Utjecaj koncentriranja membranskim procesom reverzne osmoze na tvari arome vina Cabernet Sauvignon

Bošnjak, Martina

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:109:045176

Rights / Prava: Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Martina Bošnjak

UTJECAJ KONCENTRIRANJA MEMBRANSKIM PROCESOM REVERZNE OSMOZE NA TVARI AROME VINA CABERNET SAUVIGNON

DIPLOMSKI RAD

Osijek, listopad 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 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Tehnologija vina
Tema rada je prihvaćena na VII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2019./2020. održanoj 27. svibnja 2020.
Mentor: izv. prof. dr. sc. *Anita Pichler*
Pomoć pri izradi: *Ivana Ivić*, mag. ing.

Utjecaj koncentriranja membranskim procesom reverzne osmoze na tvari arome vina Cabernet Sauvignon

Martina Bošnjak, 0113139405

Sažetak:
U svrhu koncentriranja, vina se često podvrgavaju membranskoj filtraciji, naročito reverznoj osmozi (RO). Membrane za RO su selektivne te propuštaju uglavnom samo vodu, etanol te dio kiselina manjih molekulskih masa, zadržavajući pri tome tvari arome i boje u koncentratu. Cilj ovog diplomskog rada je bio ispitati utjecaj koncentriranja crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom pri četiri različita tlaka (25, 35, 45 i 55 bara), s primjenom i bez primjene hlađenja. Koncentriranje je provedeno na membranskom filteru s pločastim modulom opremljenim s RO98pHt membranama. Tvari arome u početnom uzorku vina i dobivenim koncentratima analizirane su na plinskom kromatografu s masenim spektrometrom. Rezultati su pokazali da su viši tlakovi (45 i 55 bara) pogodovali zadržavanju aromatičnih spojeva u koncentratima vina. Uz to, sniženje temperature (procesi s hlađenjem) smanjilo je gubitke hlapljivih spojeva. To je rezultiralo povećanjem udjela aromatičnih spojeva u koncentratima u odnosu na početni uzorak vina, posebice u koncentratu dobivenom reverznom osmozom pri 55 bara s primjenom hlađenja. Najmanje zadržavanje hlapljivih spojeva zabilježeno je u koncentratu pri 25 bara bez primjene hlađenja.

Ključne riječi: aroma, reverzna osmoza, zadržavanje, tlak, temperatura

Rad sadrži: 65 stranica
17 slika
8 tablica
0 priloga
50 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

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

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

Datum obrane: 28. listopada 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 Osijek
Subdepartment of Food Engineering
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program Food Engineering

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Wine technology
Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VII. held on May 27, 2020.
Mentor: *Anita Pichler*, PhD, associate prof.
Technical assistance: *Ivana Ivić*, mag. ing.

The Influence of Concentration with a Membrane Process of Reverse Osmosis on the Aroma Compounds of Cabernet Sauvignon Wine

Martina Bošnjak, 0113139405

Summary:
Concentration of wine is usually conducted by membrane filtration, especially by reverse osmosis (RO). RO membranes are selective and permeate mainly water, ethanol and some low-molecular weight acids, while retaining aroma and colour compounds in the concentrate. The aim of this thesis was to determine the influence of Cabernet Sauvignon red wine concentration by reverse osmosis at four different pressures (25, 35, 45 and 55 bar), with and without the application of cooling. Concentration was performed on a membrane filter with a plate-and-frame module equipped with RO98pHt membranes. The aroma substances in the initial wine and the obtained concentrates were analyzed on a gas chromatograph with a mass spectrometer. The results showed that higher pressures (45 and 55 bar) favored the retention of aromatic compounds in wine concentrates. In addition, lowering the temperature (cooling regime) reduced the losses of volatile compounds. This resulted in an increase of aroma compounds content in the wine concentrates, comparing to the initial wine, especially in concentrate obtained by reverse osmosis at 55 bar with the application of cooling. The lowest retention of volatile compounds was recorded in concentrate obtained at 25 bar when cooling was not applied.

Keywords: aroma, reverse osmosis, retention, pressure, temperature

Thesis contains:
65 pages
17 figures
8 tables
0 supplements
50 references

Original in: Croatian

Defense committee:

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

Defense date: October 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.

Neizmjerno hvala mojim roditeljima Anti i Katici koji su mi omogućili školovanje i svojom požrtvovnošću i mukom pokazali da put do ostvarenja životnog cilja nije lagan, ali su plodovi toga rada i muke isplativi i slatki. Zahvaljujem sestri Ceciliji i braći Gabrijelu i Rafaelu koji su mi kroz cijelo školovanje bili jedna velika podrška, koji su mi kroz zajedništvo i ljubav davali poticaj i pokazali razumijevanje, pružali riječi ohrabrenja kod svake manje ili veće prepreke te dijelili iskusne i dobre savjete.

Veliko hvala i mužu Davorinu koji mi je zadnju akademsku godinu učinio ujedno i najljepšom godinom, koji me bodrio, razumio, bio mi podrška i slušao moje posljednje fakultetske muke.

Zahvaljujem svim prijateljima koji su mi studentsko razdoblje obogatili uspomenama i sjećanjima koji će se pamtiti cijeli život.

Zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Aniti Pichler i asistentici Ivani Ivić na poticaju, strpljenju, uloženom trudu, vremenu, te velikodušnoj i nesebičnoj pomoći oko izrade diplomskog rada. Zahvaljujem i tetama iz referade: Renati i sada umirovljenoj Jasni koje su nam svojom vedrinom, ljubaznošću i toplim riječima uljepšale i olakšale ponekad teške i stresne studentske dane.

Za kraj, zahvaljujem i dragom Bogu na putu i pozivu koji mi je pokazao. Za svaku osobu koju mi je u tom razdoblju poslao i obogatio me lijepim prijateljstvima. Za svaki put kada mi je pružio ruku i dao mi snage i hrabrosti za dalje. Za sve ono što sam mislila da je mojim snagama nemoguće učiniti, On je pokazao da je s Njim sve moguće.

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 8
2.2.1. Definicija i podjela vina 8
2.2.2. Sorte grožđa za proizvodnju vina 11
2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA 14
2.3.1. Alkoholi 14
2.3.2. Ugljikohidrati 15
2.3.3. Kiseline 16
2.3.4. Aldehidi i ketoni 20
2.3.5. Esteri 21
2.3.6. Tvari arome 22
2.3.7. Fenolni spojevi 23
2.3.8. Enzimi 26
2.3.9. Mineralne tvari 26
2.3.10. Ekstrakt vina 27
2.3.11. Dušične tvari 27
2.3.12. Proteini 28
2.3.13. Koloidi 28
2.4. MEMBRANSKI PROCESI 29
2.4.1. Vrste membranskih procesa 30
2.4.2. Vrste membrana 36
2.4.3. Vrste modula 38
3. EKSPERIMENTALNI DIO 41
3.1. ZADATAK 42
3.2. MATERIJALI I METODE 42
3.2.1. Priprema koncentriranog vina Cabernet Sauvignon 42
3.2.2. Analiza tvari arome 43
4. REZULTATI 47
4.1. TABLIČNI PRIKAZI REZULTATA 48
4.2. GRAFIČKI PRIKAZI REZULTATA 51
5. RASPRAVA 54
6. ZAKLJUČCI 59
7. LITERATURA 61

Popis oznaka, kratica i simbola

MF	mikrofiltracija
NF	nanofiltracija
NN	Narodne novine (službeno glasilo RH)
RO	reverzna osmoza
UF	ultrafiltracija
SPME	tehnika mikroekstrakcije na čvrstoj fazi

1. UVOD

Da se povijest vina proteže u daleku povijest, može nam posvjedočiti Biblija koju se smatra prvim pisanim dokumentom iz vinogradarstva (Pichler, 2019). Vinova loza, *lat. Vitis vinifera* ponosi se svojom raskošnom i bogatom građom. Široki i veliki listovi čine ju oku privlačnom, a sočni, bobičasti grozdovi ustima primamljivom. Mnogobrojne su sorte grožđa za proizvodnju vina, a jedna od najpoznatijih sorti crnog grožđa je križanac Cabernet Franca i Sauvignona bijelog - Cabernet Sauvignon. Već 1880. godine došavši iz Francuske, Cabernet Sauvignon svoje je korijene pustio i na hrvatskom tlu i to prvo na bogato istarsko tlo. Za vrijeme idealnih uvjeta dozrijevanja male, tamno crne bobice su vrlo aromatične. Bogat je taninima, a pulpa šećerom i kiselinama pa je stoga odlična sorta za proizvodnju različitih vina (Molnar, 2017).

Na kakvoću vina utječu mnogi čimbenici od kojih vodeću ulogu igra raznolik kemijski sastav koji potječe već od same sirovine, odnosno grožđa. Proizvodnja aromatičnih tvari je složen proces koji počinje već u grožđu, masulju i moštu, zatim slijedi alkoholna fermentacija te dozrijevanje i odležavanje. Određene mikro- i makromolekule međusobnim interakcijama kroz različite metaboličke puteve uz pomoć enzima, ali i interakcijama s dodirnim površinama, produciraju tvari koje daju vinu specifičnu aromu. Aroma bitno utječe na organoleptička svojstva vina te konzumentu daje jasniji prikaz okusa i mirisa.

Membranski procesi se temelje na uporabi semipermeabilnih membrana pomoću kojih propuštaju, odnosno zadržavaju određene molekule i ioni. Reverzna osmoza je membranski proces kojim se kroz membranu propušta otapalo, a na membrani zadržavaju organske i anorganske molekule. Membrane propuštaju otapalo procesom otapanja i molekularne difuzije kroz homogenu polimernu fazu, a otopljene tvari zaostaju na membrani zbog smanjene topljivosti u odnosu na otapalo ili difundiraju sporije od otapala kroz membranu. Budući da te tvari na membrani razvijaju visoki osmotski tlak, potrebno je koristiti visoki radni tlak (30 do 120 bara) za svladavanje osmotskog.

Cilj ovog rada je ispitati utjecaj membranskog procesa reverzne osmoze na zadržavanje tvari arome vina Cabernet Sauvignon pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom i bez primjene hlađenja.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. GROŽĐE

2.1.1. Podrijetlo i botanička svojstva vinove loze

Vinova loza *lat. Vitis vinifera*, jedna je od najstarijih uzgajanih kultura koja se kroz stoljeća suočila s raznim promjenama. Rod *Vitis* je velik i rasprostranjen, sadržava nekoliko desetaka vrsta od kojih je više od polovice vezano za Sjevernu Ameriku, a ostali, s izuzetkom *Vitis vinifere*, za istočnu Aziju.

Vitis vinifera jedini je predstavnik roda *Vitis n*a području Europe i zapadne Azije te se još naziva euroazijska loza. Samo pripadnici ove vrste mogu nositi naziv vinova loza (Maletić i sur., 2008). Gledano s botaničke strane, pripada porodici *Ampelidae*, odnosno *Vitacea*e, a karakteriziraju je povijuše vitkog stabla koje se svojim viticama penju uz oslonac ili pužu po zemlji. Cvjetovi mogu biti jednospolni ili dvospolni, te skupljeni u cvat ili grozd. Plod im je bobica zelenkaste, ružičaste ili modro plave boje.

Porodica *Ampelidae* svoju raskoš pokazuje kroz 10 rodova i preko 600 vrsta, od kojih je najpoznatiji i najznačajniji rod *Vitis*, kako za vinogradarstvo, tako i za znanost. Rod *Vitis* dijeli se u dva podroda: *Muscadina* i *Euvitis. Muscadini* pripadaju vrste *Vitis rotundifolia* i *Vitis munsonian* dok podrod *Euvitis* čini 30 američkih, 40 azijskih i 1 euroazijska vrsta. Od azijskih vrsta najvažnija je *Vitis amuransis* jer podnosi vrlo niske temperature (- 40 °C) i zbog toga se koristi za dobivanje sorti otpornih na zimu. Druge azijske vrste se pretežno koriste kao ukrasne biljke. Američke vrste važne su uglavnom one koje se same ili u obliku hibrida koriste kao podloge za europsku vinovu lozu, a tri najvažnije su: *Vitis riparia*, *Vitis rupestris* i *Vitis berlandieri.*

Euroazijska *Vitis vinifera* dijeli se na:

- europsku divlju lozu (*Vitis vinifera* var. *silvestris*) - malog grozda, sitnih bobica, većinom crne boje;
- europsku kulturnu lozu (*Vitis vinifera* var. *sativa*) - dvospolnog cvijeta, krupnih grozdova i velikih bobica visoke kvalitete (Licul i Premužić, 1997).

Sorte vinove loze koje se koriste za proizvodnju vina moraju pripadati vrsti *Vitis vinifera* ili njezinim križancima s drugim vrstama roda *Vitis* (NN, 32/19). Tako nastaju hibridi: američko – američki hibridi, europsko – američki i kompleksni, a koji mogu biti dobiveni namjerno ili

nastaju slučajnim oprašivanjem te se lako prilagođavaju različitim klimatskim uvjetima i znatno su otporniji na bolesti poput filoksere, peronospore i pepelnice (Zorčić, 1996; Prce, 2014).

2.1.2. Mehanička i kemijska svojstva

Mehanički sastav podrazumijeva količinu pojedinih dijelova grozda kao što su peteljka, pokožica, sjemenke i meso bobice, a postotni udio nekih određenih dijelova iznimno je bitan za količinu i kvalitetu. Takva struktura daje mu karakteristično tehnološko obilježje. Udio pojedinih dijelova je za svaku sortu vinove loze drugačiji i u ovisnosti je o mnogim čimbenicima kao što su: klimatski uvjeti, podneblje, vrsta tla, zemljišni uvjeti (naročito od gnojidbe i uporabe fitofarmaceutskih sredstava), zdravstveno stanje loze i grožđa te stupanj zrelosti (Paunović i Daničić, 1976).

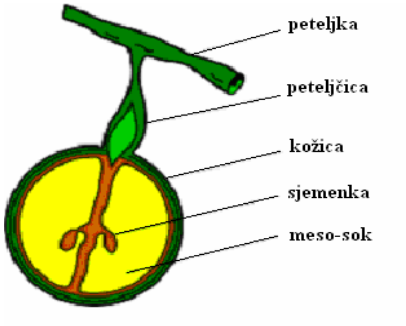
Grozd se sastoji od peteljkovine koju čine peteljka s peteljčicama i bobicama. Peteljka predstavlja kostur grozda; sastoji se od glavne osi i ogranaka, a završava s peteljčicom koja do oplodnje nosi cvijet, a nakon toga bobicu. U bobici se dalje nastavlja snopom poput metlica ili četkica pa tako bobicu opskrbljuju hranjivim tvarima.

U stadiju pune zrelosti zdravog grožđa, **peteljka** uzima 3 - 8%, a bobice 92 - 97% ukupne težine grozda. Duljina peteljčice je značajna jer određuje tip grozda. Kod dugih peteljčica bobice su razmaknute jedna od druge, a grozdovi rastresiti što je odlika stolnog grožđa, a kod kratkih peteljčica su zbijeni grozdovi koji karakteriziraju vinske kultivare (Paunović i Daničić, 1976).

Tijekom vegetacije peteljka je zeljasta i provodi hranjive tvari iz mladice i lista u bobicu. Krajnji oblik peteljka postiže u fazi šaranja bobica, gubi klorofil, ali ostaje zelena i nakon što grožđe sazrije. Udio peteljke kod vinskih sorti je 2 – 8%, a kod stolnih sorti može biti 1,5%. Iskorištenje grozda je obrnuto proporcionalno udjelu peteljke. Ona kemijskim sastavom bitno utječe na kakvoću mošta, a time i konačnog proizvoda tj. vina. Siromašna je šećerom, niska kiselost očituje se kroz pH vrijednost koja se kreće iznad 4. Mineralne tvari obuhvaćaju 5 do 6% suhe tvari, od čega polovinu čini kalij. Bogata je polifenolima (osobito kod crnih sorti). Ukoliko se peteljka ne odvaja, u budućem vinu može doći do povećanja ukupne količine polifenola, naročito tanina čija se količina može povećati i do 25% (Paunović i Daničić, 1976).

Najzastupljeniji polifenol u peteljci je leukocijanidol koji je ekstrahiran iz peteljke bijelog grožđa i značajan je za formiranje okusa. Vrlo važan sastojak peteljke su i tanini. Najznačajniji predstavnici zelenih tanina su procijanidini iz skupine leukoantocijana čije su molekule više ili manje polimerizirane. Stupanj polimerizacije se veže uz gorčinu koja ima utjecaj na okus budućeg vina. Korištenjem strojeva za preradu grožđa, koji lome i gnječe peteljku, pojedine tvari više ili manje iz peteljke prelaze u vino. Takva vina su opora, gorka i zelena te je to razlog da se prilikom prerade grožđa treba voditi računa o što manjem oštećenju peteljke (Sokolić, 1976).

