dead-end“ ili statička filtracija – membrana „pregrađuje“ tok, a dobavna tekućina struji okomito na površinu membrane te prolazi cjelokupnim volumenom kroz nju. Čestice mutnoće veće od otvora pora zaostaju na membrani i tijekom filtracije stvaraju kontinuirani sloj, tzv. filterski kolač ili talog na površini membrane što dovodi do začepjenja membrane i do povećanja otpora protoka permeata kroz membranu. Ovaj postupak ima mali kapacitet zadržavanja, dok je polarizacija koncentracije velika. Povećanjem polarizacije koncentracije i stvaranjem taloga na membrani, protok permeata se značajno smanjuje (Grenier i sur., 2008; Moslavac, 2003).
- 2) „cross-flow“ ili dinamička filtracija – dobavna tekućina struji uzdužno (tangencijalno) po površini membrane, a permeat struji poprečno. Fluid struji velikom brzinom uzdužno s površinom membrane, dok u unakrsnom toku (engl. cross-flow) kroz membranu izlazi permeat. Čestice mutnoće tangencijalno zaostaju u retentatu. Uzdužnim strujanjem dobavne tekućine ispiru se površina membrane te time dolazi do smanjenja polarizacija koncentracije i sprječavanja taloženja čestica na membrani (Moslavac, 2003).



Slika 4 Dva osnovna postupka membranske filtracije ovisno o toku tečenja fluida u odnosu na membranu: a) „dead - end“ i b) „cross - flow“ (Tsibranska i Tylkowski, 2013)

2.4.1.1. Reverzna osmoza

Reverzna osmoza (RO) je najefikasniji membranski proces koji se koristi za uklanjanje mikromolekularnih otopljenih tvari čije su molekule istog reda veličine kao i molekule vode, a temelji se na elektrokemijskim interakcijama. U ovom procesu kroz semipermeabilnu

membranu prolazi samo otapalo, odnosno voda, a ne prolaze ioni i molekule. Anorganski ioni i male organske molekule u vodenoj otopini zadržani na membrani razvijaju značajan osmotski tlak. Zbog toga se koriste visoki radni tlakovi 30 do 120 bara što omogućava da se nadvlada osmotski tlak i da otapalo tj. voda prođu kroz membranu kao permeat. Veličina pora membrana za RO je 0,1 do 1 nm (10^{-4} do 10^{-3} μm). U prehrambenoj industriji RO je korištena za koncentriranje otopina soli i organskih tvari (koncentriranje otopine šećera, bistrih voćnih sokova, sirutke, kave, čaja, mošta od grožđa, vina), za demineralizaciju vode, obrada otpadne vode, pročišćavanje biotehnoloških proizvoda fermentacije i niz drugih mogućnosti (Lovrić, 2003).

2.4.1.2. Nanofiltracija

Nanofiltracija (NF) je membranski proces kod kojeg se na membrani zadržavaju uz veće organske molekule, i manje kao što su anorganske soli i šećeri (monosaharidi i disaharidi). NF membrane propuštaju manje anorganske i organske molekule (soli, organske kiseline i dr.), pa permeat nije čista voda kao kod RO. Princip separacije kod NF i RO je isti, a razlika je u veličini pora membrana i molekula koje se zadržavaju na membrani te u manjoj potrošnji energije u odnosu na RO (za 21%).

NF membrane imaju veće pore, od 1 do 10 nm (0,001 do 0,01 μm), i veću propusnost od membrana za RO, pa je potrebno primijeniti manji procesni tlak, od 10 do 40 bara, a princip separacije je otapanje i difuzija. NF se najviše primjenjuje u obradi i pročišćavanju te za djelomičnu demineralizaciju vode. Kroz membranu ne prolaze ni bakterije niti virusi, a rezultat je sterilni permeat, odnosno pitka voda bez mikroorganizama, smanjene tvrdoće i bez organskih zagađenja. Također, NF se primjenjuje u prehrambenoj industriji za koncentriranje mošta, mlijeka, rekuperaciju arome u proizvodnji voćnih sokova, koncentriranje otopina kiselina i šećera (voćni sokovi, otopine šećera i dr.), gdje se u kombinaciji s RO postiže veća koncentracija suhe tvari u retentatu (Pozderović, 2011).

2.4.1.3. Ultrafiltracija

Ultrafiltracija (UF) je membranski proces kod kojega se na membrani zadržavaju makromolekule i koloidi molekularne mase veće od 500, a kroz membranu prolazi otapalo (voda), anorganske soli i manje organske molekule (kisljine, šećeri i dr.). Suspendirane čestice i makromolekule veće od pora membrane ne prolaze kroz membranu te se zadržavaju na principu sita. Budući da molekule imaju veliku molekularnu masu nije potrebno primijeniti visoki tlak za svladavanje osmotskog tlaka, jer je njihov osmotski tlak zanemariv. Veličina pora membrana za (UF) je od 10 do 100 nm (0,01 do 0,1 μm), a radni tlak je od 1 do 10 bara. Kao i ostali procesi, UF je u prehrambenoj industriji korištena za koncentriranje otopina makromolekula (koncentriranje proteina sirutke i obranog mlijeka), pročišćavanje otpadnih voda, bistrenje voćnih sokova i alkoholnih pića i dr. (Pozderović, 2011).

2.4.1.4. Mikrofiltracija

Mikrofiltracija (MF) je membranski proces najbliži konvencionalnoj filtraciji s mehanizmom zadržavanja čestica na membrani na principu sita kao i kod UF. Na membrani se zadržavaju makromolekule, čestice i mikroorganizmi veći od 0,1 μm , a prolaze voda, otopljene anorganske i organske molekule, manje makromolekule (proteini). Veličina pora membrana je od 0,1 do 10 μm , a radni tlak od 0,1 do 2 bara. Protok permeata je direktno proporcionalan primijenjenom tlaku. Također, ovisan je o polarizaciji koncentracije i začepljenju (stvaranju taloga) membrane pa uslijed toga protok permeata tijekom filtracije opada, jer dolazi do taloženja čestica na površini i u porama membrane. MF ima široku uporabu, a u prehrambenoj industriji je korištena za separaciju čestica većih od 0,1 μm , koloida, suspenzija i emulzija, za hladnu sterilizaciju i bistrenje pića, pročišćavanje voda, prekidanje fermentacije i dr. (Pozderović, 2011).

2.4.2. Vrste membrana i materijali za membrane

S tehnološkog aspekta, membrane predstavljaju selektivnu barijeru koja omogućuje razdvajanje pojedinih sastojaka bez kemijskih promjena na njima. Generalno, podjela membrana je na biološke (stanične) i sintetičke membrane. Podjela sintetičkih membrana je u nekoliko skupina s obzirom na mehanizam separacije, kemijski sastav, fizičku strukturu i geometrijski oblik.

- 1) Podjela prema strukturi membrana:
 - homogene (izgrađene od jedne vrste materijala) i
 - heterogene (izgrađene od više vrste materijala).
- 2) Podjela s obzirom na fizičku strukturu:
 - simetrične: porozne (s dovoljno velikim porama u odnosu na molekule polimera pa se transport odvija kroz pore membrane) i neporozne (pore nisu mikroskopskih dimenzija pa se transport odvija između lanaca makromolekula tvari membrane),
 - asimetrične (po poprečnom presjeku nemaju istu permeabilnost i jednaku strukturu),
 - kompozitne (čine ih tanki gusti sloj na površini membrane i porozni sloj kao nosač).
- 3) Podjela prema mehanizmu separacije:
 - porozne (separacija temeljena s obzirom na razliku u veličini pora i molekula): makroporozne (veličina pora > 50 nm), porozne (veličina pora 2 - 50 nm), mikroporozne (veličina pora < 2 nm),
 - neporozne (temeljene na različitoj topljivosti i brzini difuzije kroz membranu) te
 - s ionskom izmjenom (imaju fiksirane pozitivne ili negativne grupe pa se razlikuju kationske i anionske membrane).
- 4) Podjela prema kemijskom sastavu:
 - organske (izgrađene od organskih polimera) i
 - anorganske (izgrađene od metala, keramike ili stakla).
- 5) Podjela prema geometrijskom obliku:
 - ravne ili planarne (u obliku ravnih, tankih folija s potpornim poroznim nosačem);
 - cijevne (višekanalne cijevi promjera većeg od 3 mm od polimernih materijala, keramike, metala ili stakla);
 - kapilarne (u obliku kapilarnih cjevčica, promjera od nekoliko mm do nekoliko μm) i
 - u obliku šupljih vlakana (u obliku poroznih niti, promjera od nekoliko mm do nekoliko μm) (Mulder, 1996).

Membrane su najčešće sintetički organski polimeri te su načinjene od različitih polimera, celuloze i njezinih derivata te aromatskih poliamida. Karakteristike takvih membrana su hidrofilni karakter, izvrsna permselektivna svojstva, bolja termička i kemijska svojstva i bolja

hidrolitička stabilnost od celuloznih estera, jaka osjetljivost na klor i oksidativnu degradaciju. Za izradu membrana od polimera su korišteni: celulozni acetat, poliakrilonitril, polisulfon, polietersulfon, politetrafluoretilen, polivinilidenfluorid, polietilen i dr. Uz ove, korištene su i tzv. anorganske membrane, najčešće načinjene od keramike. Karakterizira ih visoka termička i kemijska otpornost pa se primjenjuju za separaciju organskih otapala (Mulder, 1996).

2.4.3. Vrste modula

Moduli čine najmanju jedinicu koja sadrži jednu ili više membrana i prateću potpornu strukturu, a dizajniranje membranskih sustava ovisi upravo o njima. Sastoje se od membrane i kućišta u koje je ugrađena membrana i koje ima dovod dobavne otopine te odvod retentata i permeata. Uloga modula je postizanje što boljeg iskorištenja aktivnih membranskih površina, velike otpornosti na radni tlak i koroziju, ne previsokog pada tlaka, turbulencija, dobrih hidrauličkih uvjeta potrebnih za smanjenje koncentracijske polarizacije, veće površine u malom volumenu, smanjenje stvaranja taloga, omogućavanje lakog čišćenja membrana, mogućnost kontrole ispravnosti i pravilnog rada svake membrane te jednostavna i brza zamjena oštećene membrane. Konstrukcija modula za filtraciju u kojeg se ugrađuju membrane je određena oblikom membrane.

Ovisno od konstrukcijskih rješenja moduli se dijele na:

- pločaste module,
- cijevne module,
- spiralne module,
- kapilarne module i
- module sa šupljim vlaknima (hollow fiber) (Moslavac, 2003; Lovrić, 2003).

2.4.3.1. Pločasti moduli

Pločasti moduli su najduže primjenjivani moduli u prehrambenoj industriji, složeni uglavnom vertikalno. Karakteriziraju ih membrane u obliku tankih listova koje se nalaze između sustava paralelnih ploča manjih ili većih dimenzija različitog geometrijskog oblika (krug ili kvadrat). Modul čine naizmjenično postavljene razdjelne ploče, noseće ploče i membrane smještene na

jednu vertikalnu ili horizontalnu centralnu osovinu. Membrane su postavljene s obje strane noseće ploče čija je površina isprepletana žljebovima koji stvaraju kanale manje od 1 mm kroz koje permeat protječe u unutrašnjost ploče. Razdjelna ploča je smještena između dvije noseće ploče, na čijoj površini su rebrasti izvodi i na periferiji otvori za tečenje retentata. Broj nosećih i razdjelnih ploča koje se slažu ovisi o željenom kapacitetu i visini modula. Ovi moduli ne podnose jako visoke tlakove i njihova ukupna aktivna površina (400 do 800 m²/m³) je znatno manja u odnosu na kapilarne ili spiralne module. Korišteni su u procesima mikrofiltracije, ultrafiltracije, reverzne osmoze, dijalize i elektrodijalizacije (Mulder, 1996; Moslavac, 2003; Pozderović, 2011).

2.4.3.2. Cijevni moduli

Cijevni modul čini više cijevnih membrana ugrađenih u porozni nehrđajući materijal kao potporu, izrađenih od keramike i plastičnih polimernih materijala. Smještene su na vanjskoj ili unutarnjoj strani porozne noseće cijevi. Jedna ili više takvih cijevi su smještene u zajedničko kućište, a povezanost cijevi (serijski ili paralelno) utječe na povećanje tečenja fluida, ostvarenje potrebne membranske površine za učinkovitiju filtraciju, bolje iskorištenje prostora, manju cijenu proizvodnje. Gustoća pakiranja modula je mala, a njihov kapacitet ovisi o površini membrane. Na jednoj strani metalnog ili plastičnog cijevnog kućišta se dovodi dobavna tekućina koja prolazi kroz cijevne membrane, dok kroz drugi kraj izlazi retentat. Permeat prolazi poprečno kroz membranu i poroznu potporu te se sakuplja u kućištu modula, a izlazi kroz bočni otvor na kućištu. Cijevni moduli imaju široku primjenu u raznim industrijama, petrokemiji, biotehnologiji, farmaciji, u prehrambenoj industriji (u industriji pića i sokova - bistrenje voćnih sokova; u industriji mlijeka i mliječnih proizvoda; u šećeranama u različitim fazama proizvodnje šećera) (Moslavac, 2003; Pozderović, 2011).

2.4.3.3. Spiralni moduli

Spiralni modul čine centralne uže uzdužne cijevi i cijevnog kućišta, sastoji se od više slojeva ravnih ili planarnih membrana koje su spiralno smotane i međusobno razdvojene poroznim nosačem za prikupljanje dobavne tekućine i permeata tako da zajedno čine tzv. „sendvič“ strukturu. Na površini membrane je zalijepljen porozni mrežasti materijal koji uzrokuje

turbulentno tečenje fluida, razdvaja membrane i tvori propusne kanale za dobavnu tekućinu i permeat. Taj „sendvič“ je spiralno namotan na centralnu perforiranu cijev za odvod permeata. Centralna cijev ima žlijeb po dužini u koji je postavljen početak sendviča membrana i razmaknica. Nakon toga se „sendvič“ namota oko cijevi te se ulaže u cijevno metalno kućište. Permeat prolazi kroz membrane, teče spiralnim tokom kroz kanal i ulazi u centralnu perforiranu cijev za odvođenje permeata, dok retentat izlazi na drugom kraju cijevi kućišta. Prednosti spiralno namotanih ravnih membrana su velika površina membrana u odnosu na mali volumen modula i dvostruki tok (spiralni i uzdužni), dok su nedostaci nemogućnost mehaničkog čišćenja, češće provođenje kemijskog čišćenja. Korišteni su u svim tlačnim membranskim procesima (Pozderović, 2011; Kucera, 2013).

2.4.3.4. Kapilarni moduli

Kapilarni modul se sastoji od većeg broja kapilara koje se nalaze u prozirnem polisulfonskom cilindričnom kućištu. Slobodni krajevi kapilara na krajevima cijevnog kućišta su učvršćeni, a prostor između kapilara hermetički zatvoren epoksi smolama, poliuretanom ili silikonskom gumom s kućištem. Membrane čine snop tankih cjevčica, kapilara promjera 0,2 do 1,7 mm koje su slobodne, tj. bez potpore, kao kod cijevnih membrana. Permeat se može sakupljati izvan ili unutar kapilare. Kada se dobavna tekućina provodi kroz kapilare, prolazi uzdužno preko površina membrana te na kraju cijevnog kućišta izlazi retentat, dok se kod poprečnog prolaza kroz kapilarnu membranu sakuplja u prostoru između kapilara odakle izlazi van iz modula. Modul čini 45 do 3000 kapilarnih membrana, čime se ostvaruje velika kontaktna površina membrana u odnosu na mali volumen. Pranje uređaja provodi se stvaranjem protutlaka s vanjske strane, što otklanja nataložene čestice na membrani (Mulder, 1996; Pozderović, 2011).

2.4.3.5. Moduli sa šupljim vlaknima („hollow fiber“)

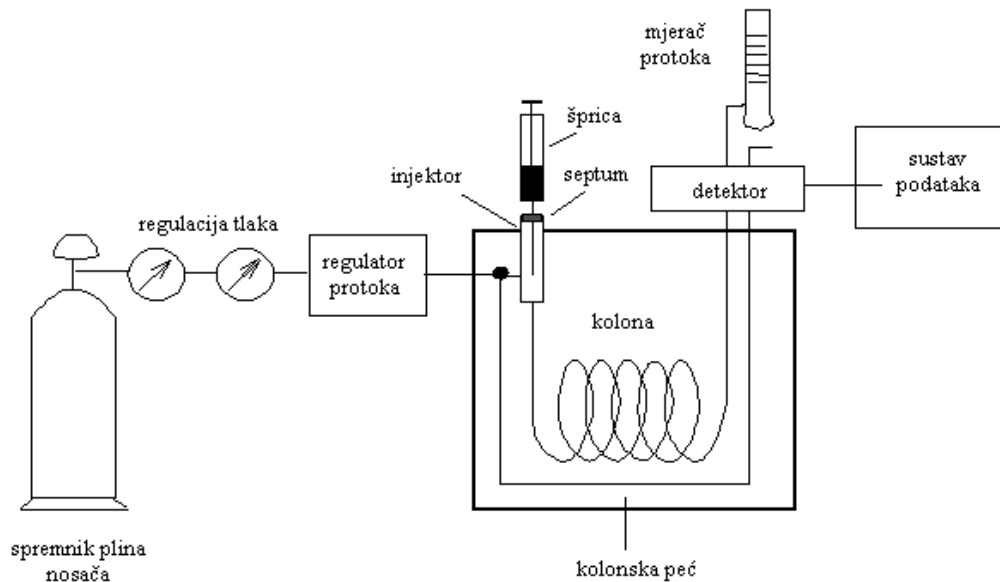
Module čine membrane u obliku tankih šupljih vlakana (eng. hollow fiber) upakirane u snopove čiji su krajevi povezani epoksi smolama i ugrađeni u ploče koje razdvajaju prostore pod visokim i niskim tlakom, a sve je smješteno u cilindričnom kućištu modula. Razlika između kapilarnog i modula sa šupljim vlaknima je samo u dimenzijama kapilara i šupljih vlakana, dok su sve druge

karakteristike iste. Jedna od prednosti ovih modula je velika površina membrana pri malom volumenu modula, zbog nižih protoka mali je utjecaj polarizacije koncentracije. Od nedostataka se ističu lako začepljenje modula zbog laminarnog toka fluida kroz vlakna, teže sprječavanje bakterijskih infekcija u prostoru ispred membrana (Matsuura, 1994; Pozderović, 2011).