Bobica, kao glavni i najvažniji dio grozda, čini od 92 do 97% grozda. Tijekom vegetacije kod većine sorti je zelene boje i obavlja fotosintezu. Šaranjem grožđa zelena boja se polako gubi i prelazi u zeleno žutu, crvenkastu ili tamno crvenu boju čiji se intenzitet povećava približavanjem stadiju pune zrelosti. Bobice se razlikuju po obliku, veličini, boji, krupnoći te većoj ili manjoj zbijenosti na grozdu. Težina bobica u grozdu se povećava tijekom vegetacije i najveću vrijednost doseže u stadiju pune zrelosti. Završetkom ove faze dolazi do promjene odnosa, prestaje dotok hranjivih tvari kroz odrvenjelu peteljku, isparavanjem se gubi dio vode, a samim time se smanjuje težina bobica. Na promjenu odnosa težine bobica i peteljke može utjecati i veći priljev vode u stadiju pune zrelosti grožđa, kao i za vrijeme elementarnih nepogoda (tuče).



Slika 1 Presjek bobice grožđa s peteljkom i peteljčicom (Molnar, 2017)

Bobicu čini sjemenka (3 – 5%), kožica (7 – 10%) i meso s grožđanim sokom (75 – 85%). Odnos navedenih dijelova je različit kod različitih sorti, ali se može razlikovati i kod istih sorti, ovisno o vremenskim prilikama, naročito u vrijeme cvatnje, oplodnje, razvoja i dozrijevanja bobica (Paunović i Daničić, 1976).

Sjemenka se sastoji od masne jezgre, koju okružuje drvena ljuska prekrivena taninskom kutikulom. U njoj se nalazi najviše sastojaka potrebnih za ishranu klice. Uz vodu i ugljikohidrate (najviše celuloze), u kemijskom sastavu sjemenke ima najviše eteričnog ulja (16%). Ulje sadrži 65 do 70% linoleinske kiseline i 0,1% tokoferola. Od čvrstih dijelova grozda, najviše tanina je sadržano u sjemenci (3 – 6%). Sazrijevanjem grožđa sadržaj taninskih spojeva opada. Tanini se nalaze u vanjskom dijelu sjemenke (taninska kutikula) i prelaze u vino tijekom maceracije. Tehnološki postupak proizvodnje vina, osobito crnih, dužinom vrenja masulja utječe na ekstrakciju tanina. Neki od sastojaka kutikule sjemenke, fenolni sastojci, dušični spojevi i fosfati, djelomično su topivi u procesu vinifikacije (naročito kod crnih vina). Zbog toga je vrlo važno voditi računa o intenzitetu gnječenja grožđa prilikom prerade. U koliko se sjemenka ošteti, dolazi do ekstrakcije tanina i u konačnici se dobiju opora i gorka vina. Svaka bobica može imati 2 do 7 sjemenki. Uslijed nepotpune oplodnje broj sjemenki kod pojedinih sorti taj broj varira. Postoje i besjemene sorte, a namijenjene su za sušenje (grožđice) i za jelo u svježem stanju (stolno grože). Razvoj i veličina sjemenke utječe na veličinu i sastav bobice, a broj sjemenki je međuovisan s težinom bobica, sadržajem šećera i kiselina (Paunović i Daničić, 1976).

Kožica predstavlja vanjski omotač bobice i sastoji se od 6 do 10 slojeva stanica. Stanice su manje na vanjskom dijelu, povećavaju se prema unutrašnjosti. Zahvaljujući elastičnosti stanične stjenke tijekom rasta i sazrijevanja kožica povećava svoj volumen. U stadiju pune zrelosti postotni udio kožice iznosi 8 do 11% težine bobica. Epiderma se sastoji iz jednog sloja stanica i prekrivena je kutikulom. Kutikula je važna za burnu fermentaciju, oslobađajući ekstrakte voska i oleinsku kiselinu ubrzava rast kvasca. Oštećenjem epiderme povećava se udio šećera, opada elastičnost i bobica puca. Kožica je prekrivena slojem purina koji predstavlja voštani sloj koji daje bobici baršunast izgled. Purin na kožici sadrži mikrofloru bobice – mikroorganizme: kvasce i bakterije koje su donijeli vjetar i kukci. Voštani sloj pretežno čini oleinska kiselina, a ostatak čine esteri masnih kiselina i aldehidi. Voštana prevlaka sprečava prodiranje vode i čuva bobicu od evaporacije, a dozrijevanjem njena propusnost opada. (Paunović i Daničić, 1976; Zoričić, 1996). Kožica ima mali sadržaj šećer, dok meso sadrži 140 do 170 g šećera. Bogata je celulozom, proteinima i netopljivim pektinima, polifenolima, a sadrži i taninske spojeve čija se količina može smanjiti pojavom plijesni na grožđu. Kod većine sorti kožica je jedino mjesto u kojemu se nalaze tvari boje. Bogata je pigmentima, naročito

žutim i crvenim, dok klorofil, ksantofil i karotenoide sadrži dok je zelena, a u punoj zrelosti ih ima jako malo. Kožica se naziva još i voštani mašak. Boja se javlja u fazi šaranja, a maksimum se postiže u punoj zrelosti (Paunović i Daničić, 1976).

Antocijani zauzimaju 3 do 4 sloja stanica ispod epiderme, slabo su topivi u vodi, naročito pri niskim temperaturama. Uz nastali alkohol i povišenu temperaturu tijekom alkoholne fermentacije prelaze u vino (Prce, 2014).

U kožici su sadržani brojni aromatski spojevi koji daju izražen i karakterističan miris pojedinim sortama, a redovito su više koncentrirane tu nego u mesu bobice. Kožica crnih sorti znatno je bogatija polifenolima i bojom nego kožica bijelih sorti. Za preradu crnih sorti grožđa važno je da se tvari koje nisu topive u vodi (moštu) nego u alkoholu izlučuje tijekom alkoholnog vrenja. Brzom preradom i odvajanjem kožica od mošta dobiva se bijelo vino od crnih sorti grožđa. To vrijedi samo za one sorte u kojih tvari boje nisu u soku (Zoričić, 1996).

Meso s grožđanim sokom predstavlja glavni dio bobice, a tvori 75 - 85% težine bobice. Sastoji se od velikih stanica s finom celulozno-pektinskom membranom, a unutrašnjost im je ispunjena sokom – moštom. Bijele sorte imaju sok žuto zelene do zlatno žute boje, dok crne sorte imaju djelomično obojen sok. Gustoća soka ovisi o sadržaju šećera, a kreće se od 1,065 do 1,110 kg/L, kod prezrelog grožđa i više (Paunović i Daničić, 1976). Na membranu stanice otpada 0,3 – 0,5% težine bobice, a sve ostalo je mošt (sok). Prema razlikama u količini spomenutih sastojaka, govorimo o više ili manje sočnim sortama. Meso bobice razlikuje se po strukturi i sastavu, te se prema tome može podijeliti u nekoliko zona: središnja zona (blizu sjemenke), periferna zona (blizu kožice) te međuzona (najbogatija šećerima i vinskom kiselinom). Sadržaj šećera i vinske kiseline najznačajniji je u međuzoni, a količina jabučne kiseline raste od periferije prema središtu bobice. Kemijski sastav mesa: voda 75 - 80%, šećer 18 - 25%, kiselina (organska) 0,5%, mineralne tvari 0,3 – 1%, celuloza 0,6% (Zoričić, 1996).

2.2. VINO

2.2.1. Definicija i podjela vina

Prema zakonu o vinu (NN 32/19), vino je poljoprivredno prehrambeni proizvod, dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta od svježeg ili za preradu u vino pogodnog grožđa. Prema ovom Zakonu, grožđem se smatra zdrav, zreo,

prezreo, prosušen ili prirodno smrznut plod vinove loze poznatih kultura namijenjen proizvodnji vina ili drugih proizvoda od grožđa i vina čiji sok sadrži minimalnu količinu šećera od 64 °Oechsla. Spoj biokemijskih osobina grožđa i kvasca, uvjeta u kojima se odvija proces fermentacije i ljudskog utjecaja na cjelokupni proces prerade, fermentacije i kasnije skladištenja rezultira izuzetno kompleksnim sastavom vina koje može sadržavati na desetke tisuća različitih kemijskih spojeva u različitim omjerima. Na kvalitetu i organoleptička svojstva vina, kao i na udio alkohola u vinu, osim podvrste kvasca te kemijskih i fizikalnih parametara procesa fermentacije, a kasnije i skladištenja fermentiranog proizvoda, značajno utječu i karakteristike grožđa kao sirovine za proizvodnju vina (Lytra i sur., 2013).

Prema Zakonu o vinu (NN 32/19), vina se dijele na:

Vina u užem smislu riječi:

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

Specijalna vina - dobivena posebnim načinom prerade grožđa, mošta ili vina bez dodatka ili s dodatkom određene količine vinskog alkohola, vinskog destilata, šećera, koncentriranog mošta i mirisavih ili drugih dopuštenih tvari biljnog podrijetla:

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

Po boji vina se dijele na:

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

Po sadržaju neprevrelog šećera vina se dijele na:

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

Prema kakvoći, vina se svrstavaju u kategorije ovisno o kakvoći prerađenog grožđa, prirodu po hektaru, stupnju zrelosti grožđa, prerade i njege, randmanu, količini prirodnog alkohola i drugih sastojaka te organoleptičkim (senzorskim) svojstvima.

Vina s oznakom kontroliranog podrijetla

Oznaku kontroliranog podrijetla mogu dobiti proizvodi s vinogradarskog područja s utvrđenim organoleptičkim i kemijskim svojstvima značajnim za ekološke uvjete položaja i sorte ili grupe sorata grožđa tog područja. Vina s oznakom kontroliranog podrijetla, pored uvjeta iz Pravilnika o proizvodnji vina (NN 2/05), moraju ispunjavati i posebne uvjete o sadržaju alkohola, ekstrakta bez šećera i drugih sastojaka kako je to utvrđeno rješenjem za označavanje vina s oznakom kontroliranog podrijetla i u elaboratu koji je sastavni dio rješenja.

Po kakvoći mirna vina se dijele na:

1. Stolna vina - vino proizvedeno od jedne ili više sorti grožđa vinove loze. Stolno vino ne može nositi oznaku sorte.
    - stolno vino bez oznake zemljopisnog podrijetla,
    - stolno vino s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom - proizvedeno od jedne ili više sorti grožđa, od grožđa preporučenih i dopuštenih sorata vinove loze utvrđenih Pravilnikom, koje potječe iz jedne vinogradarske regije. Oznaka kontroliranog podrijetla stolnih vina ustanovljava se za vinogradarsku regiju, podregiju, odnosno vinogorje.
2. Kvalitetna vina – kvalitetno vino s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom - proizvedeno od jedne ili više preporučenih dopuštenih sorata vinove loze utvrđenih Pravilnikom, koje potječu iz jedne vinogradarske podregije s izraženim kvalitetnim organoleptičkim svojstvima značajnim za ekološke uvjete i sorte određene vinogradarske podregije, vinogorja ili položaja čiju oznaku nosi, koje je odnjegovano u toj podregiji. Za proizvodnju kvalitetnih vina s kontroliranim podrijetlom dopušta se randman vina do 70%, računajući nakon prvog pretakanja.
3. Vrhunska vina
    - vrhunsko vino s kontroliranih i ograničenih vinorodnih područja,
    - vrhunsko vino s kontroliranih i ograničenih specifičnih vinorodnih područja i
    - predikatna vina s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom.
4. Arhivska vina – 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«.

5. Predikatna vina – vina koja u dobrim godinama i prikladnim uvjetima dozrijevanja grožđa na trsu, a ovisno o postignutom stupnju prezrelosti grožđa te vremenu berbe i prerade, postižu posebnu kakvoću. Predikatna vina se mogu podijeliti na:

- ✓ „Kasna berba“ - vino proizvedeno od grožđa koje je ubrano u stanju potpune zrelosti i čiji mošt ima najmanje 49 °Oechsla.
- ✓ „Izborna berba“ - vino proizvedeno isključivo iz brižno izabranog grožđa , čiji mošt sadrži najmanje 105 °Oechsla.
- ✓ „Izborna berba bobica“ – vino proizvedeno od prezrelih ili plemenitom plijesni napadnutih bobica, čiji mošt sadrži najmanje 127 °Oechsla.
- ✓ „Izborna berba prosušenih bobica“ – vino proizvedeno od prosušenih bobica čiji mošt sadrži najmanje 154 °Oechsla.
- ✓ „Ledeno vino“ – vino proizvedeno od grožđa koje je ubrano od najmanje -7 °C i prerađeno u smrznutom stanju, a čiji mošt sadrži najmanje 127 °Oechsla.

Ostale podjele su:

Pjenušava vina su vina dobivena prvim i drugim alkoholnim vrenjem svježeg grožđa, mošta od grožđa i vina podobnog za dobivanje stolnog vina, kao i kvalitetnog i vrhunskog vina koja, kada se otvori posuda, otpuštaju ugljični dioksid koji potječe isključivo od vrenja.

Biser vina su prirodno pjenušava vina dobivena od stolnog vina, kvalitetnog vina ili proizvoda podobnih za dobivanje stolnog ili kvalitetnog vina.

Gazirana vina su vina dobivena od stolnih vina koja, kada je posuda otvorena, otpuštaju ugljični dioksid koji u cijelosti ili djelomično potječe od dodavanja tog plina.

Desertna vina su specijalna vina dobivena posebnim načinom prerade prezrelog, odnosno prosušenog grožđa, kao i vina dobivena posebnim postupcima dorade mošta i vina.

Likerska vina su specijalna vina dobivena vrenjem masulja ili mošta uz dodatak ugošćenog mošta, alkoholiziranog mošta, vinskog destilata ili vinskog alkohola.

Aromatizirana vina su specijalna vina dobivena iz vina posebnim postupkom uz dodatak alkohola, šećera, kiselina i ekstrakta dobivenog maceracijom aromatičnih biljaka.

2.2.2. Sorte grožđa za proizvodnju vina

Klasifikacija sorti vinove loze se provodi prema sljedećim obilježjima (Zakon o vinu, NN 32/19):

- morfološki - (boji, obliku, veličini bobice, obliku grozda i lista),
- fiziološki - (prema vremenu dozrijevanja),
- gospodarski te
- prema geografskom podrijetlu (sorte iz zapadne Europe, sorte iz crnomorskog bazena, sorte iz 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:

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

Vinske sorte:

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

Sorte vinove loze dijele se na:

1. preporučene sorte od kojih se preradom mogu dobiti vrhunska i kvalitetna vina s oznakom kontroliranog podrijetla,
2. dopuštene sorte koje se u određenim vinogorjima posebno ne ističu u proizvodnji vina, ali ne narušavaju njegovu kvalitetu već ga u određenim agroekološkim uvjetima dopunjuju te
3. privremeno dopuštene sorte, koje su zatečene u pojedinim vinogorjima na dan stupanja Pravilnika na snagu, a zbog svojih organoleptičkih i gospodarskih svojstava nisu predviđene Pravilnikom. Njihov uzgoj je dopušten samo do njihovog biološkog iskorištenja.

Najvažnije vinske sorte u Hrvatskoj:

Kontinentalna Hrvatska:

Bijela vina:

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

Crna vina

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

Primorska hrvatska

Crna vina

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

Bijela vina

- Malvazija istarska bijela,
- Pošip bijeli,
- Grk bijeli,
- Maraština bijela,
- Žilavka bijela,
- Kujunđuša bijela i
- Žlahtina bijela.

2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA

2.3.1. Alkoholi

Vino sadrži veliki broj različitih alkohola. Alkoholi se mogu podijeliti u dvije osnovne skupine, alifatske i aromatske. Alifatski alkoholi se dijele na monovalentne i viševalentni. Od monovalentnih alkohola najzastupljeniji alkoholi u vinu su etanol i metanol (Prce, 2014).

Etanol (CH_3CH_2OH) predstavlja glavni produkt alkoholne fermentacije, i iza vode je najzastupljeniji sastojak vina. U vinu etanol mora potjecati isključivo iz alkoholne fermentacije, a koliko će ga nastati ovisi o udjelu šećera u grožđu i moštu. U iznimnim slučajevima etanol može potjecati iz saharoze koja se dodaje u svrhu popravljanja mošta, osim kod proizvodnje vrhunskih vina gdje dodavanje saharoze nije dozvoljeno. Dopušteni udio alkohola u vinu, kod stolnih vina, se kreće od 8,5% vol. do 15% vol. kod kvalitetnih i vrhunskih vina (Vrdoljak, 2009).