2.5. PLINSKA KROMATOGRAFIJA

Plinska kromatografija koristi se za odvajanje, kvantitativnu analizu, izolaciju komponenata smjese, za utvrđivanje čistoće tvari te identifikaciju. Kromatografska analiza ima dvije faze: mobilnu i stacionarnu. Mobilna faza je u plinskom stanju i eluira sastojke smjese iz kolone ispunjene stacionarnom fazom koja je kruti adsorbens ili tekućina nanosena na kruti nosač.

Za razliku od tekućinske kromatografije u plinskoj kromatografiji analit ne reagira s mobilnom fazom, zbog toga njegova brzina kretanja kroz kolonu ne ovisi o kemijskoj strukturi mobilne faze. Pri ulasku smjese komponenti u kolonu, smjesa se trenutno razdjeljuje između stacionarne i mobilne faze. Razdvajanje smjese hlapivih sastojaka se odvija naizmjenično adsorpcijom i desorpcijom lakše hlapivih sastojaka djelovanjem plina nositelja koji odnosi komponente kroz kolonu (Skoog i sur., 1999). Plin nositelj nema interakcija s analiziranim komponentama već služi isključivo kao transportno sredstvo (Primorac, 2007). Poznate su tri kromatografske tehnike odjeljivanja: istiskivanje, frontalna kromatografija i eluiranje (ispiranje), koje se mogu primijeniti kod oba načina odvajanja komponenata smjese. Glavna tehnika plinske kromatografije je eluiranje jer se kolona kontinuirano regenerira s inertnim plinom nositeljem. Strujom inertnog plina se određena količina ispitivane smjese uvodi u kromatografsku kolonu. Prolaskom kroz kolonu dolazi do razdjeljivanja smjese između stacionarne faze i struje plina nositelja (pokretna faza). Plin nositelj ispire iz kolone pojedine frakcije, pa su sastojci na taj način pomiješani samo s plinom nositeljem stoga je olakšano kvalitativno i kvantitativno određivanje komponenata (Pichler, 2011). Osnovni dijelovi plinskog kromatografa su (**Slika 5**): kromatografska kolona, izvor plina nositelja, injektor, regulator tlaka i protoka, detektor i pisac (Vrdoljak, 2009).



Slika 5 Shematski prikaz plinske kromatografije (web 3)

Plin nositelj

Kako ne bi došlo do reakcije s uzorkom ili punilom u koloni plin nositelj mora biti inertan. Najčešće se kao plinovi upotrebljavaju vodik, dušik, helij i argon. Jako je bitno da plin nositelj bude suh i pročišćen od nečistoća koje bi mogle dovesti do lošeg funkcioniranja uređaja, povećati razinu smetnji i kontaminaciju detektora, zbog toga se često posebno instaliraju uređaji za pročišćavanje plina (Higson, 2004; Pichler, 2011).

Detektori

Sastojci smjese, koji su odijeljeni na kromatografskoj koloni i izneseni plinom nositeljem, moraju se na neki način registrirati odnosno detektirati. Detektor mora imati brz odziv na male promjene koncentracije sastojaka tijekom njihove elucije iz kolone (Higson, 2004). Izbor detektora najviše ovisi o vrsti analita koji se analizira. Detektori koji se najčešće koriste u plinskoj kromatografiji su:

- plamenoionizacijski detektor (engl. flame ionisation detector, FID) – najveći nedostatak je činjenica da razara uzorak;
- detektor plinske vodljivosti (engl. thermal conductivity detector, TCD) – toplinska vodljivost plina nositelja je 6 do 10 puta veća od toplinske vodljivosti organskih

molekula, a zbog prisutnost organskih molekula dovodi do velikog pada u toplinskoj vodljivosti, te

- maseni spektrometar (engl. mass spectrometer, MS) – najmoćniji detektor za plinsku kromatografiju koji mjeri omjere mase i naboja iona (Skoog i sur., 2014).

2.5.1. Masena sprektrometrija

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

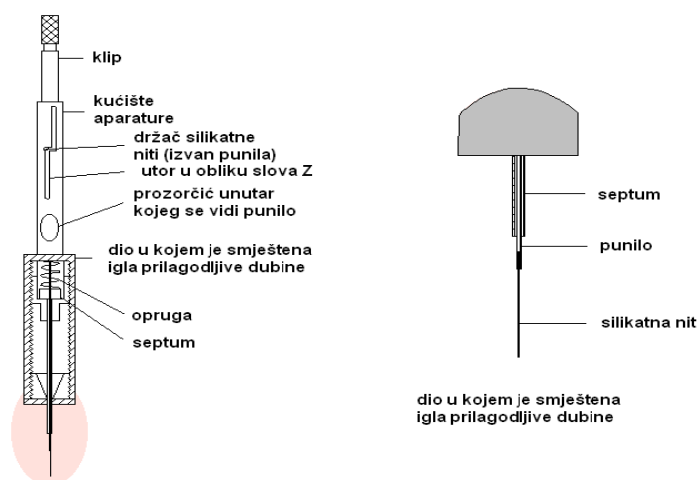
- infracrveni spektar (IC),
- spektar nuklearno – magnetske rezonancije (NMR),
- ultraljubičasti spektar (UV),
- spektar elektron – spinske rezonancije (ESR) te
- spektar masa (Vrdoljak, 2009).

Spektrometrija masa ili masena spektrometrija (engl. mass spectrometry, MS) je analitička metoda kojom se analiziraju molekule na osnovi razlike u omjeru njihove mase i naboja (m/z). Najprije se u ionizatoru ioniziraju molekule uzorka, potom se ubrzavaju u električnom polju i uvode u regulator brzine koji se sastoji od magnetnog i električnog polja. Analiza iona na osnovi masene razlike daje informacije o tipu i rasporedu iona analiziranog uzorka, a potrebna je vrlo mala količina uzorka za pretragu, svega 10^{-12} g. Zato se ova metoda koristi za kvantifikaciju atoma ili molekula te za dobivanje kemijske i strukturne informacije o analiziranim molekulama (Rukavina, 2016).

2.5.2. SPME analize

Metoda mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (eng. solid phase microextraction, SPME) jedna je od novijih metoda izolacije i ekstrakcije koja je razvijena kako bi se uklonili nedostaci ekstrakcije na čvrstoj fazi i ekstrakcije tekućina-tekućina (Pawliszyn, 2009). Upotrebljava se rutinski zajedno s plinskom kromatografijom s masenim detektorom (GCMS) za analizu različitih spojeva, a posebno za ekstrakciju hlapivih organskih spojeva iz različitih bioloških i prehrambenih uzoraka (Vas i Vekey, 2004). Primjenom SPME tehnike kombinira se ekstrakcija i koncentriranje te je omogućen i direktan prijelaz adsorbiranih sastojaka u injektor plinskog kromatografa, a na taj se

način sprječava ulaz kisika i vlage u kolonu plinskog kromatografa. Ovom je tehnikom omogućeno i koncentriranje sastojaka koji su prisutni u tragovima unutar sloja punila koje ima mali volumen, ali veliki koeficijent raspodjele sastojaka između punila i uzorka za velik broj organskih spojeva. Na **Slici 6** prikazana je SPME aparaturna koja se sastoji od kućišta unutar kojeg se nalazi igla. Adsorpcija sastojaka se odvija unutar igle na polimernoj stacionarnoj fazi prevučenoj preko silikatne niti dužine 1 cm. Igla štiti punilo tijekom uporabe i čuvanja, posebice prilikom prolaza kroz septum injektora plinskog kromatografa (Pichler, 2011).



Slika 6 Prikaz SPME aparature(web 4)

Ovisno o vrsti i debljini stacionarne faze postoje različita punila. Najčešće se upotrebljavaju punila sa slojem polidimetilsiloksana (PDMS), sa slojem poliakrilata (PA), kao i različite kombinacije PDMS/Carboxen, PDMS/divinilbenzen, Carbowax/divinilbenzen i dr. Nepolarna punila s polidimetilsiloksanom (PDMS) se najčešće upotrebljavaju jer su vrlo djelotvorna za molekule male i srednje molekulske težine, neovisno jesu li polarne ili nepolarne (Vas i Vekey, 2004). Povećanjem koncentracije soli se značajno mijenja osjetljivost SPME tehnike. Sol može utjecati na četiri različita načina na promatrane aromatične sastojke: adsorpcija se kod većine sastojaka povećava s povećanjem koncentracije soli (etil butanoat, benzaldehid, linalool, neral); adsorpcija sastojaka se povećava na početku, a zatim kod veće koncentracije soli prestaje (etil-acetat, geranial); na početku se adsorpcija povećava, a onda se povećanjem koncentracije soli smanjuje (etil heksanoat, heksanska kiselina); adsorpcija se smanjuje povećanjem koncentracije soli (limonen) (Pichler, 2011).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Istražiti utjecaj koncentriranja nanofiltracijom na zadržavanje tvari arome u vinu Cabernet Sauvignon pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom i bez primjene hlađenja. Pokuse provesti na uređaju za nanofiltraciju Lab Unit M20 s membranom Alfa Laval NF M20. Početni volumen je 3 L.

3.2. MATERIJAL I METODE

3.2.1. Priprema koncentriranog vina Cabernet Sauvignon

U provedenim istraživanjima korišten je vino Cabernet Sauvignon. Početna suha tvar vina bila je 8,2%. Nakon provedenog postupka koncentriranja nanofiltracijom ispitivani su aromatični spojevi u koncentriranom vinu.

Pribor

1. Za proces koncentriranja vina nanofiltracijom upotrijebljene su kompozitne membrane tipa Alfa Laval NF M20. Kod NF membrana porozni sloj (nosač) je izrađen od poliestera, karakteristike membrana navedene su u **Tablici 1**.

Tablica 1 Karakteristike NF membrana

Tip membrane	Alfa Laval NF M20
Proizvođač	Alfa Laval Danska
Materijal	poliamid
R_{MgSO_4}	> 0,99
Maksimalna radna temperatura °C	50
Maksimalni radni tlak bar	55
Dozvoljeni pH	3 – 10

Upotrijebljeno je šest kompozitnih membrana, složenih u pločasti modul, ukupne površine 0,1736 m² (jedna membrana ima površinu od 0,02893 m²).

2. **Slika 7** prikazuje laboratorijski uređaj za nanofiltraciju „Lab Unit M20“ danske tvrtke Dow Danmark Separation Systems De Danske Sukkerfabrikker, Copenhagen, s pločastim modulom i membrana tipa Alfa Laval NF M20.



Slika 7 Prikaz uređaja „Lab Unit M20“ (Smiljanić, 2013)

Pokusi su provedeni s vinom Cabernet Sauvignon početnog udjela suhe tvari 8,2%. Početna temperatura vina u tanku kod svih pokusa bila je 20°C. Količina uzorka u tanku iznosila je 3 L. Koncentriranje je provedeno pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom i bez primjene hlađenja. Kod svih pokusa vino je koncentrirano do maksimalne koncentracije koju je uklanjanjem alkohola bilo moguće postići, a to je 22,9 % suhe tvari. Svake 4 minute bilježio se volumen permeata, temperatura uzorka u tanku (ukoliko se radilo o postupku s primjenom hlađenja bilježila se i temperatura rashladnog sredstva) i udio suhe tvari. U pokusu s hlađenjem korištena je pokretna rashladna jedinica koja je priključena na izmjenjivač topline uređaja za membransku filtraciju. Kao rashladno sredstvo koristila se voda.

3.2.2. Analiza tvari arome

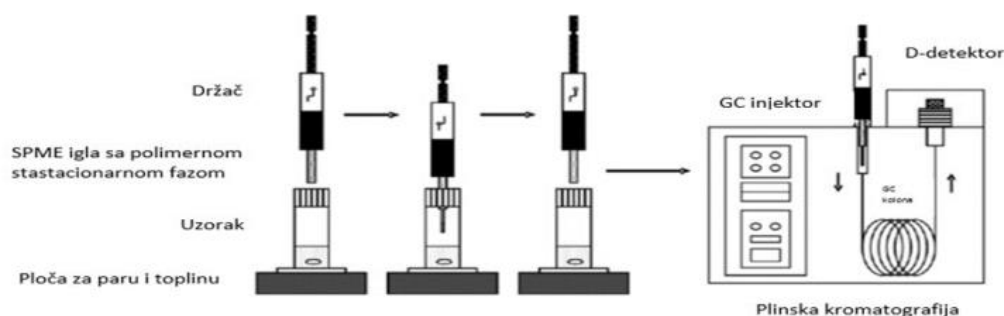
Priprema uzorka za analizu

Prilikom pripreme uzorka korištena je tehnika mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME) za koju je neophodna SPME aparatura. Osnova SPME aparature je igla unutar koje se na polimernu stacionarnu fazu adsorbiraju aromatični sastojci. U radu je za pripremu uzoraka korišteno punilo od polidimetilsiloksana/divinilbenzena (polimerna stacionarna faza) debljine 65 µm.

Postupak

U bočicu od 10 ml doda se 5 ml uzorka vina (8,2% ukupne suhe tvari). Doda se 1 g NaCl radi bolje adsorpcije aromatičnih sastojaka. U bočicu se ubaci magnet te se hermetički zatvori teflonskim čepom. Bočica se postavi u posudu s vodom te se, uz stalno miješanje uzorka magnetskom miješalicom, aromatični sastojci adsorbiraju na polimernu stacionarnu fazu (unutar igle). Prije samog ispuštanja igle u nadprostor uzorka, uzorak se 5 minuta miješa na vodenoj kupelji (40°C) radi zasićenja nadprostora sa svrhom što bolje adsorpcije aromatičnih sastojaka. Adsorpcija se provodi na temperaturi od 40°C (vodena kupelj) u trajanju od 45 minuta. Po završetku adsorpcije igla s adsorbiranim sastojcima odmah se stavlja u injektor plinskog kromatografa te slijedi njihova toplinska desorpcija (**Slika 8**).

Određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka vinskih koncentrata Cabernet Sauvignon provedeno je primjenom instrumentalne plinske kromatografije. U radu je korišten plinski kromatograf tvrtke Agilent 5890 B s masenim-selektivnim detektorom Agilent 5977A.



Slika 8 Korištenje SPME metode za uzorkovanje i analizu (Pichler, 2011)

Uvjeti rada plinskog kromatografa

Parametri ekstrakcije

Temperatura ekstrakcije: 40°C,

Vrijeme ekstrakcije: 45 min,

Tip mikroekstrakcije igle: 65 µm polidimetilsiloksan/divinilbenzen (PDMS/DVB), Supelco, USA.

GC – MS analitički uvjeti

Kolona: HP – 5 MS; 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, Agilent, USA,

Početna temperatura: 40°C,

Temperaturni gradijent: do 120 °C - 3°C/ min, zatim do 250 °C - 10°C/ min,

Plin nositelj: helij (čistoće 5,0) s protokom 1 mL/ min,

Konačna temperatura: 250°C,

Temperatura injektora: 250°C,

Temperatura detektora: 280°C.

Desorpcija uzorka u injektoru: 7 min.

U izradi kromatografske analize korišten je splitless mod.

Praćenje 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 C7 – C30 priređena u laboratoriju prema istim uvjetima analize. Određena su vremena zadržavanja pojedinih ravnolančanih ugljikovodika te su izračunati retencijski indeksi komponenata vina prema jednadžbi:

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

gdje je:

I - retencijski indeks zadržavanja,

n - broj ugljikovih atoma u manjem n-alkanu,

N - broj ugljikovih atoma u većem n-alkanu,

t'_r - vrijeme zadržavanja.

Dobiveni retencijski indeksi uspoređeni su s literaturom za dodatnu potvrdu identifikacije komponenata. Kao interni standard za kvantifikaciju spojeva korišten je mirtenol.

4. REZULTATI

4.1. TABLIČNI PRIKAZI ANALIZOM DOBIVENIH REZULTATA

Tablica 2 Retencijski indeks i sadržaj kiselina ($\mu\text{g/L}$) identificiranih u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije

Kiseline ($\mu\text{g/L}$)	RI	Vino	NF25H	NF35H	NF45H	NF55H	NF25BH	NF35BH	NF45BH	NF55BH
Oktanska kiselina	1199	25,6 \pm 0,3	40,9 \pm 0,4	40,5 \pm 1,7	53,2 \pm 2,3	60,1 \pm 1,2	42,1 \pm 0,8	50,2 \pm 0,2	51,6 \pm 0,6	53,1 \pm 0,4
Dekanska kiselina	1376	65,4 \pm 0,8	57,7 \pm 1,5	67,4 \pm 0,2	71,8 \pm 0,1	176,5 \pm 6,2	77,4 \pm 0,0	81,7 \pm 0,4	82,0 \pm 1,1	83,6 \pm 0,3
Laurinska kiselina	1556	16,5 \pm 0,1	20,2 \pm 0,8	23,5 \pm 0,4	27,1 \pm 0,1	30,2 \pm 0,6	28,7 \pm 0,3	30,6 \pm 0,7	36,6 \pm 0,9	37,0 \pm 0,4
Miristinska kiselina	1749	24,8 \pm 0,5	26,1 \pm 0,7	37,4 \pm 0,8	76,1 \pm 0,3	96,9 \pm 3,3	35,3 \pm 0,2	36,6 \pm 0,3	39,0 \pm 0,0	38,8 \pm 0,2
Palmitinska kiselina	2004	14,0 \pm 0,6	6,0 \pm 0,0	6,0 \pm 0,1	6,5 \pm 0,1	7,0 \pm 0,2	5,2 \pm 0,0	5,3 \pm 0,0	7,7 \pm 0,1	7,6 \pm 0,0

*RI – retencijski indeks; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja

Tablica 3 Retencijski indeks i sadržaj alkohola ($\mu\text{g/L}$) identificiranih u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije

Alkoholi ($\mu\text{g/L}$)	RI	Vino	NF25H	NF35H	NF45H	NF55H	NF25BH	NF35BH	NF45BH	NF55BH
Izoamil alkohol	734	3979,2 \pm 114,9	5819,2 \pm 89,0	5951,9 \pm 79,3	6649,2 \pm 110,7	7159,1 \pm 105,5	3004,2 \pm 32,5	4532,3 \pm 3,0	4263,8 \pm 69,8	4688,8 \pm 9,2
1-butanol	752	1058,3 \pm 55,8	913,4 \pm 3,1	1427,4 \pm 18,1	1515,1 \pm 22,0	1745,2 \pm 88,0	1059,7 \pm 49,7	1276,9 \pm 2,5	567,9 \pm 0,1	620,3 \pm 1,1
2,3-butandiol	804	302,4 \pm 27,4	415,0 \pm 12,2	536,0 \pm 8,3	702,5 \pm 7,7	859,7 \pm 22,7	382,8 \pm 3,4	464,9 \pm 4,5	477,7 \pm 7,1	554,8 \pm 6,3
1-heksanol	868	42,4 \pm 0,7	44,8 \pm 0,1	44,2 \pm 0,3	44,3 \pm 0,3	47,0 \pm 1,1	16,7 \pm 0,4	15,1 \pm 0,0	13,7 \pm 0,9	16,1 \pm 0,0
Metionol	981	20,6 \pm 0,8	15,3 \pm 0,3	11,4 \pm 0,4						
Benzil alkohol	1037	7,2 \pm 0,1								
1-oktanol	1071	14,4 \pm 0,3	18,5 \pm 0,2	20,0 \pm 0,6	22,1 \pm 0,1	24,4 \pm 1,0	17,9 \pm 1,0	13,0 \pm 1,1	20,1 \pm 0,2	20,1 \pm 0,1
Fenetil alkohol	1103	1857,7 \pm 1,5	1918,4 \pm 140,8	1957,6 \pm 97,8	2246,4 \pm 32,4	2301,3 \pm 75,4	1389,0 \pm 57,2	1577,9 \pm 94,5	1808,8 \pm 60,2	2272,5 \pm 48,8
Dodekanol	1469	6,0 \pm 0,1	7,1 \pm 0,0	11,4 \pm 0,1	13,4 \pm 0,2	15,7 \pm 0,0	12,0 \pm 0,0	15,4 \pm 0,1	15,4 \pm 0,9	15,7 \pm 0,0

*RI – retencijski indeks; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja

Tablica 4 Retencijski indeks i sadržaj karbonilnih spojeva ($\mu\text{g/L}$) identificiranih u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije

Aldehidi i ketoni ($\mu\text{g/L}$)	RI	Vino	NF25H	NF35H	NF45H	NF55H	NF25BH	NF35BH	NF45BH	NF55BH
4-propilbenzaldehyd	1261	6,7 \pm 0,3	8,9 \pm 0,4	13,2 \pm 0,1	15,1 \pm 0,0	25,5 \pm 0,0	12,4 \pm 0,3	16,0 \pm 0,1	20,3 \pm 0,3	20,5 \pm 0,0
Geranil aceton	1448	5,3 \pm 0,1	11,2 \pm 0,1	10,2 \pm 0,7	10,5 \pm 0,3	11,2 \pm 0,3	8,6 \pm 0,0	8,6 \pm 0,0	8,1 \pm 0,1	8,7 \pm 0,0
Lilial	1517	4,4 \pm 0,2	6,4 \pm 0,1	7,0 \pm 0,0	7,7 \pm 0,1	7,2 \pm 0,2	6,9 \pm 0,0	9,8 \pm 0,8	9,8 \pm 0,3	10,1 \pm 0,1
Heksilcinamal	1738	4,5 \pm 0,2	5,5 \pm 0,2	6,4 \pm 0,1	7,1 \pm 0,1	8,1 \pm 0,1	6,2 \pm 0,0	7,0 \pm 0,1	8,7 \pm 0,1	11,2 \pm 0,2

*RI – retencijski indeks; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja

Tablica 5 Retencijski indeks i sadržaj terpena ($\mu\text{g/L}$) identificiranih u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije

Terpeni ($\mu\text{g/L}$)	RI	Vino	NF25H	NF35H	NF45H	NF55H	NF25BH	NF35BH	NF45BH	NF55BH
α -terpinolen	1092	15,9 \pm 0,7	28,6 \pm 0,2	29,3 \pm 0,6	35,8 \pm 0,3	35,5 \pm 1,0	21,8 \pm 0,1	22,2 \pm 0,1	23,8 \pm 0,7	24,1 \pm 1,3
Nerol	1218	5,1 \pm 0,1	8,3 \pm 0,2	8,5 \pm 0,1	8,7 \pm 0,0	9,8 \pm 0,1	5,3 \pm 0,1	5,8 \pm 0,0	7,6 \pm 0,2	9,8 \pm 0,2
β -citronelol	1223	24,2 \pm 1,0	30,7 \pm 0,4	35,6 \pm 0,9	44,6 \pm 0,3	47,5 \pm 1,3	25,5 \pm 0,1	26,4 \pm 0,2	30,5 \pm 0,2	37,1 \pm 0,2
β -damascenon	1377	18,9 \pm 1,9	29,7 \pm 0,8	32,6 \pm 0,1	34,0 \pm 0,4	33,1 \pm 0,6	26,3 \pm 0,1	34,1 \pm 0,1	33,8 \pm 0,9	36,3 \pm 0,0
Fenantren	1772	5,3 \pm 0,1	3,4 \pm 0,0	4,8 \pm 0,0	8,2 \pm 0,1	8,2 \pm 0,2	6,0 \pm 0,0	7,2 \pm 0,1	7,2 \pm 0,1	7,1 \pm 0,0

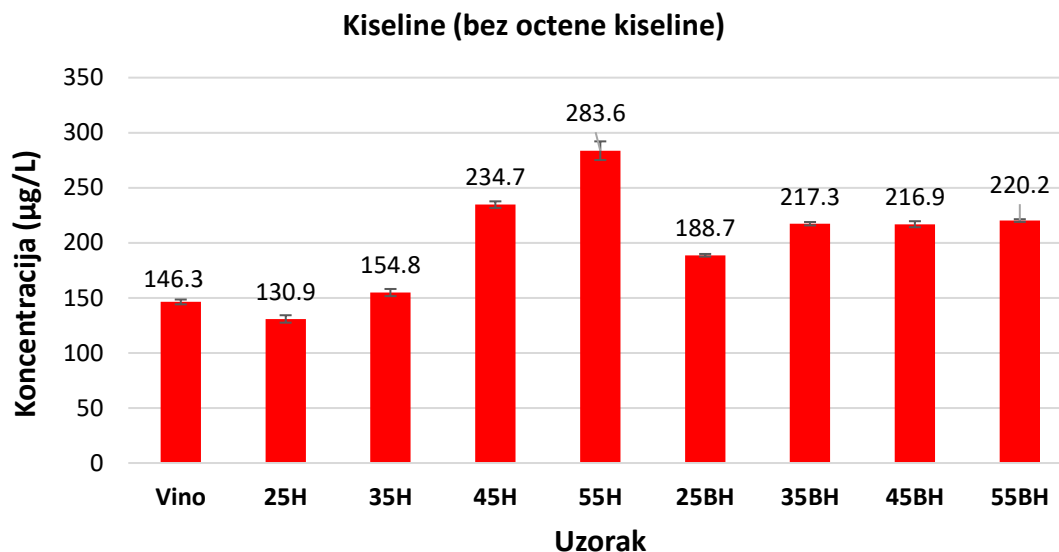
*RI – retencijski indeks; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja

Tablica 6 Retencijski indeks i sadržaj estera ($\mu\text{g/L}$) identificiranih u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije

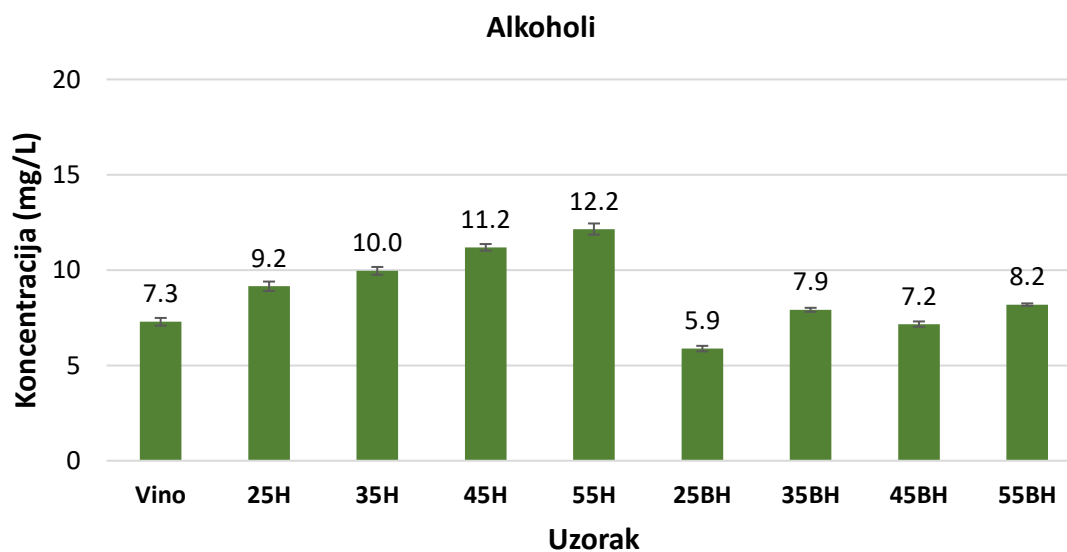
Esteri ($\mu\text{g/L}$)	RI	Vino	NF25H	NF35H	NF45H	NF55H	NF25BH	NF35BH	NF45BH	NF55BH
Etil heksanoat	997	66,7 \pm 2,4	37,7 \pm 0,4	40,6 \pm 0,5	49,1 \pm 0,8	49,6 \pm 0,9	21,3 \pm 1,5	30,4 \pm 0,2	32,5 \pm 0,7	37,3 \pm 0,0
Etil 4-hidroksibutanoat	1060	50,2 \pm 0,9	43,7 \pm 1,5	32,2 \pm 0,8	32,9 \pm 0,7	34,7 \pm 0,3	23,3 \pm 0,0	21,3 \pm 0,4	22,0 \pm 0,2	22,8 \pm 0,4
Dietil sukcinat	1179	725,4 \pm 18,6	1006,0 \pm 56,8	1138,7 \pm 55,9	1178,7 \pm 35,7	1274,8 \pm 9,2	947,3 \pm 17,0	1216,0 \pm 0,4	1221,3 \pm 75,7	1437,7 \pm 14,9
Etil oktanoat	1191	210,7 \pm 14,7	191,4 \pm 4,4	155,9 \pm 4,4	177,2 \pm 3,8	174,5 \pm 4,1	151,0 \pm 6,2	151,8 \pm 2,6	162,5 \pm 1,9	164,6 \pm 7,7
Etil hidrogen sukcinat	1198	183,0 \pm 3,4	158,4 \pm 3,3	200,3 \pm 2,4	334,6 \pm 8,6	361,3 \pm 7,6	114,3 \pm 2,0	112,7 \pm 5,2	204,3 \pm 0,4	211,3 \pm 3,3
Fenetilacetat	1248	72,3 \pm 2,5	52,3 \pm 2,2	73,9 \pm 1,2	83,9 \pm 0,8	91,5 \pm 2,7	51,5 \pm 0,9	63,9 \pm 0,3	70,8 \pm 1,1	83,8 \pm 0,2
Etil dekanat	1391	73,4 \pm 1,5	36,9 \pm 0,3	36,9 \pm 1,1	40,1 \pm 0,6	46,7 \pm 0,9	30,2 \pm 0,2	27,0 \pm 0,1	32,7 \pm 0,1	33,6 \pm 0,4
Etil vanilat	1580	7,2 \pm 0,4	8,4 \pm 0,2	9,7 \pm 0,1	14,9 \pm 0,1	14,6 \pm 0,1	9,5 \pm 0,1	10,7 \pm 0,4	11,7 \pm 0,6	13,5 \pm 0,4
Etil laurat	1584	34,6 \pm 0,7	24,9 \pm 1,1	28,0 \pm 0,7	32,2 \pm 0,2	34,4 \pm 0,7	17,0 \pm 0,1	24,5 \pm 0,0	27,8 \pm 0,6	28,0 \pm 0,1
Heksil salicilat	1667	5,9 \pm 0,2	8,0 \pm 0,0	9,8 \pm 0,1	16,5 \pm 0,1	18,3 \pm 0,6	9,2 \pm 0,0	12,0 \pm 0,2	13,3 \pm 0,1	16,2 \pm 0,0
Etil miristat	1778	27,5 \pm 1,2	16,1 \pm 0,4	33,2 \pm 1,0	43,7 \pm 0,3	44,5 \pm 1,0	16,6 \pm 0,1	16,9 \pm 0,1	19,8 \pm 0,4	22,5 \pm 0,2
Diizobutil ftalat	1859	103,4 \pm 4,1	41,7 \pm 0,4	25,0 \pm 0,6	27,3 \pm 0,6	29,9 \pm 0,8	24,2 \pm 0,1	23,5 \pm 0,0	25,3 \pm 0,4	24,4 \pm 0,2
Etil pentadekanoat	1880	27,8 \pm 2,3	22,9 \pm 0,2	21,7 \pm 0,8	23,3 \pm 0,2	27,9 \pm 0,7	22,2 \pm 0,3	22,6 \pm 0,0	21,0 \pm 0,5	20,4 \pm 0,1
Metil palmitat	1907	28,6 \pm 1,5	28,5 \pm 0,2	21,9 \pm 0,3	22,9 \pm 0,1	23,0 \pm 0,1	18,6 \pm 0,1	19,0 \pm 0,2	18,1 \pm 0,3	18,6 \pm 0,2
Dibutil ftalat	1953	23,4 \pm 0,7	33,2 \pm 0,3	41,2 \pm 0,3	43,2 \pm 0,6	45,3 \pm 1,2	28,1 \pm 0,1	30,7 \pm 0,1	31,0 \pm 0,4	31,6 \pm 0,3
Etil palmitat	1978	107,5 \pm 0,9	88,4 \pm 0,8	90,8 \pm 0,9	111,9 \pm 1,3	113,5 \pm 0,7	89,5 \pm 0,3	82,5 \pm 0,4	64,4 \pm 0,2	64,6 \pm 0,2
Etil linoleat	2146	5,7 \pm 0,2	5,1 \pm 0,2	6,2 \pm 0,4	6,8 \pm 0,1	7,6 \pm 0,2	5,5 \pm 0,1	5,6 \pm 0,0	5,3 \pm 0,1	5,1 \pm 0,0
Etil oleat	2152	21,8 \pm 0,2	14,3 \pm 0,1	13,0 \pm 0,7	14,8 \pm 0,3	15,7 \pm 0,3	13,7 \pm 0,1	11,7 \pm 0,1	10,1 \pm 0,6	10,3 \pm 0,0
Etil stearat	2176	47,4 \pm 1,9	15,3 \pm 0,3	15,4 \pm 0,7	17,5 \pm 0,1	18,1 \pm 0,7	11,5 \pm 0,5	11,5 \pm 0,1	9,9 \pm 0,2	9,5 \pm 0,1

*RI – retencijski indeks; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja

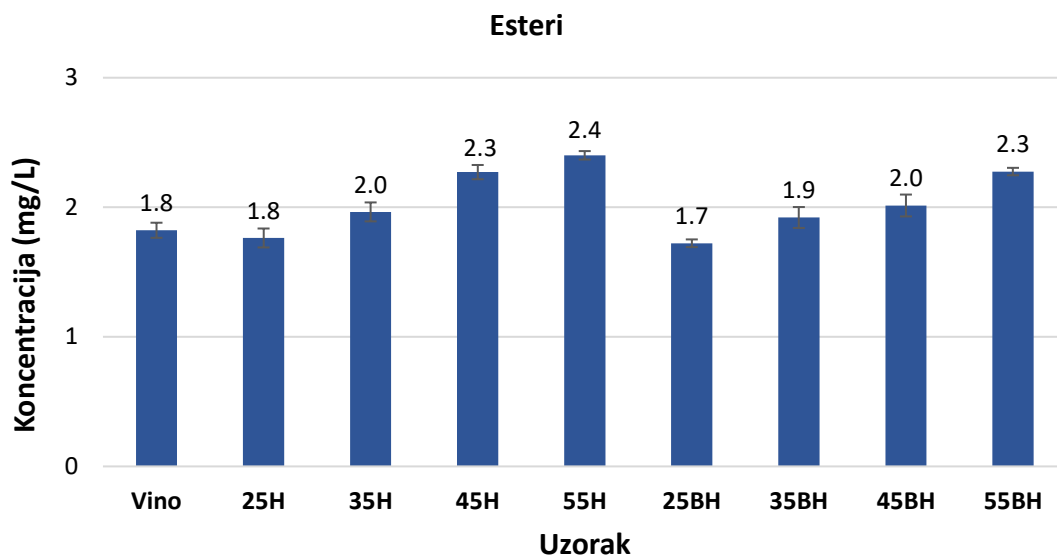
4.2. GRAFIČKI PRIKAZI ANALIZOM DOBIVENIH REZULTATA



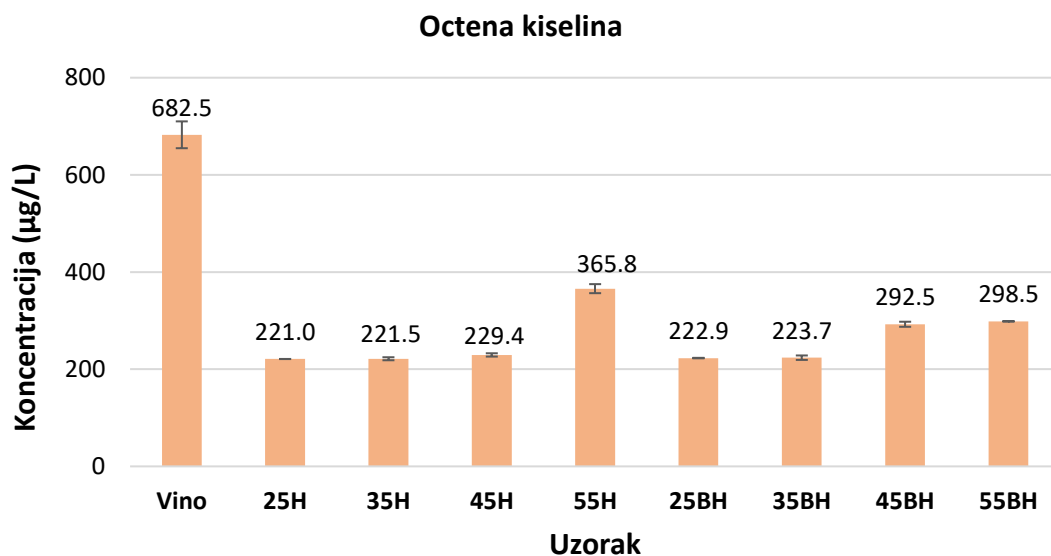
Slika 9 Zadržavanje kiselina (bez octene kiseline) u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije pri tlaku 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom (H) i bez primjene hlađenja (BH)