Metanol (CH_3OH) kao jednovalentni alkohol ne nastaje kao produkt fermentacije. U vinu je nastao kao nusprodukt, hidrolizom pektinskih tvari, posredstvom enzima pektinesteraze, s obzirom da se pektinske tvari nalaze u čvrstim dijelovima grožđa (sjemenka, peteljkovina). To znači da će sorte s većim udjelom pektina proporcionalno imati više metilnog alkohola. Metanol se u vinu nalazi u malim količinama. Njegov sadržaj se kreće od 0,18 do 0,44% u odnosu na etanol. Crna vina imaju 2 do 3 puta veći udio metilnog alkohola u odnosu na bijela vina zbog činjenice da crna vina imaju duži kontakt tekuće faze s krutom fazom (trop), za vrijeme maceracije (Vrdoljak, 2009). Vino proizvedeno od plemenitih sorti grožđa nikad nema metanola preko kritičnog sadržaja od 350 mg/kg. Međutim, u vinima proizvedenim od hibridnih sorti grožđa sadrže visoki udio metanola pa su toksična. Stoga nije dopušteno proizvoditi vino od hibridnih sorti grožđa. Etanol u otopini s metanolom smanjuje mu

otrovnost (što je slučaj s vinom) Bijelo ga vino sadrži 40 - 140 mg/L, a crna 120 - 200 mg/L (Zoričić, 1996; Horvat, 2010). Metanol je otrovan te se nakon uzimanja brzo oksidira do mravlje kiseline ili do formaldehida. Kod unosa toksične doze metanola javljaju se abdominalna bol, otežano disanje, a može uzrokovati i sljepilo (Mačinković, 2017).

Viši alkoholi javljaju se u vinima u minimalnim količinama (150 – 550 mg/L), te s kiselinama daju estere koji poboljšavaju aromu vina. Koncentracija viših alkohola ovisi o sorti grožđa, vrsti kvasca te uvjetima prerade (Zoričić, 1996; Vrdoljak, 2009). Viši alkoholi nastaju radom kvasca *Saccharomyces cerevisiae* tijekom alkoholne fermentacije ugljikohidrata (nastaje oko 35% viših alkohola) i transformacijom odgovarajućih aminokiselina – Ehrlichova reakcija. Nastajanje ovisi o vrsti i sastavu mošta te o načinu proticanja vrenja. Najviše su zastupljeni: izoamilni, amilni i izobutilni alkohol te fenetil alkohol, koji čine 90% od ukupnih viših alkohola i znatno utječu na bouquet vina. Koncentracija viših alkohola do 300 mg/L doprinosi razvoju željene arome vina, dok koncentracija veća od 400 mg/L negativno utječe na aromu vina (Ribéreau-Gayon i sur., 2006).

Alkoholi koji sadrže više hidroksilnih skupina nazivaju se viševalentni alkoholi ili polioli. Od viših alkohola u vinu posebno se može izdvojiti glicerol, kojega nakon etanola ima najviše. Glicerol je trovalentni alkohol koji nastaje alkoholnom fermentacijom i veoma je važan parametar kvalitete vina jer utječe na viskoznost, slatkoću i harmoničnost vina. Naročito puno glicerola sadrže vina dobivena od grožđa koje je napadnuto plemenitom plijesni (15 do 20 g/L). Glicerol može poslužiti i kao hrana mikroflori u procesu proizvodnje nekih specijalnih vina kao npr. Sherry. Značajno utječe na okus dajući mu osjećaj punoće i blagosti te pojačava slatkoću vina. Ostali polioli su butandiol, arabitol, sorbitol, manitol (Ribéreau-Gayon i sur, 2006; Horvat, 2010; Prce, 2014).

2.3.2. Ugljikohidrati

Najraširenija skupina organskih spojeva u živom svijetu su ugljikohidrati koji se sastoje od ugljika, kisika i vodika opće formule $C_n(H_2O)_m$. Ugljikohidrati nastaju fotosintezom u svim zelenim dijelovima vinove loze. Ponajviše ih nastaje u listu i bobici dok su još zeleni, tj. dok sadrže klorofil (Vrdoljak, 2009). Utjecajem sunčeve energije uz prisutnost ugljikovog dioksida i pomoću klorofila, na listu i bobici nastaje škrob koji se konvertira u šećer. Na količinu nastalog šećera utječe sorta, stupanj zrelosti, klimatski uvjeti, bolest, štetnici (Čobanov, 2016).

Šećer je osnovni sastojak grožđa. Na osnovu njega i kiselina određuje se tehnološka vrijednost grožđa. Visokokvalitetne sorte mogu imati od 22 do 28% šećera, dok se kod kvalitetnih sorti količina šećera kreće od 18 do 22%. Kvasci brže i lakše previru glukozu nego fruktozu do etanola, CO_2 i drugih spojeva (Vrdoljak, 2009; Zoričić, 1996). Ugljikohidrate dijelimo na:

- monosaharide (glukoza, fruktoza),
- disaharide (saharoza, maltoza, laktoza) te
- polisaharide (škrob, amiloza, amilopektin, celuloza) (Stričević i Sever, 2001).

Od monosaharida u grožđu, moštu i vinu najzastupljenije su heksoze, D-glukoza i D-fruktoza te manjim dijelom pentoze, L-arabinoza i D-ksiloza. Zastupljenost fruktoze u odnosu na glukozu raste zrenjem grožđa. Zelena bobica sadrži svega ¼ fruktoze (voćni šećer) i ¾ glukoze (grožđani šećer). Zrenjem se razlika smanjuje pa se pri tehnološkoj zrelosti grožđa odnos glukoze i fruktoze izjednači (1 : 1). Kod prezrelog grožđa fruktoza je nešto viša (Vrdoljak, 2009). Pentoze su prisutne u manjim količinama (0,3 do 2 g/L), ne previru prilikom alkoholne fermentacije, a kod analitičkog određivanja šećera reagiraju sukladno heksozama. Zastupljenije su u crnim nego u bijelim vinima (Ribéreau-Gayon i sur., 2006). Od oligosaharida u grožđu su prisutni saharoza, maltoza, laktoza, rafinoza i trehaloza. Saharoza je, među ostalima, najbitnija za kakvoću konačnog proizvoda, vina. Važno je još istaknuti i visokomolekularne polisaharide u grožđu, pektine, škrob, glikogen i sluzave tvari. Oni znatno otežavaju taloženje i bistrenje vina (jedino biljne smole i anhidridi monosaharida pozitivno utječu na održavanje stabilnosti vina u pogledu bistroće) (Vrdoljak, 2009). Određivanje šećera u grožđu i moštu provodi se moštnim vagama (Oechslova i Baboova ili Klosterneuburška) te refraktometrom (Horvat, 2010).

2.3.3. Kiseline

Kiseline u vinu su prisutne kao normalni sastojci vina, ali i kao produkti kvarenja. Prema pravilniku o proizvodnji vina (NN 2/2005) ukupna kiselost vina (izražena kao vinska kiselina) u prometu mora biti najmanja 4 g/L, izraženo kao vinska kiselina, a najviše do 14 g/L. Poslije šećera, organske kiseline su najvažniji sastojak mošta. Važnije kiseline mošta su: vinska, jabučna, limunska, jantarna. Najveći udio čine vinska i jabučna kiselina. Udio jabučne kiselina je na početku visok, a prema stadiju pune zrelosti se smanjuje. Pad koncentracije kiselina u

grožđu vezan je uz oksidaciju i izgaranje u procesu disanja, a ti procesi su vezani uz temperaturu. Prema tome, niska kiselost se bilježi u toplijim područjima, dok se visoka kiselost bilježi u hladnijim područjima (Prce, 2014).

Kiseli okus mošta potječe od slobodnih i djelomično vezanih organskih kiselina, a nastaju nepotpunom oksidacijom šećera u bobicama grožđa te od tuda preko mošta prelaze u vino. Samo neke od ovih kiselina nastaju u tijeku vrenja. Vino je redovito manje kiselo od mošta, jer se u procesu vrenja i dozrijevanja vina smanjuju i mijenjaju pojedine kiseline (Andabak, 2017). Mala koncentracija kiseline u vinu daje tupi okus vinu (Horvat, 2010).

Kiseline u vinu su organske (hlapljive i nehlapljive), anorganske kiseline i soli različitih kiselina. Organske kiseline vrlo su važne za organoleptička svojstva vina te za fizikalno-kemijsku i mikrobiološku ispravnost vina. Uglavnom potječu iz grožđa odakle preko mošta prelaze u vino. Manji dio organskih kiselina nastaje u samom vinu transformacijom nekih sastojaka mošta tijekom alkoholne fermentacije ili kasnije za vrijeme čuvanja vina (Paunović i Daničić, 1976; Horvat, 2010).

Organske kiseline u vinu mogu biti podrijetlom iz:

- grožđa odnosno mošta (vinska, jabučna, limunska, askorbinska, oksalna, glikolna, glukonska),
- kao produkti alkoholne fermentacije (piruvična, mliječna, octena, sukcinska, oksalna i fumarna kiselina),
- mliječna kiselina nastala malolaktičnom fermentacijom iz jabučne kiseline te
- kiseline nastale razvojem sive plijesni na grožđu (Horvat, 2010).

Hlapljive kiseline predstavljaju grupu masnih kiselina koje se nalaze u vinu, a pod određenim uvjetima mogu ispariti. Nastaju uglavnom kao sekundarni proizvodi alkoholne fermentacije vrenja iz acetaldehida (ovisno o soju kvasca ovisi i količina kiselina koja će nastati) ili pak nakon alkoholnog vrenja tijekom čuvanja vina, oksidacijom etanola. Mogu nastati i u procesu kvarenja bakterijskom aktivnošću (octikavost, zavrelica, vinski cvijet i dr.) (Pichler, 2019). Pratitelji su „bolesnih“ vina te su značajne za ocjenjivanje „zdravlja“ vina. Zakonom je propisana maksimalno dozvoljena količina hlapljivih kiselina u određenim vrstama vina. Selekcionirani kvasci produciraju manje hlapljivih kiselina. Temperatura fermentacije isto tako ima značajan utjecaj na tvorbu hlapljivih kiselina, pa tako pri nižim temperaturama

fermentacije nastaje manje hlapljivih kiselina. Od hlapljivih kiselina najzastupljenija je octena kiselina. U vinu se nalazi u koncentraciji od 300 do 600 mg/L (Ribéreau-Gayon i sur., 2006).

Octena kiselina nastaje oksidacijom alkohola, djelovanjem octenih bakterija u aerobnim uvjetima te djelovanjem kvasaca u anaerobnim uvjetima tijekom alkoholne fermentacije. Pojava octene kiseline karakteristična je za bolesna vina. Međutim, ukoliko se octena kiselina nalazi u manjim koncentracijama, ona nema štetno djelovanje već pozitivno utječe na okus vina (Andabak, 2017). Prema Pravilniku o proizvodnji vina (NN 2/2005) hlapljiva kiselost, izražena kao octena kiselina, u proizvodima u prometu ne smije biti veća od:

- 0,8 g/L u moštu u fermentaciji i mladom vinu,
- 1,0 g/L u ružičastim i bijelim vinima ,
- 1,2 g/L u crnim vinima, u vinima kasne berbe i vinima izborne berbe,
- 1,8 g/L u desertnim vinima, vinima izborne berbe bobica, vinima izborne berbe prosušenih bobica i ledenom vinu.

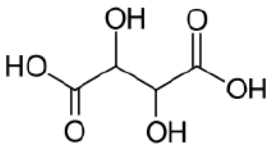
Vino može sadržavati i sljedeće kiseline: mravlju, propionsku, maslačnu, kapronsku, kaprilnu, kaprinsku i laurinsku kiselinu. Mravlja kiselina se nalazi u tragovima kao i propionska i maslačna kiselina, osim u vinima u kojim je došlo do nekog kvarenja. Masne kiseline srednjeg lanca (kapronska, kaprilna, kaprinska kiselina), koje čine bitnu komponentu arome vina, sintetiziraju kvasci kao međuprodukt pri biosintezi masnih kiselina dugog lanca. Ove kiseline u vinu, u interakciji s drugim hlapljivim komponentama, pozitivno utječu na njegove aromatske karakteristike (Vrdoljak, 2009; Mačinković, 2017).

Nehlapljive organske kiseline :

- vinska,
- jabučna,
- maslačna,
- jantarna,
- limunska,
- dioksimaleinska i
- pirogrožđana.

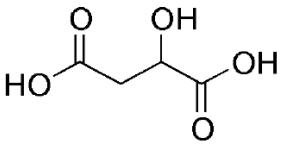
Udio nehlapljivih kiselina u vinu se kreće od 3,5 do 10 g/L. Veći dio nehlapljivih kiselina potječe iz grožđa, a samo manji dio nastaje u vinu (Zoričić, 1996).

Vinsku kiselinu sadržavaju svi zeleni dijelovi loze. U moštu se nalazi u količini od 1 do 8 g/L, a u vinu od 0,5 do 2 g/L. To je najjača i najizraženija organska kiselina mošta te najviše utječe na pH vrijednost vina te kao takva daje osnovni okus kiselosti vina. Vezivanjem s mineralima kalija i kalcija vinska kiselina prelazi u svoje soli – tartarate. Tartarati nisu dobro topljivi na nižim temperaturama pa se mogu istaložiti u obliku sitnih kristala (Vrdoljak, 2009).



Slika 2 Strukturna formula vinske kiseline (Mačinković, 2017)

Dozrijevanjem grožđa koncentracija jabučne kiseline opada. Pad koncentracije jabučne kiseline povezan je s temperaturom zraka. Iz tog razloga, jabučna kiselina zastupljenija je u vinima sjevernih krajeva i u godinama s nižim temperaturama. Veće koncentracije ove kiseline pridonosi zeljastom, neharmoničnom okusu vina. Koncentracija jabučne kiseline u moštu iznosi 12 g/L, a u vinu od 0,6 do 2,7 g/L, u nekim slučajevima i do 12 g/L u obliku malatnih soli.

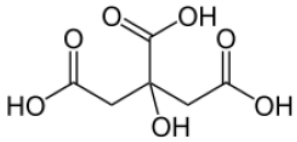


Slika 3 Strukturna formula jabučne kiseline (Mačinković, 2017)

Mliječne kiseline nema u grožđu pa tako ni u moštu, ona se u vinu javlja kao sekundarni metabolit alkoholne fermentacije. Mliječno-kiselim vrenjem (malolaktičnim vrenjem) jabučna kiselina pretvara se u slabiju (manje kiselu) mliječnu kiselinu. Degradacijom - raspadanjem jabučne kiseline mijenja se kiselost vina, jer od jabučne kiseline koja je dva i pol puta slabija od vinske, nastaje mliječna kiselina, koja je sedam puta slabija od vinske. Mliječna kiselina je blaga, ugodna kiselina, a time utječe na organoleptička svojstva vina, pa je tako vino blago kiselkasto do kiselo, za razliku od onog kod kojeg je zaostala jabučna kiselina. U većoj mjeri nastaje u pokvarenom vinu uslijed metabolizma mliječno-kiselih bakterija (Andabak, 2017).

Jantarna kiselina nastaje kao sekundarni produkt alkoholne fermentacije, iz acetaldehida i degradacijom glutaminske kiseline. Prisutna je u neznatnim količinama i vinu

daje gorčinu. Limunska kiselina nastaje u procesu glikolize, Krebsovom ciklusu i ciklusu glioksalne kiseline, a mogu je stvoriti i plijesni (*Botrytis*) iz šećera grožđa. Limunska kiselina inhibira djelovanje kvasca, ali ga ne prekida. U moštu i vinu se nalazi u manjoj koncentraciji od vinske i jabučne. U toku razvoja bobice i sazrijevanja grožđa, sadržaj limunske kiseline se ne mijenja puno i kreće se u prosjeku od 0,3 do 0,8 g/L. Iz mošta prelazi u vino, u kojem je dosta nepostojana, a mogu je metabolizirati i mliječno kisele bakterije. Vina od grožđa koje je napadnuta plemenitom plijesni sadrže više limunske kiseline. Limunska kiselina se i u grožđu i u vinu nalazi u malim količinama, do 0,7 g/ L (Mačinković, 2017).



Slika 4 Strukturna formula limunske kiseline (Mačinković, 2017)

Dioksimaleinska kiselina nastaje u vinu oksidacijom vinske kiseline. Ima jaka reducirajuća svojstva te važnu ulogu u stvaranju bouqueta vina. Pirogrožđana kiselina se javlja kao intermedijarni produkt alkoholne fermentacije, po mirisu je slična octenoj kiselini. Kada stanicama nedostaje vitamina B1, dekarboksilaza sporije radi pa se nakuplja pirogrožđana kiselina. Ova kiselina veže više kisika, pa je takvo vino potrebno jače sumporiti (Vrdoljak, 2009).

Anorganske kiseline rijetko dolaze u obliku slobodnih kiselina, češće se javljaju u moštu i vinu u obliku kalijevih i kalcijevih soli. Najvažnije su fosforna i sumporna kiselina, a njihov sadržaj u moštu i vinu je nizak i rijetko prelazi 0,5 g/L (Ribéreau-Gayon i sur., 2006).

2.3.4. Aldehidi i ketoni

Aldehidi i ketoni predstavljaju skupinu spojeva koji imaju veliki značaj za organoleptička svojstva vina. Utječu na tvorbu karakteristične arome i bouqueta vina jer se vežu sa sumporastom kiselinom i njenim solim tvoreći lako topljive kiseline. Aldehidi su vrlo reaktivni spojevi i lako se oksidiraju u karboksilne kiseline. Aldehidi u čistom obliku daju oštar miris, koji podsjeća na voće. Najintenzivniji miris daje heptanal. Zbog visoke reakcijske sposobnosti, aldehidi dijelom kondenziraju s fenolima i dušičnim tvarima mošta, dijelom prelaze u odgovarajući alkohol, a dijelom se vežu sa sekundarnim produktima alkoholne fermentacije. Alkoholnim vrenjem nastaju novi aldehidi, uglavnom acetaldehid na koji otpada 90%.