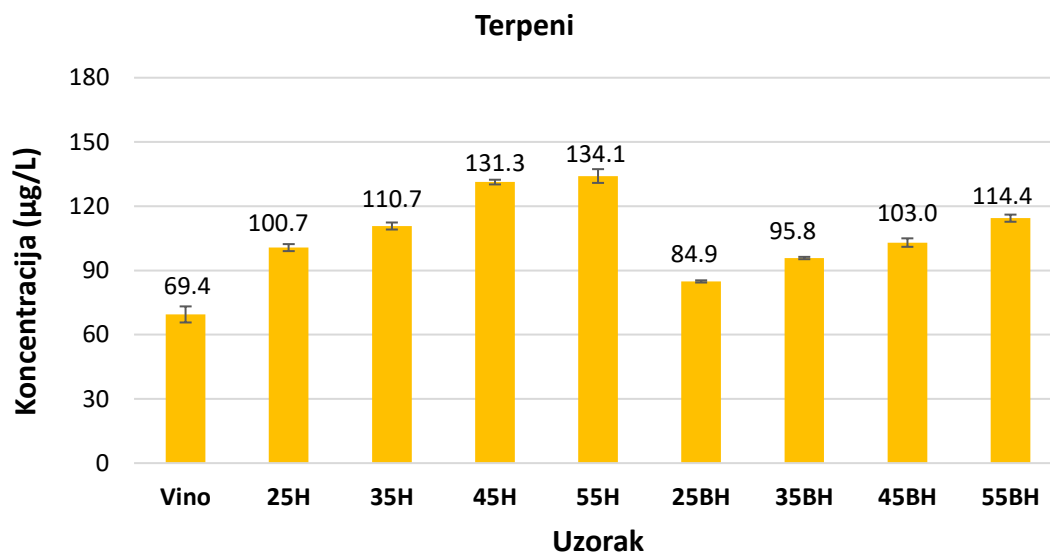
Slika 10 Zadržavanje alkohola u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije pri tlaku 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom (H) i bez primjene hlađenja (BH)



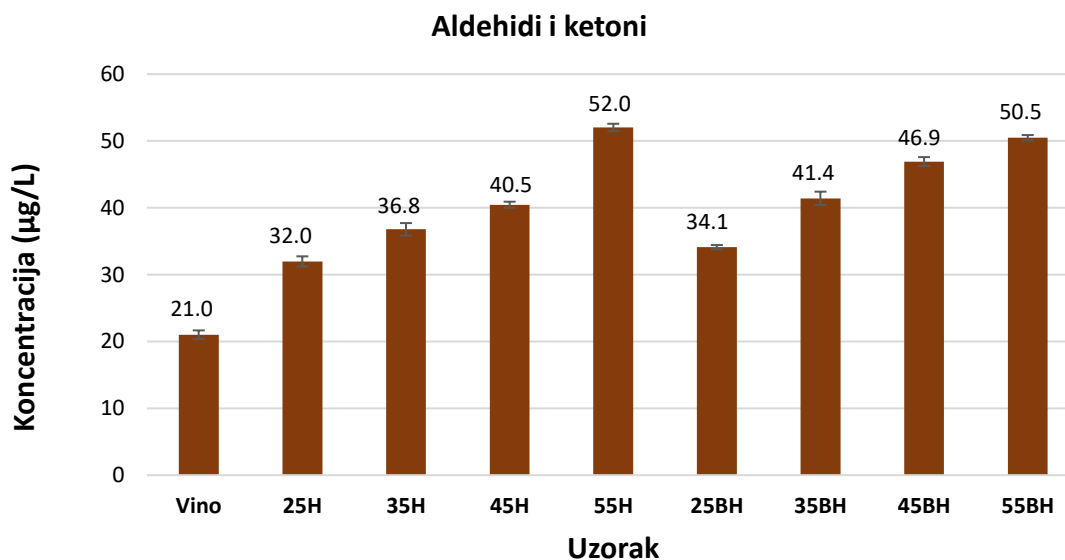
Slika 11 Zadržavanje estera u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije pri tlaku 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom (H) i bez primjene hlađenja (BH)



Slika 12 Zadržavanje octene kiseline u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije pri tlaku 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom (H) i bez primjene hlađenja (BH)



Slika 13 Zadržavanje terpena u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije pri tlaku 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom (H) i bez primjene hlađenja (BH)



Slika 14 Zadržavanje aldehida i ketona u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije pri tlaku 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom (H) i bez primjene hlađenja (BH)

5. RASPRAVA

Koncentriranje voćnih sokova uparavanjem predstavlja jedan od procesa konzerviranja u prehrambenoj industriji koji se upotrebljava već dugi niz godina. Uz mnogobrojne prednosti jedan od najvećih nedostataka ovog procesa je značajan gubitak arome. Stoga se provode mnogobrojna istraživanja kako bi se primijenili drugi postupci koncentriranja i mogući gubitci sveli na minimum. Neki od alternativnih postupaka koncentriranja su koncentriranje zamrzavanjem, pervaporacija i membranski procesi.

Predmet istraživanja ovog diplomskog rada bio je ispitati i utvrditi mogućnost primjene membranskog procesa nanofiltracije u svrhu koncentriranja vina Cabernet Sauvignon do najvećeg udjela suhe tvari kojega je moguće postići navedenim postupkom uz minimalnu degradaciju visokokvalitetnih sastojaka vina. Rezultati istraživanja utjecaja koncentriranja membranskim procesom nanofiltracije na sadržaj tvari arome vina Cabernet Sauvignon prikazani su u **Tablicama 2, 3, 4, 5 i 6** te na **Slikama 9, 10, 11, 12 13 i 14**.

Aromu vina čini niz spojeva različitih vrsta i koncentracija koji nastaju u grožđu tijekom zrenja, a još više tijekom fermentacije i starenja. To su različiti esteri, viši alkoholi, masne kiseline, aldehidi, ketoni, terpeni i drugi spojevi. Kombinacija različitih aromatskih tvari važna je za oblikovanje okusa vina te se po istom ona razlikuju. Većina se aromatskih tvari iz grožđa izgubi tijekom prerade, tako da se glavnina arome oblikuje tijekom fermentacije i odležavanja vina. Viša temperatura fermentacije će proizvesti više estera tijekom proizvodnje vina. Aroma ima značajnu ulogu u kakvoći vina, a hlapive komponente su odgovorne za miris vina. Iz tog razloga jako je važno razumjeti doprinos svake komponente arome na kakvoću vina. Dobro poznavanje ključnih aromatičnih sastojaka može poboljšati tehnologiju prerade i konačnu kakvoću vina.

Kao što se može vidjeti iz **Tablica 2-6** i **Slika 9-14**, u vinu i koncentratima vina identificirano je četrdeset i šest aromatičnih spojeva. Radi boljeg prikaza pojedinih identificiranih aromatičnih sastojaka, sastojci su podijeljeni u pet skupina. To su esteri, kiseline, alkoholi, aldehidi i ketoni te terpeni.

Od hlapivih kiselina u analiziranim vinima identificirane su octena, oktanska, dekanska, laurinska, miristinska i palmitinska kiselina (**Tablica 2**). Octena kiselina je jednobazična kiselina, redovit je sastojak vina, jer u njemu nastaje kao sekundarni proizvod alkoholne fermentacije (dismutacijom acetaldehida i aktivnošću kvasca alkoholnog vrenja) kao sporedni produkt

alkoholnog vrenja, odnosno aktivnošću bakterija octenog vrenja, pri čemu se nastali etanol oksidira. Octenu kiselinu stvaraju i hetero-fermentativne bakterije mliječno kiselog vrenja. Koliko će se u vinu stvoriti octene kiseline, ovisi o zdravstvenom stanju osnovne sirovine grožđa i sadržaja šećera u njemu, vrste kvasca koja obavlja vrenje i brojnih drugih uvjeta prerade i njege (temperatura, aeracija u tijeku prerade, koja je veća kad se prerađuje crno grožđe, vrste posuđa itd.). Octena kiselina čini i do 99% od svih hlapivih kiselina vina zajedno. Sve nabrojane masne kiseline čine bitnu komponentu arome vina. Pojedinačne koncentracije ovih kiselina u vinu uglavnom ne prelaze senzorske pragove, ali u interakciji s drugim hlapivim komponentama pozitivno utječu na njegove aromatske karakteristike (Rankie i sur., 1969).

Općenito, sadržaj hlapivih kiselina u svim koncentratima veći je u odnosu na početni uzorak vina, osim u slučaju koncentrata dobivenim pri tlaku od 25 bara s hlađenjem (**Slika 9**). Primjena visokog tlaka, kao i temperaturnog režima, podjednako utječe na povećanje sadržaja kiselina u odnosu na početni uzorak vina.

Alkoholi su aromatični spojevi koji nastaju kao sekundarni produkti metabolizma kvasca. U ispitivanom vinu i koncentratima identificirano je devet alkohola (**Tablica 3**). Najviše koncentracije imali su izoamil alkohol, 1-butanol i fenetil alkohol. Na **Slici 10** prikazano je zadržavanje alkohola u koncentratima vina Cabernet Sauvignon dobivenim nanofiltracijom pri različitim procesnim uvjetima. Vrijednosti su se kretale u rasponu od 12,2 mg/L (najviše alkohola) u koncentratu dobivenom primjenom tlaka od 55 bara s hlađenjem pa do 5,9 mg/L (najmanje alkohola) u koncentratu dobivenom primjenom tlaka od 25 bara bez hlađenja. Početni uzorak vina imao je 7,3 mg/L viših alkohola. Oktanol (aroma naranče i ruže) identificiran je u vinu i svim koncentratima (**Tablica 3**).