Acetaldehid je međuproizvod koji nastaje u razgradnju šećera alkoholnim vrenjem. Veći dio ovako stvorenog acetaldehida prelazi u etilni alkohol. Količina acetaldehida na kraju je tijesno vezana za SO_2, koji je dodan u moštu. Prema tome, različite su količine acetaldehida u vinu, 15 do 390 mg/L u nesumporenom, a 100 do 150 mg/L u sumporenom. Acetaldehid ima specifičan miris, ako je u slobodnom stanju, taj se miris prenosi na vino. Velika količina acetaldehida, daje vinu miris na oksidiranost, starost. Furfural nastaje u vinu ako ga grijemo, a najviše se stvara prilikom destilacije vina (Zoričić, 1996; Vrdoljak, 2009). Furanski aldehidi, prisutni se u maloj količini u vinima (5 – 10 mg/L) te ne utječu na aromu i okus. U desertnim i likerskim vinima ima ih znatno više te je njihov utjecaj kod njih izraženiji. To su najčešće furfural, oksimetil-furfural i metil-furfural. Aromatski aldehidi (vanilin, fenil-acetaldehid) daju vinu izrazit miris.

Ketoni su znatno manje zastupljeni u moštu i vinu od aldehida, čak 40 – 60 mg/ L. Najzastupljeniji je aceton, zatim acetoin i diacetil. Većina ketona ima miris svježeg maslaca, što u količinama većim od 1 mg/L može dati neugodnu užeglu aromu (Vrdoljak, 2009).

2.3.5. Esteri

Esteri nastaju reakcijom alkohola i kiselina. Postoje kiseli i neutralni esteri. Kiseli esteri nastaju uglavnom kemijskom reakcijom (esterifikacija) za vrijeme čuvanja i starenja vina. Imaju voćni miris. Neutralni nastaju u tijeku alkoholnog vrenja radom kvasaca pa ih nazivamo fiziološkim, a nastaju i prilikom kvarenja vina. Grožđe sadrži malo estera i to su uglavnom esteri masnih kiselina i alkohola, dok ih u vinu ima više. Udio estera se povećava tijekom fermentacije te je to razlog zašto ih ima više u vinu nego u polaznoj sirovini, grožđu. Vino sadrži estere sljedećih kiselina: octene, mliječne i jantarne. Ove tri kiseline se najjače esterificiraju. Miris starog vina je posljedica esterifikacije octene kiseline i etilnog alkohola. Esteri kiselina i viših alkohola sudjeluju u stvaranju bouqueta vina. Od posebne važnosti je etil ester octene kiseline koji u manjoj količini nastaje alkoholnom fermentacijom utjecaja kvasca. Veća količina nastaje radom octenih bakterija. Od stvorene količine etil estera, a ne količine octene kiseline ovisi pojava intenziteta mirisa octenosti. To su: etil acetat (daje trpki i opori okus u ustima kod crnih vina), propil acetat, izopropil acetat, izobutil acetat i izoamil acetat. Esteri masnih kiselina koji imaju parni broj ugljikovih atoma (posebice C_6 i C_8), imaju ugodan voćni miris. Od estera masnih kiselina u vinu su zastupljeni: etil propionat, etil valerijat, etil heksanoat, etil oktanoat i etil dekanoat (Zoričić, 1996; Vrdoljak, 2009).

Tablica 1 Koncentracija pojedinih estera iz vina (Kelemović, 1999)

Esteri	Koncentracija u vinu (mg/L)
Etil-formijat	0,5 – 10
Etil-acetat	30 – 200
Etil-propionat	0,5 – 15
Etil-izobutirat	0,5 – 20
Etil-kaprilat	2 – 20
Izobutil-acetat	1 – 10
Etil-laktat	30 - 200

2.3.6. Tvari arome

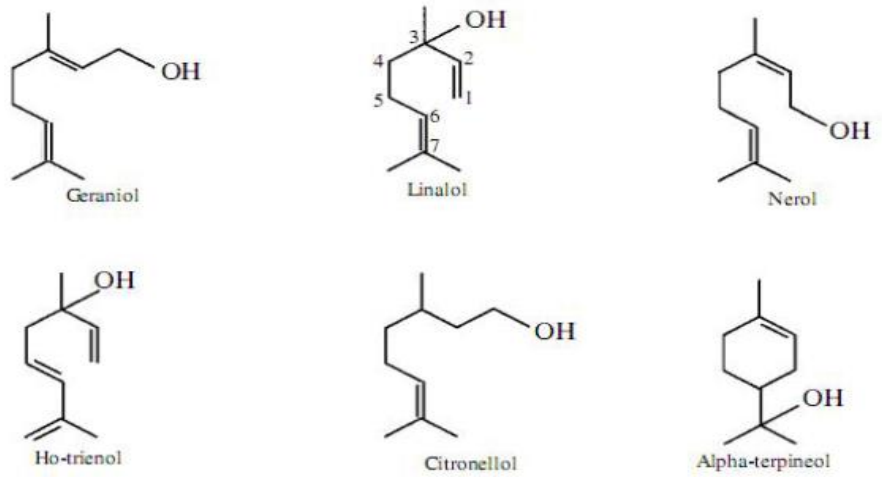
Tvari arome potječu iz brojnih skupina kemijskih spojeva koji su prisutni u samom grožđu i tijekom vinifikacije prelaze u vino. Aromu vina čine različiti hlapljivi sastojci koji se u istima nalaze u malim koncentracijama reda veličine od nekoliko mg/L do nekoliko ng/L, ona je kompleksna i formira se tijekom zrenja, složenim kemijskim, biokemijskim i mikrobiološkim procesima. Vinske arome čine više od 800 različitih komponenti (Vrdoljak, 2009).

Aroma vina potječe:

1) Iz grožđa ovisno o sorti grožđa, klimatskim uvjetima i agrotehničkim mjerama uzgoja,
2) Biokemijskim reakcijama (oksidacija, hidroliza) tijekom separacije mošta i maceracijom,
3) Alkoholnom fermentacijom, produkcijom kvasaca nastaje karakteristična aroma; malolaktičnom fermentacijom,
4) Kemijskim i enzimatskim reakcijama poslije fermentacije tijekom dozrijevanja i starenja vina u bačvama, cisternama i bocama nakon punjenja (Vrdoljak, 2009).

Aroma vina naziva se bouquet. Ona određuje karakter i kvalitetu vina. To su različite tvari arome koje pripadaju velikom broju različitih kemijskih spojeva: hlapljive karboksilne kiseline, alkoholi, esteri, aldehidi, ketoni, eterična ulja, više masne kiseline, terpeni, te tvari slične smolama i voskovima. Primarne arome potječu od bobice, ponajviše iz kožice. One iz grožđa prelaze u mošt, a zatim i u vino. To su monoterpeni (geraniol, linalol, nerol, α-terpineol, citronelol, hotrineol). Terpeni mogu biti slobodni u hlapljivom obliku ili vezani za šećere – glikozidi. Jačina primarne arome u zavisnosti je o stanju zrelosti, zdravstvenom stanju grožđa te utjecaju klime tla i položaja vinograda. Aromatične tvari su upravo one koje diktiraju –

određuju jačinu sekundarne arome (bouquet vrenja) i tercijarnu aromu (bouquet zrenja) (Zoričić, 1996).



Slika 5 Monoterpeni iz grožđa i vina (Ribereau-Gayon i sur., 2006)

Sekundarne arome su rezultat mikrobioloških transformacija mošta (alkoholne i malolaktičke fermentacije), a predstavljene su prvenstveno acetatnim i etilnim esterima, te višim alkoholima (1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2- i 3-metil-1-butanol).

Tercijarne arome (bouquet), se formiraju za vrijeme dozrijevanja i starenja vina, kemijskim i biokemijskim transformacijama (hidrolize, esterifikacije, oksidacije) već spomenutih aromatskih spojeva (Vrdoljak, 2009).

Sve tvari arome se određuju instrumentalnim metodama: tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC), plinska kromatografija (GC), analitičkim metodama i senzorskim ocjenjivanjem (Vrdoljak, 2009).

2.3.7. Fenolni spojevi

Fenolni spojevi osim što su odgovorni za razlike između bijelih i crnih vina, posebno okus i boju crnih, također su važni jer imaju baktericidna, antioksidativna i vitaminska svojstva, te štite konzumente od kardiovaskularnih bolesti. Ekstrakcijom iz grožđa prelaze u vino (Maletić i sur., 2008). U suhim bijelim vinima ukupni fenolni spojevi se nalaze u koncentraciji između 50 i 350 mg/L, dok se u crnim vinima nalazi znatno veća koncentracija ukupnih fenola. Razlog toga je što se većina fenolnih spojeva nalazi u kožici i sjemenci bobice, koje su zbog

tehnologije proizvodnje bijelih vina vrlo kratko u doticaju sa sokom grožđa, te zbog činjenice da bijele sorte uopće ne sadržavaju neke pigmente (npr. antocijane) koji su vrlo značajni za sastav ukupnih polifenola u crnom vinu (Osrečak i sur., 2011). Fenoli su organski spojevi koji u svojoj strukturi sadrže jednu ili više hidroksilnih skupina (OH^-) neposredno vezanih na benzenski prsten. U prirodi se vežu sa šećerima tvoreći glikozide. Tradicionalnim postupcima vinifikacije ekstrahira se najviše 60% fenola od ukupno prisutnih u grožđu (Moreno i Peinado, 2012). Fenolne tvari se lako oksidiraju u dodiru sa zrakom. Djelovanjem enzima polifenoloksidaza oksidacija je intenzivnija i dolazi do pojave posmeđivanja vina. Namirnice koje sadrže visoki udio fenolnih spojeva su vrlo značaja za industriju zbog utjecaja na oksidaciju lipida što rezultira konačnim proizvodom visoke nutritivne vrijednosti i kvalitete (Kähkönen i sur., 1999).

Fenolni spojevi vina se prema strukturi dijele u dvije velike skupine:

1. fenolne kiseline;
2. flavonoide (flavan-9-oli, proantocijanidini, antocijani, flavonoli);
3. neflavonoide (hidroksicimetna kiselina, hidroksibenzojeva, stilbeni) (Mačinković 2017; Molnar 2017).

Najznačajniji fenolni spojevi u moštu i vinu su fenolne kiseline i njihovi derivati, flavonoidi, tanini i antocijani. Fenolni spojevi ekstrahiraju se alkoholnom fermentacijom iz masulja, i prelaze iz mošta u vino (Mihovilović, 2016). Najviše flavonoida se nalazi u crnim vinima i čine 85% ukupnih fenola, dok u bijelim vinima prevladavaju neflavonoidi (Jakobek i sur., 2009). Predstavnici neflavonoida u grožđu i vinu su fenolne kiseline (hidroksibenzojeve i hidroksicimetne) i stilbeni, a predstavnici flavonoida su flavonoli, proantocijanidini, flavan-3-oli, antocijani i tanini (Jakobek i sur., 2009).

Derivati hidroksicimetne kiseline su najvažniji fenoli bijelih vina i nalaze se u grožđu i soku. Hidroksicimetne kiseline u grožđu se ne nalaze u slobodnoj formi, već su vezane u estere s vinskom kiselinom, a mogu se vezati i sa šećerima i drugim organskim kiselinama. U vinu su vezane s vinskom i manje s jabučnom kiselinom, a dijelom se nalaze u slobodnoj formi. Glavnina hidroksicimetnih kiselina se kod većine kultivara *Vitis vinifera* nalazi u stanicama mesa (Cedilak, 2016). U derivate hidroksibenzojeve kiseline ubraja se galna, vanilinska i salicilna kiselina. Sjemenka sadrži galnu, a kožica salicilnu kiselinu. Vanilinska kiselina nastaje tokom starenja vina, djelomičnom degradacijom antocijana. Od stilbena najznačajniji je

resveratrol. Nastaje u grožđu kao odgovor na infekciju izazvanu plijesnima ili na utjecaj UV-zračenja. Ekstrahira tijekom vinifikacije crnih vina. Resveratrol je najpoznatiji antioksidant, a sadrži i mnoga druga povoljna svojstva, sprječava rast tumorskog tkiva i pojavu osteoporoze, djeluje kao prirodni fungicid, sprječava replikaciju virusa herpesa (Karalić, 2014). Flavonoli su svijetlo žuti pigmenti prisutni i u bijelom i u crnom grožđu. U bijelim vinima su nositelji boje , a u crnim vinima su maskirani antocijanima. U grožđu se javljaju kao glikozidi i brzo hidroliziraju, a najviše ih ima u kožici grožđa brzo hidroliziraju, a najviše ih ima u kožici grožđa. Kvercetin je jedan on najzastupljenijih flavonola u kožici crvenog grožđa (Moreno i Peinado, 2012). Flavan-3-oli su bezbojni spojevi, prisutni u prirodnim supstratima kao aglikoni. Koncentracija im varira obzirom na sortu, od 5 do 100 mg/L. U vino dospijevaju ekstrakcijom iz sjemenke, kožice i peteljke. Nemaju utjecaj na boju vina, ali mu daju oporost.

Antocijani se nalaze u pokožici grožđa, odgovorni su za plavu, crvenu i ljubičastu boju. Sadržaj antocijana u vinu ovisi o: vrsti grožđa, klimatskim uvjetima, uvjetima uzgoja vinove loze, vrsti tla, itd. Vrlo su nestabilne molekule, a na njihovu stabilnost utječu pH, kisik, temperatura i svjetlost, enzimi, struktura i koncentracija. Većina antocijana različiti su oblici tri osnovna spoja: pelargonidina, cijanidina i delfinidina. Hidrolizom antocijana nastaju antocijanidini (aglikoni) i šećerna komponenta. Šećeri koji su vezani na antocijanidine i čine glikozide su: monosaharidi (glukoza, ramnoza, galaktoza, arabinoza i ksiloza), disaharidi i trisaharidi (rutinoza, soforoza, ambubioza i glukorutinoza). Molekule antocijanidina su podložne degradaciji tijekom prerade, na njih utječu pH, temperatura, svijetlost, kisik, prisutnost enzima, flavonoida, proteina i iona metala (Pozderović, 2010).

Glavnu razliku između antocijana čini broj hidroksilnih skupina, broj šećera koji su vezani na njihovu strukturu, alifatskih ili aromatskih karboksila vezanih na šećer u molekuli, te položaj tih veza. Razliku čini broj i pozicija hidroksi i metoksi skupina u B-prstenu molekule (Kong i sur., 2003).

Tanini su polimeri flavonoidnih i neflavonoidnih fenola. Nalaze se u čvrstim dijelovima grožđa, kožici i sjemenkama, a najveći utjecaj imaju na trpkost, gorčinu i oporost vina. Dijele se na hidrolizirajuće i kondenzirane tanine. Hidrolizirajući tanini su polimeri galne kiseline ili njenih derivata te šećera glukoze. Javljaju se kao esteri i lako hidroliziraju. U grožđu se većinom nalaze kondenzirani tanini koji se teže hidroliziraju. Koncentracija tanina u bijelom moštu

iznosi maksimalno 0,2 g/L, a u crnom moštu 1 do 2,5 g/L i više. Koncentracija tanina u bijelom vinu je maksimalno 0,5 g/L, a u crnom vinu 4 g/L (Perić, 2013).

2.3.8. Enzimi

Enzimi koji djeluju kao biokatalizatori, imaju važnu ulogu pokretača kemijskih reakcija tijekom vinifikacije, taloženja i bistrenja vina tijekom odležavanja, starenja i njege vina, te u razvijanju sekundarnog bouqueta. Različit je broj enzima, ovisno o zdravlju grožđa, i uglavnom provode reakcije oksidacije i hidrolize. Najvažniji enzimi su: saharaza (invertaza), tanaza, katalaza, pektaza. Saharaza hidrolizira saharozu na glukozu i fruktozu. Tanaza katalizira tvorbu taninskih tvari, a u vino dospijeva iz plijesni trulog grožđa. Katalaza ubrzava oslobađanje kisika, vodikovog peroksida i ostalih peroksidnih spojeva i na taj način poništava toksično djelovanje ovih spojeva. Pektaza hidrolizira pektinske tvari na metanol i poligalakturonsku kiselinu, a značajna je za bistrenje vina (Vrdoljak, 2009; Matošević, 2017).

2.3.9. Mineralne tvari

Mineralne tvari ili pepeo ulaze u sastav vina, a predstavljaju anorganske tvari koje zaostaju nakon isparavanja vode i potpunog spaljivanja suhe tvari vina. U sirovinu dospijevaju iz zemljišta, dok manji dio mineralnih tvari dolazi u vino prilikom prerade grožđa i njege vina. 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. Jače izražene sortne karakteristike grožđa, bolju aromu i bolji bouquet, imaju vina s većom količinom mikroelemenata (Fe, Mn, Zn, Co, Ni) (Zoričić, 2009; Matošević, 2017).

Količina pepela u moštu (3 – 5 g/L) veća je nego u vinu jer se taloženjem uklanja dio kalija, a dio mineralnih tvari ugrađuju mikroorganizmi u biomasu tijekom fermentacije. Crna vina sadrže veću količinu pepela za razliku od bijelih, budući da se tijekom fermentacije masulja ekstrahira i veća količina mineralnih tvari iz čvrstih dijelova grozda. Na količinu pepela u vinu osim sorte i boje vinove loze, utječe kakvoća, zrelost grožđa, sastav tla, mikro i makroklimatski uvjeti itd. Količina pepela u vinu kreće se od 1,1 – 4,6 g/L (Vrdoljak, 2009).

2.3.10. Ekstrakt vina

Klimatski uvjeti tijekom vegetacije utječu na sadržaj ekstrakta, tako u sunčanim i toplijim godinama ima više ekstrakta. Također vrsta tla, položaj vinograda, tehnologija prerade, duljina maceracije prije fermentacije, jačina prešanja, vrsta kvasca i mnogi drugi čimbenici utječu na količinu ekstrakta (Prce, 2014).

Kvalitetne i vrhunske sorte daju vina s više ekstrakta, dok stolne sorte daju vina s manje ekstrakta, isto tako i krajevi s manje sunca, daju manje ekstrakta u odnosu na krajeve s puno sunca, koji daju vina s većim sadržajem ekstrakta (Vrdoljak, 2009). Crna vina (25 - 30 g/L) sadrže više ekstrakta od bijelih (do 25 g/L). Razlog tomu je veći sadržaj tanina. Sukladno svemu tome, možemo zaključiti da onda i kvalitetne i vrhunske sorte sadrže veću količinu ekstrakta od stolnih sorti.

Ukupni suhi ekstrakt u vinu čine sve organske i mineralne tvari koje nisu hlapljive pod specifičnim fizikalnim uvjetima (vodena kupelj, 100 °C). Tvari koje čine ukupni suhi ekstrakt su ugljikohidrati, nehlapljive kiseline, viši alkoholi, tvari boje, polifenoli, mineralne tvari.

Ekstrakt u vinu može biti:

- ukupni suhi ekstrakt – čine ga svi sastojci vina koji nisu hlapljivi 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;
- nereducirajući ekstrakt bez šećera - dobije se kada se od ukupnog suhog ekstrakta oduzme sadržaj ukupnih šećera u vinu (Molnar, 2017).

Uz ova tri navedene ekstrakta izračunava se još i ekstrakt bez šećera i bez hlapljivih kiselina.

Vina s malim sadržajem alkohola, a visokim sadržajem ekstrakta, nazivamo teška. Blaga su ona vina koja imaju srednji sadržaj ekstrakta, a i srednje su jaka. Mekani okus imaju vina s većim sadržajem glicerola. Prazna ili vodnjena vina jesu vina alkoholno i esktraktno siromašna (Zoričić, 1996).

2.3.11. Dušične tvari

Najviše dušičnih tvari nalazi se u čvrstim dijelovima grožđa, peteljkovini, kožici i sjemenkama. Količina ovisi o bogatstvu tla dušičnim spojevima, zdravstvenom stanju (zdravo

grožđe ima više spojeva s dušikom) i o načinu prešanja (prešavina ima više dušičnih tvari od samotoka). Spojevi s dušikom se u moštu i vinu nalaze kao organski i anorganski spojevi. Dušične tvari su po prirodi pozitivno nabijeni koloidi, stoga utječu na stabilnost, jer uzrokuju zamućenje. Neki od predstavnika dušičnih tvari su: proteini, polipeptidi, amini, amidi, heksozamini, nukleinski dušik, biološki amini. Dodatkom negativnih bistrila, poput tanina, talože se na dno (Zorčić, 1996). Dušične tvari mogu utjecati na boju, aromu, bistroću i postojanost vina. U vinu se nalaze u malim količinama, a ukoliko su prisutni u većim količinama, mogu uzrokovati zamućenje vina, uz to su i dobar izvor dušika bakterijama koje uzrokuju kvarenja vina (Vrdoljak, 2009).

Mikroorganizmi u moštu koriste dušične tvari te ih ugrađuju u svoje stanice tijekom rasta. Sukladno tome vino sadrži manje dušika što je posljedica ugradnje aminokiselinskog dušika u stanice kvasaca za fermentaciju. Nadalje, količina dušičnih tvari ovisi o načinu prešanja. Mošt dobiven kontinuiranim prešanjem sadrži manje ukupnog dušika jer se proteini vežu i talože s taninskim tvarima (Vrdoljak, 2009).

2.3.12. Proteini

Proteini, makromolekule građene od aminokiselina međusobno povezane peptidnom vezom, su vrlo nestabilni spojevi i u vinu se ponašaju kao koloidi s pozitivnim električnim nabojem. Proteini u vinu sudjeluju s 10% u odnosu na ukupni dušik. Mutnoća vina uzrokovana je i njihovim prisustvom te se talože s taninima. U vinu potječu od grožđa i kvasaca (odumiranjem kvasaca, prelaze u vino).

U bijelim vinima je veća količina koaguliranih proteina koji se sporije talože, nego koagulirani proteini u crnim vinima. Stoga je stabilnost bijelih vina obrnuto proporcionalna količini koaguliranih proteina. Naime, crna vina sadrže veću količinu tanina s kojima se koagulirani proteini lakše i brže istalože (Matošević, 2017). Dodatkom određenih bistrila poput npr. bentonita, bistrenje vina se može ubrzati.

2.3.13. Koloidi

Koloidne tvari su sluzave tvari i u vinu imaju nepovoljan učinak na organoleptička svojstva vina. Dovode do zamućenja vina, povećanje viskoznosti, opalesciranje i pojavu kataforeze (čestice posjeduju istovrstan naboj). To su sluzave tvari sastavljene od proteina i

pektinskih tvari. Veličina čestica je od 1 do 100 μm. Koloidi se dijele na lipofilne i liofobne. Liofilni koloidi imaju sposobnost vezanja vode i tako povećavaju kiselost vina. Liofilni koloidi uglavnom sadrže kompleksne spojeve željeza, fosfora i bakra. Liofobni koloidi su osjetljivi na elektrolite te pri malim promjenama pH dolazi do njihove koagulacije (Prce, 2014).

2.4. MEMBRANSKI PROCESI

Klasična filtracija može se definirati kao separacija dvije ili više komponenti (krutih čestica) iz tekuće ili plinovite faze, što znači da se na porama filtera zadržavaju molekule tvari, krute čestice koje su veće od veličine pora filtra. Membranska filtracija proširuje ovu primjenu dalje tako da obuhvaća uklanjanje suspendiranih, koloidno dispergiranih čestica i separaciju otopljenih tvari u tekućoj fazi, kao i separaciju plinova (Cheryan, 1986).

Razlike između mehaničke i membranske filtracije je što kod mehaničke na membrani zaostaju krute tvari, a kod membranske zaostaju molekule i ioni. Membranski procesi su tzv. "čista" tehnologija jer ne zagađuje okoliš - nema uporabe kemikalija, jednostavno se provode, zauzimaju malo prostora (Vrdoljak, 2009). Međutim, njihova primjena je dugo bila ograničena na primjenu ultrafiltracije u industriji mlijeka i donekle za koncentriranje otopina šećera i drugih topljivih tvari. U tom periodu egzistira samo pločasti modul s ravnim odnosno planarnim membranama. Proizvodnjom novih materijala za membrane, razvojem novih tipova membrana i modula kao što su cijevni, kapilarni i spiralni modul te modul sa šupljim vlaknima omogućena je „cross-flow" filtracija (**Slika 8**) koja je znatno unaprijedila membranske procese u mnogim industrijama, a naročito u prehrambenoj industriji. Membranski procesi se danas koriste u tehnologiji obrade vode, tehnologiji mlijeka, tehnologiji bistrih voćnih sokova, tehnologiji piva, tehnologiji vina, u proizvodnji različitih ekstrakata kao što su ljekovito bilje, kava i drugo (Pozderović,2011). Intenzivna ulaganja u razvoj i sintezu novih membranskih proizvoda rezultirala su boljim karakteristikama membrana, njihovom nižom i dostupnijom cijenom i primjenom u najširem mogućem smislu (Dolar, 2009).

Membranski procesi se temelje na primjeni polupropusnih (semipermeabilnih) membrana, određene fizičke i kemijske strukture, koje imaju selektivnu sposobnost propuštanja, odnosno zadržavanja pojedinih molekula i iona. Membranskim procesima zajedničko je postojanje membrane kao tankog sloja koji razdvaja dvije tekuće faze (fluida) i omogućava selektivni transport tvari kroz membranu djelovanjem pogonske sile (najčešće

tlaka). Međusobno se razlikuju po mehanizmima i principima same separacije, a karakterizirani su pojavom da se ulazna otopina djelovanjem tlaka potiskuje kroz membranu i razdvaja u dvije struje: permeat i retentat (koncentrat).

Permeat je ulazna otopina koja dolazi na membranu pod tlakom kao struja koja prolazi kroz membranu. On čini skup svih prodifundiranih komponenata odnosno frakcija (sastavljena od svih komponenata faze koje su prošle kroz membranu). Prolaskom kroz membranu u permeatu se smanjuje koncentracija otopljenih tvari. Retentat je skup svih komponenata neke frakcije koje nisu prošle kroz membranu, tj. dio ulazne otopine koji zaostaje na membrani i kojemu se povećava koncentracija tvari tijekom filtracije (Mulder, 1996; Lovrić, 2003; Herceg, 2009).

Prednosti membranskih tehnologija su:

- kontinuirano zadržavanje,
- manje energetske potrebe ili troškovi,
- mogućnost kombiniranja s drugim separacijskim postupcima,
- zadržavanje pod blagim uvjetima,
- lakoća prenošenja u veće mjerilo,
- varijabilnost membranskih proizvoda,
- podesivost sustava i
- minimalna potreba za aditivima (Dolar, 2009).

Membranski postupci, kao i svi procesi, imaju i svoje mane. Kao nedostaci izdvajaju se:

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

2.4.1. Vrste membranskih procesa

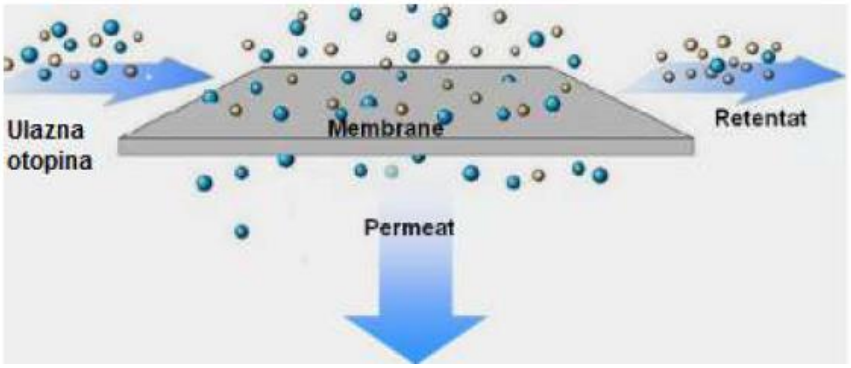
S obzirom na cilj separacije, membranski procesi se mogu podijeliti na procese koji služe za:

- 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) i
- 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).

Osnovna klasifikacija membranskih postupaka može se postaviti prema sljedećim karakteristikama:

- pokretačkoj sili,
- mehanizmu zadržavanja,
- membranskoj strukturi i
- fazama u kontaktu.



Slika 6 Princip rada membranske filtracije (Schmeling i sur.,2010)

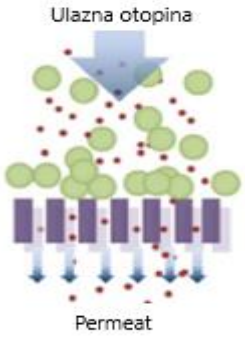
Obzirom na princip separacije čestica, veličinu pora na membrani i pokretačku silu koja dovodi do transporta kroz membranu kao posljedica razlike tlakova, koncentracije, temperature i električnog potencijala s obje strane membrane, membranski procesi mogu se podijeliti na: mikrofiltraciju (MF), ultrafiltraciju (UF), nanofiltraciju (NF) i reverznu osmozu (RO) (Heldman i Lund, 2007).

Tablica 2 Membranski procesi s rasponom tlakova i veličinama pora (Blažević, 2014)

Proces	Veličina pora (nm)	Tlak (bar)
RO	<1	10 – 100
NF	1 – 5	5 – 20
UF	5– 20	1 – 5
MF	>100	0,1 – 2

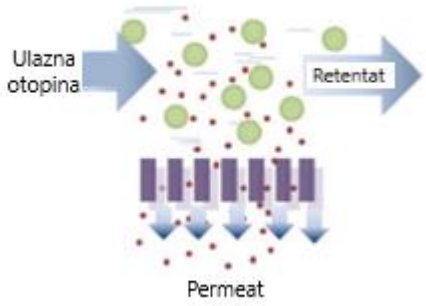
Kod membranskih procesa razlikuju se dva osnovna postupka membranske filtracije ovisno o toku tečenja fluida u odnosu na membranu:

a) **"dead-end"** ili **statička filtracija** – kod ovog postupka filtracije membrana "pregrađuje" tok, a fluid (dobavna tekućina) struji okomito na površinu membrane te prolazi cjelokupnim volumenom kroz nju. Čestice mutnoće veće od otvora pora zaostaju na membrani stvaraju kontinuirani sloj odnosno filtarski kolač ili talog na površini membrane. To dovodi do začepljenja membrane i do povećanja otpora protoka permeata kroz membranu i povećanja polarizacije koncentracije, sve dok ne dođe do prestanka filtracije u određenom trenutku (Moslavac, 2003). Zbog toga ovakav postupak membranske filtracije nije pogodan za industrijsku primjenu (Van der Horst i Hanemaaijer, 1990; Grenier i sur., 2008).



Slika 7 Princip "dead-end" postupka (Tsibranska i Tylkowski, 2013)

b) **"cross-flow"** ili **dinamička filtracija** – kod ovog postupka filtracije dobavna tekućina (fluid) struji uzdužno po površini membrane odnosno tangencijalno (*engl. cross-flow*), a permeat struji poprečno (Moslavac, 2003). Brzina strujanja fluida na membrani mora biti takva da se osiguraju turbulentni uvjeti strujanja (R_e veći od 3000) kako bi se čestice veće od otvora pora održavale u otopini, a one čestice koje bi se ipak izdvojile na površini membrane mogle uklanjati i vraćati u retentat. Da bi se to postiglo brzina strujanja mora biti 4 – 8 m/s. Uzdužnim strujanjem dobavne tekućine ispire se (čisti) površina membrane i na taj način se smanjuje polarizacija koncentracije i sprječava taloženje čestica na membrani (Haarstrick i sur., 1991; Pabby i sur., 2009).



Slika 8 Princip „cross-flow“ postupka (Tsibranska i Tylkowski, 2013)

Mikrofiltracija

Mikrofiltracija (MF) je membranski proces koji najviše sliči klasičnom postupku filtracije, a predstavlja postupak separacije čestica iz dobavne tekućine primjenom simetričnih membrana. Na membrani se zadržavaju makromolekule, čestice i mikroorganizmi koji su veći od 0,1 µm. Kroz membranu prolazi voda, otopljene anorganske i organske molekule, manje makromolekule (proteini). Veličina pora MF membrana kreće se od 10 – 0,10 µm, a debljina membrane 10 - 150 µm. Zbog mikroporozne strukture membrane, tijekom procesa primjenjuje se vrlo nizak radni tlak, manji od 1 bara. Princip separacije je mehanizam sita. Kod procesa MF često se javljaju problemi izraženi kao fenomen apsorpcije koji uzrokuje začepljenje membrane uslijed akumulacije čestica na površini membrane što dovodi do opadanja protoka tijekom filtracije. Protok permeata direktno je proporcionalan primjenjenom tlaku, ali ovisi i o polarizaciji koncentracije i začepljenju membrane (stvaranju taloga na membrani) (Moslavac, 2003). Mikrofiltracija se primjenjuje za separaciju čestica iz plinova i tekućina koji se koriste u prehrambenoj, kemijskoj i farmaceutskoj industriji. Glavna područja primjene MF u industriji je u postupcima sterilizacije i bistrenja različitih vrsta pića, sokova i lijekova u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji (Wang i sur., 2011).