Karbonilni spojevi, odnosno aldehidi i ketoni, u vinu nastaju u manjim količinama te nemaju važnu ulogu u stvaranju sortnih aroma. U vinu te svim koncentratima ukupno su nađena četiri različita aldehida i ketona, od toga najviše u koncentratu dobivenom pri tlaku od 55 bara s hlađenjem (52 µg/L). Hlađenje nije utjecalo na veće zadržavanje karbonilnih spojeva u retentatu pri istom primijenjenom tlaku, a u svim koncentratima prisutna je veća koncentracija karbonilnih spojeva u odnosu na početni uzorak vina (**Tablica 4**).

Esteri su produkti reakcije acetil-CoA s višim alkoholima koji nastaju degradacijom aminokiselina ili ugljikohidrata. U **Tablici 6** i na **Slici 11** prikazano je zadržavanje estera u koncentratima vina Cabernet Sauvignon procesom nanofiltracije. Može se primijetiti kako su etil-esteri masnih kiselina više prisutni od estera viših alkohola. To su etil acetat, etil dekanat, etil laurat, etil palmitat, etil oleat, etil stearat. Veća prisutnost gore navedenih estera ukazuje na voćni miris analiziranog vina i vinskih koncentrata. Etil acetat najviše utječe na ukupnu mirisnu notu te daje voćni miris.

Početni uzorak vina i svi koncentri sadržavali su sve nađene estere, gdje su najveću koncentraciju imali dietil sukcinat i etil oktanoat, a svoj udio u ukupnoj aromi dali su i esteri uljnih, mednih i voštanih aroma (etil miristat, etil palmitat, etil linoleat, etil oleat i dr.). Primjenom većih procesnih tlakova, u procesima s hlađenjem i bez hlađenja, postiže se podjednako zadržavanje estera. Najveće zadržavanje (2,4 mg/L) postignuto je u koncentratu dobivenom pri 55 bara bez hlađenja.

Terpeni su kemijski spojevi karakteristični za aromatske sorte i glavni su nositelji primarnih ili sortnih aroma. Koncentracija tih sastojaka u vinu pored toga ovisna je još i o tehnološkom postupku prerade i njege vina, te većem broju drugih čimbenika kao što su maceracija, ekstrakcija, hidroliza, oksidacija, uporaba bentonita i pektolitičkih enzima.

Sadržaj pojedinih terpenoida nađenih u vinu i koncentratima prikazan je u **Tablici 5**. Na **Slici 13** prikazano je zadržavanje terpenoida u vinskih koncentratima dobivenim nanofiltracijom pri različitim procesnim uvjetima. Kao i kod prethodno komentiranih aromatičnih sastojaka, pri istom procesnom tlaku (55 bara) procesi s hlađenjem su bolji u smislu većeg zadržavanja terpenoida. Svih pet terpena daju svjež, cvjetne mirise. β -damascenon daje određenu mirisnu notu ruže, a ostali sudjeluju u stvaranju mirisne note proljetnog cvijeća.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovi dobivenih rezultata i provedene rasprave u ovom diplomskom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- U istraživanju ispitivan je proces nanofiltracije vina Cabernet Sauvignon primjenom različitih procesnih tlakova i temperaturnih režima.
- Koncentriranje vina Cabernet Sauvignon membranskim postupkom nanofiltracije bilo je moguće provesti do određenog udjela topljive suhe tvari. Kod nanofiltracije vino je koncentrirano do najviše 22,9% udjela topljive suhe tvari.
- U provedenom postupku na zadržavanje tvari arome dobivenih vinskih koncentrata značajan utjecaj su imali primijenjeni procesni parametri, tlak i temperatura.
- Tijekom koncentriranja vina Cabernet Sauvignon pri različitim procesnim uvjetima dolazi do određenog gubitka aromatičnih spojeva. U većini slučajeva pri većem procesnom tlaku i u postupcima s hlađenjem je veće zadržavanje pojedine skupine aromatičnih spojeva u odnosu na postupke bez hlađenja.
- Procesi koncentriranja s hlađenjem zadržali su više hlapivih spojeva od onih bez hlađenja pri istim tlakovima. Također, nešto bolje zadržavanje dobiveno je pri većim tlakovima.
- S obzirom na postignuti udio suhe tvari, nanofiltracija se može primijeniti kao predkoncentracijski postupak.

7. LITERATURA

- Andabak: Utjecaj fermentacijske posude na aromatski profil i boju vina sorte plavac mali. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2017.
- Grenier A, Meireles M, Aimar P i Carvin P: Analysing flux decline in dead-end filtration. *Chemical Engineering Research and Design* 86:1281-1293, 2008.
- Higson S: *Analytical Chemistry*. OXFORD University Press, 2004.
- Horvat B: Od berbe do mladog vina. *Gospodarski list*; prilog prema knjizi Zoričić M: Domaće vino. Novinarsko nakladničko i trgovačko d.d., Zagreb, 2010.
- Kontrec M.: *Utjecaj načina berbe grožđa na tijek fermentacije i kvalitetu crnih vina*, Osijek, 2017.
- Kucera J.: Membrane materials and module development, historical perspective. U Hoek EM i Tarabara V: *Encyclopedia of Membrane Science and Technology*. John Wiley & Sons Inc., Hoboken, New Jersey, USA, 2013.
- Licul R i Premužić D: *Praktično vinogradarstvo i podrumarstvo*. Znanje, Zagreb, 1977.
- Lovrić T: *Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva*. Hinus, Zagreb, 2003.
- Maletić E, Karaglan Kontić J i Pejić I: *Vinova loza; ampelografija, ekologija, oplemenjivanje*. Školska knjiga, Zagreb 2008.
- Matsuura T: *Synthetic Membranes and Membrane Separation Processes*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 1994.
- Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva: Zakon o vinu (Narodne novine br. 32/2019), 2019.
- Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnoga gospodarstva: *Pravilnik o proizvodnji vina* (NN 2/2005), 2005.
- Molnar J: Utjecaj ranije zaustavljene alkoholne fermentacije na aromatski profil i boju vina sorte Cabernet Sauvignon. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2017.
- Moreno J i Peinado R: *Enological chemistry*. Academic Press, Boston, 2012.
- Moslavac T: Koncentriranje model otopina alkohola, estera i aldehida reverznom osmozom. *Doktorski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2003.
- Mulder M: *Basic principles of membrane technology*. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Boston, 1996.
- Pawliszyn J: *Handbook of SPME*. Chemical Industry Press, Beijing, 2009.

- Pichler A: Utjecaj dodataka i skladištenja na kvalitetu, reološka i termofizikalna svojstva paste od maline. *Doktorski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2011.
- Pichler A: Tehnologija vina. *Nastavni materijali*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2016.
- Popović: Utjecaj koncentriranja membranskim procesima na tvari boje i arome soka od aronije. *Doktorski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2019.
- Pozderović A: Membranski procesi. U *Prehrambeno inženjerstvo*. Prehrambeno-tehnološki fakultet u Osijeku, 2011.
- 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.
- Ribereau-Gayon P, Glories Y, Maujean A i Dubourdieu D: *Handbook of enology: the chemistry of wine*. Wiley, Francuska, 2006.
- Rukavina J: Zadržavanje tvari boje i arome u soku od aronije tijekom koncentriranja nanofiltracijom. *Diplomski rad*. Prehrambeno tehnološki fakultet u Osijeku, 2016.
- Schmeling N, Konietzny R, Sieffert D, Rölling P i Staudt C: Functionalized copolyimide membranes for the separation of gaseous and liquid mixtures. *Beilstein Journal of Organic Chemistry* 6:789-800, 2010.
- Skoog DA, West DM i Holler F J: *Osnove analitičke kemije*. 1st edition. Školska knjiga, Zagreb, 1999.
- Skoog DA, West DM, Holler FJ i Crouch SR: Gas Chromatography. U Simpson C, Kiselica S, Landsberg A i Berardy Schwartz R: *Fundamentals of Analytical Chemistry*. Belmont, CA, Mary Finch, 2014.
- Tsibranska IH i Tylkowski B: Concentration of ethanolic extracts from *Sideritis* ssp. L. by nanofiltration: Comparison of dead-end and cross-flow modes. *Food and Bioproducts Processing* 91:169-174, 2013.
- Vas G i Vékey K: Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *Journal of Mass Spectrometry* 39:233-54, 2004.
- Vrdoljak I: Utjecaj membranske filtracije na aromu i kemijski sastav vina sorte Graševina. *Diplomski rad*. Prehrambeno tehnološki fakultet u Osijeku, 2009.
- Zoričić M: *Podrumarstvo*. Globus, Zagreb, 1996.

web izvori:

web 1

http://studenti.ptfos.hr/Diplomski_studij/Tehnologija_vina/Tehnologija_vina/Tehnologija_vina/Tehnologija_vina/proizvodnja%20crnih%20vina.pdf [4.7.2020]

web 2

<http://www.smartmembranesolutions.co.nz/membrane-classifications/> [8.7.2020]

web 3

http://free-zg.t-com.hr/Svjetlana_Luterotti/09/091/0912.htm [10.9.2020]

web 4

<http://genderi.org/doktorski-rad.html?page=3> [10.9.2020]