Ultrafiltracija

Ultrafiltracija (UF) je proces između nanofiltracije i mikrofiltracije. Upotrebljava se za separaciju koloida, makromolekula relativne molekularne mase veće od 500 koje se zadržavaju na membrani zbog fizičke veličine, a molekule otapala (vode), anorganske soli i manje organske molekule (kiseline, šećeri i dr.) prolaze kroz membranu i nalaze se u permeatu. Koriste se asimetrične membrane s porama veličine 1 – 100 nm (0,01 – 0,1 mm), zadržavanje

molekula na membrani ovisi o veličini molekule, a debljina membrane je 150 µm. Proces ultrafiltracije odvija se pri tlaku od 1 - 10 bara zbog toga što otopljene tvari koje se zadržavaju na membrani imaju veliku molekularnu masu te je njihov osmotski tlak koji je potrebno svladati zanemariv. Princip separacije je mehanizam sita s obzirom da je permeabilnost membrane za vodu prevelika da bi se mogla objasniti mehanizmom otapanja tj. difuzijom. Tijekom procesa može doći do fizikalno-kemijske reakcije između površine membrane, otapala (voda) i otopljenih tvari u otapalu (vodi). Interakcije mogu biti odbojne i privlačne i mogu uzrokovati smanjenje propusnosti membrane. Osim toga na propusnost membrane utječe i polarizacija koncentracije i začepljenje membrane odnosno stvaranje taloga na membrani. Ultrafiltracija se primjenjuje u tekstilnoj, farmaceutskoj, prehrambenoj i kemijskoj industriji, te u metalurgiji i kožarskoj industriji. U prehrambenoj industriji koristi za koncentriranje otopina makromolekula kao što je u mljekarstvu koncentriranje proteina sirutke i obranog mlijeka, pročišćavanje otpadnih voda, te bistrenje voćnih sokova i alkoholnih pića (Heldman i Lund, 2007; Pozderović, 2011).

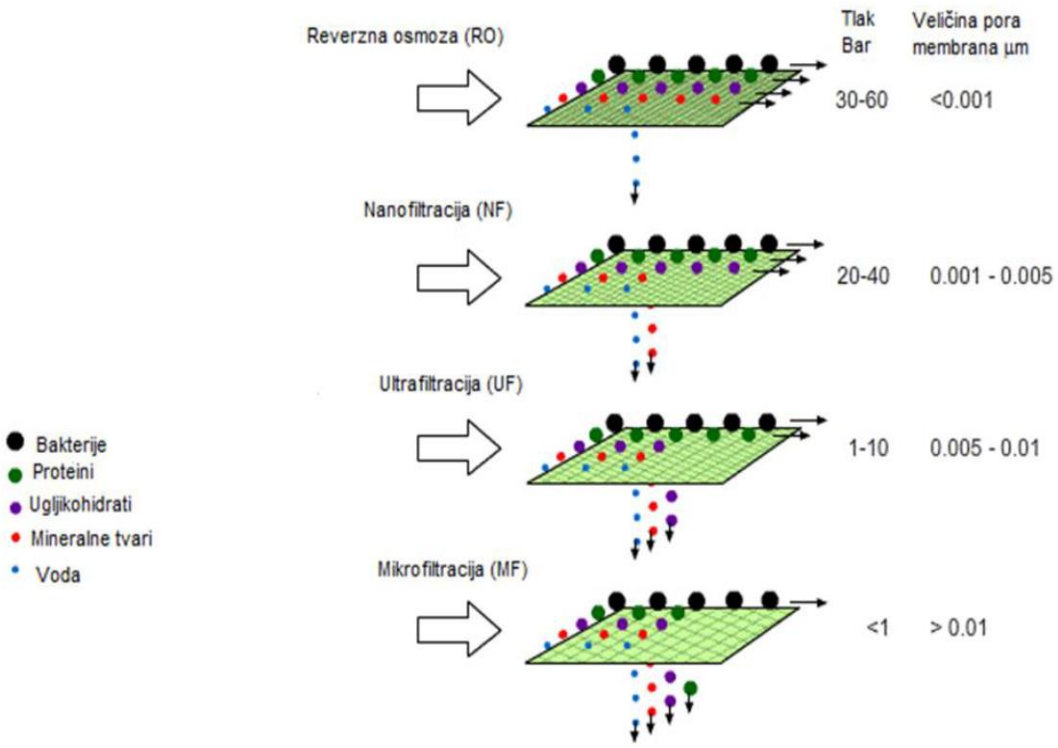
Nanofiltracija

Nanofiltracija (NF) je membranski proces u kojem se na membrani zadržavaju, pored većih molekula, i manje molekule kao što su neke anorganske soli i manje organske molekule kao što su šećeri (monosaharidi i disaharidi). Po svojim svojstvima NF je proces između ultrafiltracije i reverzne osmoze. Prednost nanofiltracije u odnosu na reverznu osmozu je manja potrošnja energije u procesu zbog mogućnosti primjene nižeg tlaka (Warczok i sur., 2004). Princip separacije je isti, a razlikuju se u veličini pora membrana i veličini molekula koje se zadržavaju na membrani. Veličina pora membrana za NF kreće se oko 1 nm (10^{-3} - 10^{-2} µm). Potrebni tlak kod NF je od 10 do 40 bara, a princip separacije je otapanje i difuzija. NF membrane propuštaju manje anorganske i organske molekule (soli, organske kiseline i dr.), pa permeat nije čista voda kao kod reverzne osmoze (Wang i Zhou, 2013). NF se najviše primjenjuje u obradi površinskih voda i bunarskih voda s visokim udjelom otopljenih minerala ($CaCO_3$, Mg^{2+}, Na^+, K^+), pročišćavanje i djelomičnu demineralizaciju vode i za koncentriranje otopina kiselina i šećera (voćni sokovi, otopine šećera i drugo). Kod pročišćavanja vode smanjuje se tvrdoća vode, uklanjaju se kloridi, uklanja se obojenost vode organskim tvarima, smanjuje se sadržaj organskog ugljika i organskih tvari. Pored toga kroz membranu ne prolaze niti bakterije niti virusi pa se nanofiltracijom dobije sterilni permeat. Nanofiltracija se koristi

za dobivanje pitke vode bez mikroorganizama, smanjene tvrdoće i bez organskih zagađenja (Pozderović, 2011).

Reverzna osmoza

Reverzna osmoza (RO) ili hiperfiltracija (HF) koristi se za uklanjanje mikromolekularnih otopljenih tvari čije su molekule istog reda veličine kao i molekule vode. Takve tvari su anorganski ioni i male organske molekule koje zadržane na membrani tijekom filtracije razvijaju značajan osmotski tlak. Da bi otapalo tj. voda prošla kroz membranu kao permeat potrebno je primijeniti visoki tlak da bi se nadvladao osmotski tlak. Zbog toga se koriste visoki radni tlakovi 30 - 120 bara. Veličina pora membrana za reverznu osmozu je 0,1 – 1 nm (Lovrić, 2003). Princip separacije RO je takav da membrane propuštaju vodu procesom otapanja i molekularne difuzije kroz homogenu polimernu fazu, dok otopljene tvari koje membrana zadržava imaju smanjenu topljivost (u odnosu na vodu) ili difundiraju sporije od vode kroz tvar membrane. Protok kroz membranu gotovo je obrnuto proporcionalan debljini membrane, te stoga membrane za RO moraju imati asimetričnu strukturu s tankim gustim gornjim slojem (debljine ≤ 1 μm) na potpornom poroznom sloju (debljine ≈ 50 - 150 μm). U upotrebi su najčešće asimetrične i kompozitne membrane. Kod asimetričnih membrana gornji i potporni sloj su izgrađeni od istog materijala, a kod kompozitnih od različitog. Pore na membrani su veličine manje od 2 nm, a omogućavaju da ioni koji imaju naboj imaju i veću mogućnost odbijanja od membrane nego oni ioni koji nemaju naboj (npr. organske molekule). RO razdvaja komponente veličine do 1 nm (Moslavac, 2003). Reverzna osmoza se u prehrambenoj industriji primjenjuje za koncentriranje mlijeka i sirutke prije uparivanja, demineralizaciju sirutke, u proizvodnji jogurta, za koncentriranje voćnih sokova (jabuka, naranča, agrumi, grožđe, kivi, ananas), pigmenta (antocijani, betaini), proizvodnji piva sa smanjenim udjelom alkohola, kave, čaja, koncentriranje mošta od grožđa, vina, koncentriranje rijetkog soka u proizvodnji šećera i umjetnih sladila, soka javora, preradu kukuruza i soje, soka špinata i luka, desalinizaciju morske i boćate vode, obrada otpadne vode, pročišćavanje biotehnoloških proizvoda fermentacije, odvajanje alkohola iz vodenih otopina, koncentriranje ekstrakta gljiva, ekstrakta i komponenti mirisa i okusa morske hrane, glutaminske kiseline dobivene fermentacijom juhe od mesa kao i cijeli niz drugih mogućnosti uporabe (Popović, 2019).



Slika 9 Princip rada tlačnih membranskih procesa (Popović, 2019)

2.4.2. Vrste membrana

U tehnološkom smislu membrane predstavljaju selektivnu barijeru koja zbog svojih svojstava omogućava selektivnu propustljivost, odnosno razdvajanje pojedinih komponenata bez ikakvih kemijskih promjena na njima. Samo u posebnim situacijama, kada se na membrani nalaze imobilizirani enzimi ili katalizatori, tijekom procesa filtracije tj. razdvajanja komponenata može doći i do kemijskih promjena na membrani (Osada i Nakagawa, 1992; Mulder, 1996). Membrane se mogu podijeliti u nekoliko skupina s obzirom na mehanizam separacije, kemijski sastav, fizičku strukturu i geometrijski oblik.

S obzirom na strukturu membrane mogu biti:

- Homogene (izgrađene od jedne vrste materijala) i
- Heterogene (od više vrsta materijala).

Prema fizičkoj strukturi membrane se dijele na:

1. Simetrične (homogene) – po poprečnom presjeku su iste strukture i ne mijenjaju se separacijska svojstva. Debljine su oko 10 – 200 µm (smanjenjem debljine povećava se permeabilnost membrane. Po svojoj strukturi one mogu biti:

- Porozne membrane – imaju dovoljno velike pore u odnosu na molekule polimera pa se transport kroz membranu odvija kroz pore membrane bez obzira na pogonsku silu, i
- Neporozne membrane – ne sadrže pore mikroskopskih dimenzija pa se transport odvija između lanaca makromolekula tvari membrane.

2. Asimetrične – po poprečnom presjeku nemaju jednaku strukturu i istu permeabilnost (propusnost). Ove membrane se sastoje od tankog gustog sloja na površini membrane debljine od 0,1 do 0,5 µm koji može biti porozan i neporozan, a koji se nalazi na znatno poroznijem nosaču. Porozni sloj (nosač) debljine je 50 do 150 µm. Tanki gusti sloj i porozni sloj (nosač) su izrađeni od istog materijala (polimera).

3. Kompozitne – asimetrične membrane, sastoje se od tankog gustog sloja na površini membrane i poroznog sloja kao nosača. Debljina slojeva je ista kao kod asimetričnih membrana, ali su tanki gusti (kožasti) sloj i porozni sloj nosač izrađeni od različitih materijala (polimera).

Prema mehanizmu separacije membrane se dijele na:

1. Porozne – separacija se temelji na principu razlike u veličini pora i molekula odnosno čestica (efekt sita). Primjenjuju se kod MF, UF i NF. Prema veličini pora dijele se na:

- Makroporozne – veličina pora veća od 50 nm;
- Porozne – veličina pora od 2 do 50 nm, i
- Mikroporozne – veličina pora manja od 2 nm.

2. Neporozne – mehanizam separacije se temelji na različitoj topljivosti i različitoj brzini difuzije kroz membranu. Membrane za RO su ovoga tipa membrana.

3. Membrane s ionskom izmjenom – specifični tip neporoznih membrana, imaju fiksirane pozitivne ili negativne grupe. Postoje kationske i anionske membrane. Kationske membrane imaju fiksirane negativne grupe. Anionske membrane imaju fiksirane pozitivne grupe.

S obzirom na kemijski sastav membrane mogu biti:

- Organske membrane – napravljene od organskih polimera, i
- Anorganske membrane – izrađene od keramike, metala i stakla.

Prema geometrijskom obliku membrane se mogu podijeliti na:

1. Ravne (planarne) membrane – u obliku ravnih, tankih folija s potpornim poroznim nosačem, mogu biti izvedene kao pločaste i spiralno namotane.

2. Cijevne membrane – u obliku cijevi promjera većeg od 3 mm, izrađuju se kao višekanalne cijevi od polimernih materijala, keramike, metala i stakla.

3. Kapilarne membrane – u obliku kapilarnih cjevčica, promjera od nekoliko mm do nekoliko μm.

4. Membrane u obliku šupljih vlakana – u obliku poroznih niti, promjera kao i kapilarne membrane (Mulder, 1996; Pabby i sur., 2009).

2.4.3. Vrste modula

Modul predstavlja najmanju jedinicu koja sadrži membranu (ili membrane) i neophodnu prateću potpornu strukturu, on je najmanja jedinica koja je sposobna obavljati proces membranske filtracije. Sastoje od membrane i kućišta u koje je ugrađena membrana. Kućište ima dovod dobavne otopine, te odvod retentata i permeata (Moslavac, 2003).

Konstrukcijsko rješenje modula mora udovoljiti odgovarajućim zahtjevima kao što su:

- velika otpornost na radni tlak i koroziju;
- postizavanje i mogućnost kontrole potrebnog tlaka kako bi se mogao povećati protok permeata tijekom membranske separacije;
- mogućnost kontrole ispravnosti i pravilnog rada svake membrane;
- jednostavna i brza zamjena oštećene membrane kako bi se izbjegla kontaminacija permeata s fluidom koji se filtrira.

Kako bi se otklonila mogućnost pojave koncentracije polarizacije treba biti osigurana velika brzina protjecanja fluida kroz modul i tečenje kroz uske kanale. Oblik membrane određuje konstrukciju modula za filtraciju u kojeg se ugrađuju membrane (Moslavac, 2003).

U ovisnosti od konstrukcijskih rješenja razlikujemo nekoliko tipova modula:

- pločasti moduli,
- cijevni moduli,
- kapilarni moduli,
- moduli s šupljim vlaknima i
- spiralni (Popovic, 2019).

Pločasti modul

Pločasti moduli imaju najdužu primjenu u prehrambenoj industriji. Pločasti modul je kružnog presjeka s ravnim odnosno planarnim membranama. Modul se sastoji od nosećih ploča i ploča razmaknica. Membrane se nalaze s obje strane noseće ploče čija je površina isprepletena žljebovima (mrežasta struktura), te tvore kanale kroz koje permeat protječe u unutrašnjost ploče. Promjer ovih kanala je manji od 1 mm, te je osigurano laminarno tečenje tijekom filtracije. Moduli su složeni uglavnom vertikalno, rjeđe horizontalno. Broj nosećih ploča i razmaknica koji se slažu ovisi o željenom kapacitetu i visini modula. Membrane, noseće ploče i razmaknice mogu biti s jednim centralnim otvorom ili s dva periferna otvora. Kroz otvore prolazi metalni valjak koji je učvršćen za kućište (postolje). Valjak je nosač razmaknica i nosećih ploča s membranama. Razmaknice imaju otvore i žljebove kroz koje dobavna tekućina dospijeva na membranu. Permeat prolazi kroz membranu na noseću ploču. Noseća ploča je dvoslojna a slojevi su porozni i kroz pore slojeva prolazi permeat koji je prošao membranu i između slojeva prolazi do vanjske cjevčice (pipca) kroz koju izlazi van i odvodi se. (Mulder, 1996; Moslavac, 2003; Pozderović, 2011)

Cijevni moduli

Cijevne membrane se sastoje od cijevi koje nisu slobodne odnosno samostalne već su ugrađene u porozni nehrđajući materijal kao potporu. Cijevne membrane se izrađuju od keramike i plastičnih polimernih materijala. Cijevni moduli se sastoje od više cijevnih membrana koje su ugrađene u metalno ili plastično cijevno kućište, a međusobna povezanost cijevi (serijski ili paralelno) utječe na povećanje tečenja fluida, ostvarenje potrebne membranske površine za učinkovitiju filtraciju, bolje iskorištenje prostora te umanjuje cijenu proizvodnje. Na jednoj strani cijevnog kućišta se dovodi dobavna tekućina koja prolazi kroz cijevne membrane i na drugom kraju cijevnog kućišta izlazi retentat. Permeat prolazi poprečno kroz membranu i poroznu potporu i sakuplja se u kućištu modula. Permeat se odvodi kroz

bočni otvor na kućištu. Promjer cijevnih membrana može biti od 4 mm i više, broj cijevi može biti različit (4 - 19 cijevi) i taj broj nije ograničen (Moslavac, 2003; Pozderović, 2011).

Kapilarni moduli

Kapilarni modul se sastoji od većeg broja kapilara koje se nalaze u cijevnom kućištu modula. Slobodni krajevi kapilara na krajevima cijevnog kućišta su učvršćeni, a prostor između kapilara hermetički zatvoren s materijalom kao što su epoksi smola, poliuretan ili silikonska guma. Kapilarne membrane (kapilare) su slobodne bez potpore kao što je to kod cijevnih membrana. Gustoća pakiranja kapilarnih modula je 600-1200 m_2 /m_3. Dobavna tekućina se može provoditi kroz kapilare i u prostor između kapilara (Pozderović, 2011).

Moduli sa šupljim vlaknima

Razlika između kapilarnog modula i modula sa šupljim vlaknima je samo u dimenzijama kapilara i šupljih vlakana. Sve drugo je isto kao što je opisano kod kapilarnog modula. Gustoća pakiranja kod ovih modula je vrlo visoka i može biti do 30 000 m_2 /m_3. Ovi moduli se koriste za sve vrste membrana (procesi od reverzne osmoze do mikrofiltracije) (Pozderović, 2011).

Spiralni moduli

Spiralni modul ima ravnu ili planarnu membranu, sastoji se od više slojeva i to od membrane i razmaknica za dobavnu tekućinu i permeat. Razmaknice se nalaze između membrana, one su porozne (mrežaste) strukture, zadatak im je da razdvajaju membrane i tvore propusne kanale za dobavnu tekućinu i permeat. Membrane i razmaknice se slažu u sendvič koji se spiralno namota u rolu. Modul se sastoji od centralne uže uzdužne cijevi i cijevnog kućišta. Centralna cijev ima žlijeb po dužini u koji se postavlja početak sendviča membrana i razmaknica, potom se sendvič namota oko cijevi. Tako dobivena rola se ulaže u cijevno metalno kućište. Dobavna tekućina struji uzdužno kroz modul po površini membrane kroz kanal u kojem se nalazi razmaknica za dobavnu tekućinu. Kao retentat izlazi na drugom kraju cijevi kućišta. Permeat prolazi kroz membranu poprečno i struji spiralno kroz kanal u kojem se nalazi razmaknica za permeat. Permeat ulazi u centralnu cijev i kroz nju se na kraju modula izvodi van (Pozderović, 2011).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Istražiti utjecaj koncentriranja reverznom osmozom 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 reverznu osmozu Lab Unit M20 s membranama Alfa Laval RO98pHt M20. Početni volumen je 3 L.

3.2. MATERIJALI 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 reverznom osmozom ispitivani su aromatični spojevi u koncentriranom vinu.

Pribor

1. Za proces koncentriranja vina reverznom osmozom upotrijebljene su kompozitne membrane tipa RO98pHt M20. Kod RO membrana porozni sloj (nosač) je izrađen od poliestera. Karakteristike membrana navedene su u **Tablici 3**.

Tablica 3 Karakteristike RO membrana

Tip membrane	RO98pHt M20
Proizvođač	Alfa Laval Danska
Materijal	poliamid
R_{NaCl}	> 0,98
Maksimalna radna temperatura °C	60
Maksimalni radni tlak bar	55
Dozvoljeni pH	2 – 11

Upotrijebljeno je šest kompozitnih membrana, složenih u pločasti modul, ukupne površine 0,1736 m^2 (jedna membrana ima površinu od 0,02893 m^2).

2. **Slika 10** prikazuje laboratorijski uređaj za reverznu osmozu „Lab Unit M20“ danske tvrtke Dow Danmark Separation Systems De Danske Sukkerfabrikker, Copenhagen, s pločastim modulom i membrana tipa Alfa Laval RO98pHt M20.



Slika 10 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 bilo moguće postići, a to je nakon izdvajanja alkohola 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:

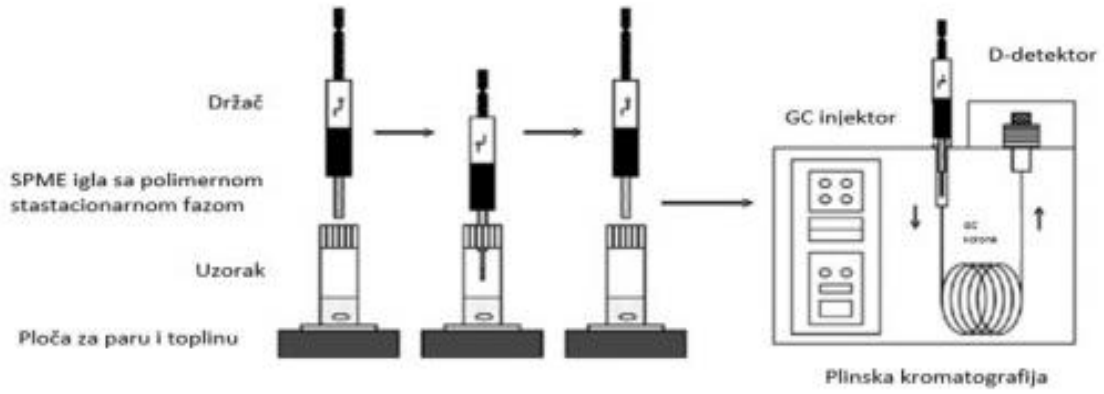
Prilikom pripreme uzorka korištena je tehnika mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME) za koju je neophodna SPME aparatura. Osnova SPME aparature je igla unutar koje se na polimernu stacionarnu fazu adsorbiraju aromatični sastojci. U radu je za pripremu uzoraka korišteno punilo od polidimetilsiloksana/divinilbenzena (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 20 minuta. Po završetku adsorpcije na (**Slika 11**) igla s adsorbiranim sastojcima odmah se stavlja u injektor plinskog kromatografa te slijedi njihova toplinska desorpcija.

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 11 Korištenje SPME igle 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 pri 40˚C,

Konačna temperatura: 250˚C,

Temperatura injektora: 250˚C,

Temperatura detektora: 280˚C.

Desorpcija uzorka u injektor: 10 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 $C_7 - C_{30}$ priređena u laboratoriju prema istim uvjetima analize. Određena su vremena zadržavanja pojedinih ravnolančanih ugljikovodika te su izračunati retencijski indeksi komponenata vina prema jednadžbi:

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

gdje je:

I retencijski indeks zadržavanja,

n broj ugljikovih atoma u manjem n-alkanu,

N broj ugljikovih atoma u većem n-alkanu,

t'_r ,prilagođeno vrijeme zadržavanja.

Dobiveni retencijski indeksi uspoređeni su s literaturom i dodatno potvrdili identifikaciju komponenata. Za kvantifikaciju pojedinih spojeva korišten je interni standard, mirtenol.

4. REZULTATI

4.1. TABLIČNI PRIKAZI REZULTATA

Tablica 4 Retencijski indeks i sadržaj kiselina (µg/L) identificiranih u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim postupkom reverzne osmoze s hlađenjem i bez hlađenja.

Kiseline(µg/L)	RI	Vino	RO25H	RO35H	RO45H	RO55H	RO25BH	RO35BH	RO45BH	RO55BH
Oktanska kiselina	1199	25,6±0,3	68,6±1,3	62,1±0,9	66,4±1,0	72,1±0,9	46,5±0,5	64,7±0,4	72,1±2,3	77,2±1,6
Dekanska kiselina	1376	65,4±0,8	134,8±8,0	137,4±4,9	186,1±10,1	206,0±6,3	142,5±6,0	155,6±7,1	153,9±5,7	166,0±10,0
Laurinska kiselina	1556	16,5±0,1	31,8±0,9	39,7±0,4	36,2±0,4	52,7±3,5	21,9±0,8	46,4±1,2	60,0±4,9	65,0±0,9
Miristinska kiselina	1749	24,8±0,5	40,7±0,9	52,2±0,6	52,4±1,1	70,3±1,3	18,4±0,7	42,1±0,9	63,0±2,3	62,6±0,2
Palmitinska kiselina	2004	14,0±0,6	20,3±0,9	26,9±1,0	35,2±0,1	38,9±1,7	11,0±0,4	7,7±0,1	9,4±0,2	10,0±0,1

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

Tablica 5 Retencijski indeks i sadržaj alkohola (µg/L) identificiranih u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim postupkom reverzne osmoze s hlađenjem i bez hlađenja.

Alkoholi (µg/L)	RI	Vino	RO25H	RO35H	RO45H	RO55H	RO25BH	RO35BH	RO45BH	RO55BH
Izoamil alkohol	734	3979,2±114,9	3784,1±66,6	5148,7±153,7	14954,9±472,4	14433,4±934,9	2176,5±75,2	4335,8±31,9	6938,9±347,0	7681,4±12,0
1-butanol	752	1058,3±55,8	2609,5±30,5	4132,2±143,1	4462,0±67,5	4377,8±32,3	-	422,8±3,8	575,1±27,5	300,2±21,2
2,3-butandiol	804	302,4±27,4	530,1±5,6	586,8±3,5	1057,8±23,3	1601,9±113,1	160,5±0,4	537,2±12,3	527,5±12,4	557,6±7,3
1-heksanol	868	42,4±0,7	46,5±1,2	66,0±1,4	59,1±0,6	68,8±2,9	-	0,8±0,0	0,6±0,0	2,2±0,0
Metionol	981	20,6±0,8	25,3±0,9	26,3±0,2	29,8±0,5	32,3±1,0	11,9±1,7	14,1±0,2	15,0±0,6	16,2±0,2
Benzil alkohol	1037	7,2±0,1	17,8±0,1	13,2±0,1	15,2±0,3	14,8±0,7	-	-	-	-
1-oktanol	1071	14,4±0,3	35,7±0,0	41,6±0,3	44,0±1,4	44,8±2,4	25,6±1,6	28,6±0,1	30,2±1,2	30,2±0,3
Fenetil alkohol	1103	1857,7±1,5	3766,8±41,7	4155,9±8,1	4523,1±94,6	4532,3±119,3	2628,8±135,7	2809,1±62,9	2885,4±114,7	2957,5±48,1
Dodekanol	1469	6,0±0,1	9,8±0,0	15,0±0,3	44,5±1,6	69,3±2,2	7,0±0,2	8,0±0,0	12,1±1,3	14,3±0,2

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

Tablica 6 Retencijski indeks i sadržaj estera (µg/L) identificiranih u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim postupkom reverzne osmoze s hlađenjem i bez hlađenja.

Esteri (µg/L)	RI	Vino	RO25H	RO35H	RO45H	RO55H	RO25BH	RO35BH	RO45BH	RO55BH
Etil heksanoat	997	57,8±3,8	59,7±1,1	68,2±2,4	70,4±1,6	49,6±0,9	37,8±2,2	47,3±1,9	38,4±0,7	47,6±0,4
Etil 4-hidroksibutanoat	1060	65,0±0,0	55,0±0,5	95,7±1,1	106,9±1,6	34,7±0,3	50,1±1,4	45,5±0,3	47,4±1,8	48,5±0,5
Dietil sukcinat	1179	1447,0±37,7	1447,4±2,6	1744,5±121,8	1843,8±114,9	1274,8±9,2	1204,9±8,8	1294,6±8,1	1569,1±24,9	1654,3±42,0
Etil oktanoat	1191	214,8±7,3	236,7±3,8	243,7±2,9	242,4±0,1	174,5±4,1	137,5±0,1	116,5±9,9	102,6±0,1	115,6±2,5
Etil hidrogen sukcinat	1198	619,7±1,5	533,4±4,3	739,2±4,9	756,3±15,1	361,3±7,6	597,7±12,2	525,7±3,8	549,9±19,9	570,4±8,4
Fenetilacetat	1248	92,7±1,9	114,8±0,1	116,5±3,0	118,8±1,7	91,5±2,7	42,5±1,9	78,0±2,0	82,2±3,1	84,2±0,1
Etil dekanoat	1391	36,7±1,4	52,9±3,0	50,8±1,8	68,7±1,2	46,7±0,9	23,5±0,3	23,0±0,2	22,8±1,3	28,8±0,7
Etil vanilat	1580	16,3±0,8	17,1±2,1	17,9±0,7	48,5±1,6	14,6±0,1	16,7±1,0	15,6±0,5	15,6±0,6	15,2±0,5
Etil laurat	1584	65,5±0,9	61,1±0,5	72,8±0,7	85,6±4,0	34,4±0,7	12,3±0,0	11,6±0,3	11,6±0,0	11,4±0,6
Heksil salicilat	1667	13,9±0,7	15,0±0,5	17,6±0,2	18,6±1,0	18,3±0,6	4,7±0,4	7,0±0,1	8,2±0,2	8,2±0,1
Etil miristat	1778	33,9±0,2	30,9±0,1	32,7±0,5	37,7±7,5	44,5±1,0	23,2±1,3	26,2±1,1	27,0±1,0	27,0±0,3
Diizobutil ftalat	1859	195,8±14,5	233,3±10,7	273,8±8,6	307,3±2,1	29,9±0,8	107,4±1,4	103,4±5,1	176,9±7,9	183,0±5,7
Etil pentadekanoat	1880	45,6±1,1	32,1±1,3	24,5±0,9	22,3±1,6	27,9±0,7	30,5±2,4	28,7±0,9	30,5±1,7	25,4±0,0
Metil palmitat	1907	102,2±7,8	122,7±1,2	132,8±1,4	140,6±4,1	23,0±0,1	12,0±0,3	25,8±0,2	33,9±1,1	34,2±0,2
Dibutil ftalat	1953	102,7±1,8	152,3±6,8	172,0±5,2	174,1±10,2	45,3±1,2	25,3±6,5	60,4±0,9	82,0±4,8	85,6±1,1
Etil palmitat	1978	139,8±1,0	151,9±7,6	172,6±6,7	178,1±0,4	113,5±0,7	136,9±0,6	137,2±3,8	171,6±4,8	172,4±8,0
Etil linoleat	2146	9,3±0,0	9,5±0,0	9,2±0,2	9,3±1,5	7,6±0,2	4,7±0,2	4,7±0,2	4,3±0,2	3,5±0,1
Etil oleat	2152	24,2±0,8	22,0±0,8	27,6±0,8	27,5±0,3	15,7±0,3	21,2±0,1	20,8±0,4	21,3±0,6	23,3±7,7
Etil stearat	2176	58,5±1,3	60,0±1,6	58,1±0,3	57,1±1,2	18,1±0,7	54,1±2,5	58,0±0,2	55,0±3,4	51,1±1,2

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

Tablica 7 Retencijski indeks i sadržaj karbonilnih spojeva (µg/L) identificiranih u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim postupkom reverzne osmoze s hlađenjem i bez hlađenja.

Aldehidi i ketoni (µg/L)	RI	Vino	RO25H	RO35H	RO45H	RO55H	RO25BH	RO35BH	RO45BH	RO55BH
4-propilbenzaldehid	1261	6,7±0,3	9,9±0,0	29,1±1,1	99,9±5,7	124,9±8,0	11,6±0,4	18,2±0,7	26,1±0,6	30,9±2,0
Geranil aceton	1448	5,3±0,1	11,8±0,1	16,6±0,2	19,6±0,0	22,5±0,8	6,2±0,1	12,2±0,2	13,0±0,6	15,0±0,2
Lilial	1517	4,4±0,2	6,8±0,1	7,9±02	7,0±0,3	7,8±0,3	4,9±0,1	5,7±0,1	8,3±0,4	8,3±0,3
Heksilcinamal	1738	4,5±0,2	8,8±0,3	14,4±1,5	17,7±0,7	18,0±0,8	4,7±0,1	7,7±0,1	9,3±0,3	9,6±0,2

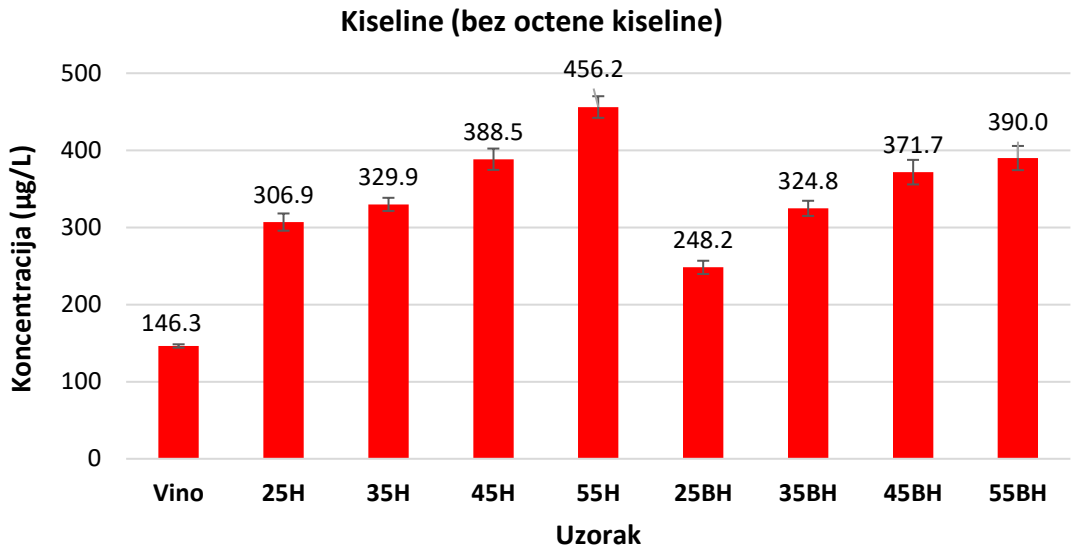
*RI – retencijski indeks; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja

Tablica 8 Retencijski indeks i sadržaj terpena (µg/L) identificiranih u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim postupkom reverzne osmoze s hlađenjem i bez hlađenja.

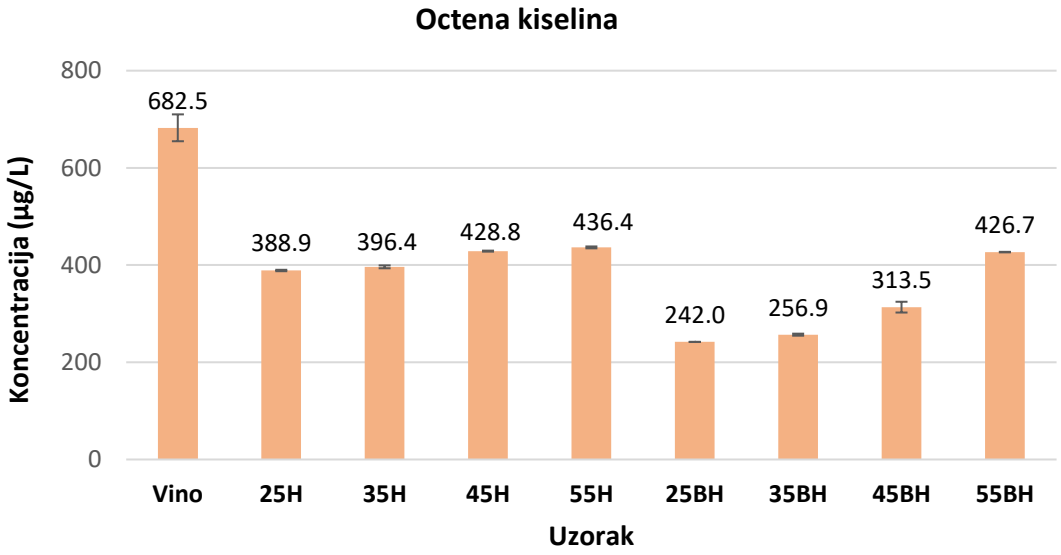
Terpeni (µg/L)	RI	Vino	RO25H	RO35H	RO45H	RO55H	RO25BH	RO35BH	RO45BH	RO55BH
α-terpinolen	1092	15,9±0,7	22,8±0,1	32,4±1,4	33,8±0,3	32,9±1,2	10,6±0,3	21,5±1,1	26,9±1,1	26,8±0,2
Nerol	1218	5,1±0,1	8,6±0,1	8,7±0,6	9,5±0,2	9,7±0,3	5,7±0,1	6,9±0,0	7,9±0,4	8,3±0,4
β-citronelol	1223	24,2±1,0	33,3±0,0	37,5±1,2	42,3±0,5	50,2±0,1	10,9±1,1	26,5±1,8	37,3±1,2	35,8±1,52
β-damascenon	1377	18,9±1,9	68,4±0,5	77,2±1,2	77,0±0,5	110,1±6,7	60,2±1,7	72,4±2,2	92,7±11,2	112,9±3,2
Fenantren	1772	5,3±0,1	7,2±0,0	7,2±0,1	8,2±0,1	8,6±0,1	4,4±0,0	4,9±0,1	5,6±0,3	6,7±0,0

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

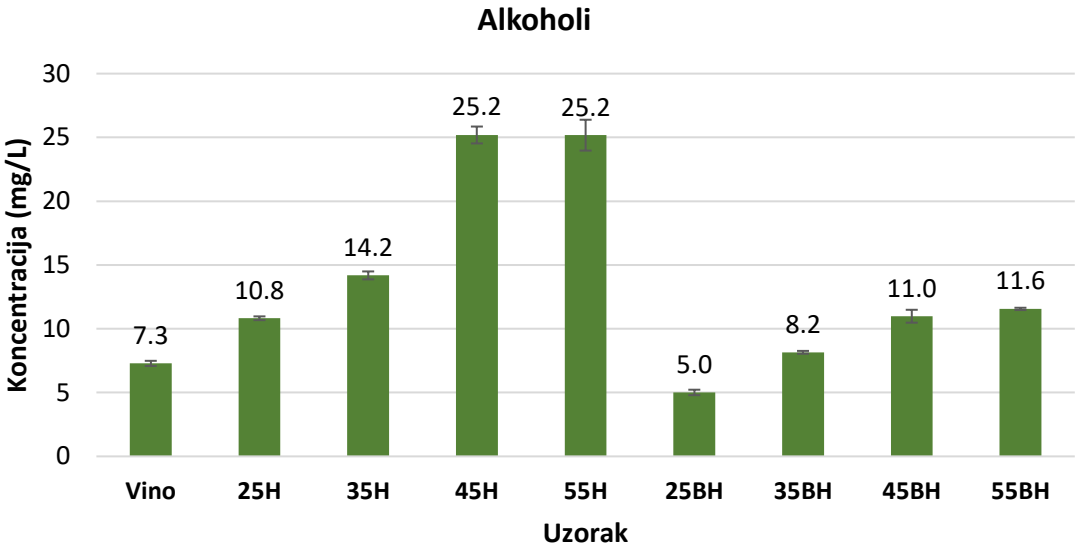
4.2. GRAFIČKI PRIKAZI REZULTATA



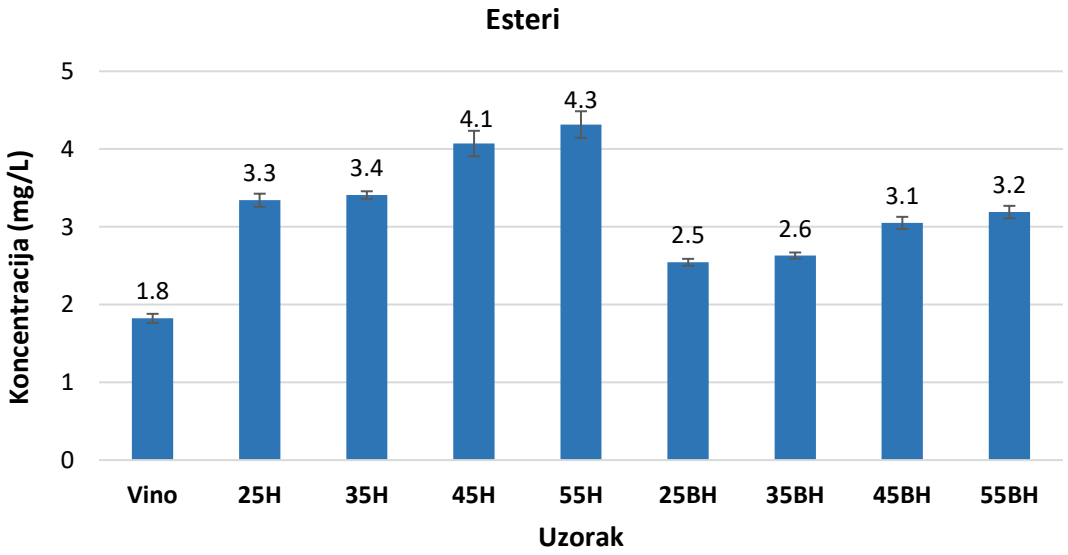
Slika 12 Zadržavanje kiselina (bez octene kiseline) u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon, te vinskim koncentratima dobivenim procesom reverzne osmoze pri tlaku 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom i bez primjene hlađenja



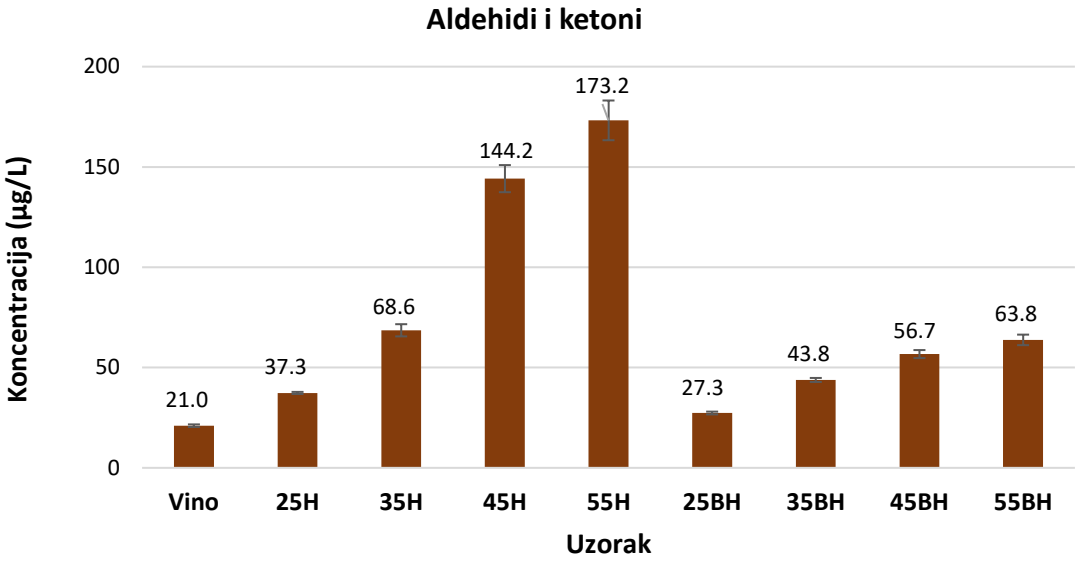
Slika 13 Zadržavanje octene kiseline u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon, te vinskim koncentratima dobivenim procesom reverzne osmoze pri tlaku 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom i bez primjene hlađenja



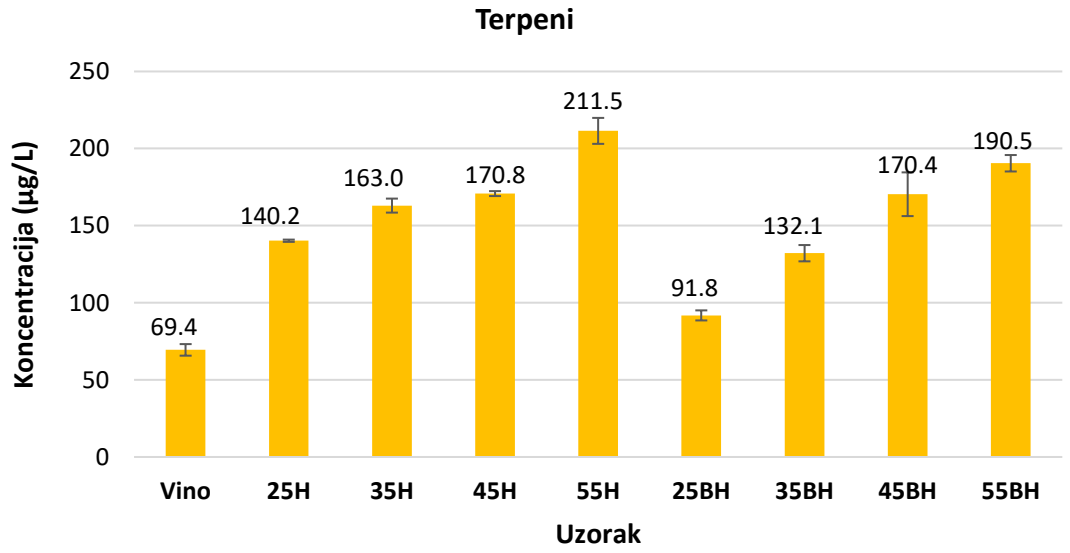
Slika 14 Zadržavanje alkohola u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon, te vinskim koncentratima dobivenim procesom reverzne osmoze pri tlaku 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom i bez primjene hlađenja



Slika 15 Zadržavanje estera u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon, te vinskim koncentratima dobivenim procesom reverzne osmoze pri tlaku 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom i bez primjene hlađenja



Slika 16 Zadržavanje karbonilnih spojeva u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon, te vinskim koncentratima dobivenim procesom reverzne osmoze pri tlaku 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom i bez primjene hlađenja



Slika 17 Zadržavanje terpena u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon, te vinskim koncentratima dobivenim procesom reverzne osmoze pri tlaku 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom i bez primjene hlađenja

5. RASPRAVA

Koncentriranje vina nije uobičajen postupak u tehnologiji proizvodnje vina. Inače, koncentriranje uparavanjem jedan je od procesa konzerviranja u prehrambenoj industriji koji se upotrebljava već dugi niz godina. Uz mnogobrojne prednosti, najveći nedostatak ovog procesa je značajan gubitak aromatičnih tvari. Dugi niz godina provode se brojna 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 reverzne osmoze 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 reverzne osmoze na sadržaj tvari arome vina Cabernet Sauvignon prikazani su u **Tablicama 4 – 8** te na **Slikama 12 - 17**.

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 hlapljive 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.

Tablice 4 - 8 i **Slike 12 - 17** prikazuju identificirane aromatične tvari u vinu i koncetratima vina. Plinskom kromatografijom s masenom spektrometrijom uz metodu mikroekstrakcije na čvrstoj fazi 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 hlapljivih kiselina u analiziranim vinima identificirane su octena, oktanska, dekanska, laurinska, miristinska i palmitinska kiselina (**Tablica 4**, **Slika 12** i **Slika 13**). 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 heterofermentativne 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.). Iz **Slike 13** vidljivo je da je najveća koncentracija octene kiseline prisutna u početnom uzorku vina Cabernet Sauvignon (682,5 µg/L). Koncentriranjem vina reverznom osmozom pri različitim procesnim tlakovima i temperaturnom režimu došlo je do gubitaka octene kiseline u koncentratima. Najveće zadržavanje octene kiseline imao je koncentrat dobiven pri procesnom tlaku od 55 bara s hlađenjem, dok su u koncentratima 45H i 55BH zadržane podjednake količine octene kiseline. Najmanje zadržavanje navedene kiseline zamijećeno je u koncentratu dobivenom primjenom procesnog tkala od 25 bara bez hlađenja (242,0 µg/L). Octena kiselina čini i do 99% od svih hlapljivih 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 hlapljivim komponentama pozitivno utječu na njegove aromatske karakteristike (Rankie i sur., 1969).

Općenito, sadržaj hlapljivih kiselina u svim koncentratima veći je u odnosu na početni uzorak vina (**Slika 12**). Primjena visokog tlaka od 55 bara s hlađenjem najviše utječe na povećanje sadržaja kiselina u koncentratu (456,2 µg/L) u odnosu na početni uzorak vina (146,3 µg/L).

Alkoholi su aromatični spojevi koji nastaju kao sekundarni produkti metabolizma kvasca. U ispitivanom vinu i koncentratima identificirano je devet alkohola (**Tablica 5**). Općenito, u koncentratima dobivenim reverznom osmozom najviše zastupljeni su izoamil alkohol, 1-butanol i fenetil alkohol. Na **Slici 14** prikazano je zadržavanje alkohola u koncentratima od vina Cabernet Sauvignon dobivenim reverznom osmozom pri različitim procesnim uvjetima. Vrijednosti su se kretale u rasponu od 25,2 mg/L (najviše alkohola) u koncentratima dobivenim primjenom tlaka od 45 i 55 bara s hlađenjem pa do 5,0 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 5**).

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 (**Tablica 7**), od toga najviše u koncentratu dobivenom pri tlaku od 55 bara s hlađenjem (173,2 μg/L). Hlađenje je 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, osim u koncentratu dobivenom pri tlaku od 25 bara bez hlađenja, gdje je zadržavanje bilo najmanje (**Slika 16**).

Esteri su produkti reakcije acetil-CoA s višim alkoholima koji nastaju degradacijom amino kiselina ili ugljikohidrata. U **Tablici 6** i na **Slici 15** prikazano je zadržavanje estera u koncentratima vina Cabernet Sauvignon procesom reverzne osmoze. Može se primijetiti kako su etil-esteri masnih kiselina više prisutni od estera viših alkohola. To su etil acetat, etil dekanoat, 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 koncentrati sadržavali su sve nađene estere, gdje su najveću koncentraciju imali dietil sukcinat, 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 (4,3 mg/L) postignuto je u koncentratu dobivenom pri 55 bara s hlađenjem (**Slika 15**).

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 8**. Na **Slici 17** prikazano je zadržavanje terpenoida u vinskim koncentratima dobivenim reverznom osmozom 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 svježe, 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 reverzne osmoze za koncentriranje vina Cabernet Sauvignon primjenom različitih procesnih tlakova i temperaturnih režima.
- Koncentriranje vina Cabernet Sauvignon membranskim postupkom reverzne osmoze bilo je moguće provesti do određenog udjela topljive suhe tvari. Kod reverzne osmoze 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 slučaja 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 hlapljivih spojeva od onih bez hlađenja pri istim tlakovima. Također, nešto bolje zadržavanje dobiveno je pri većim tlakovima.
- S obzirom na postignuti udio suhe tvari, reverzna osmoza se može primijeniti kao predkoncentracijski postupak.

7. LITERATURA

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

Blažević P: Utjecaj temperature i tlaka na kakvoću soka aronije kod koncentriranja reverznom osmozom. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet u Osijeku, Osijek, 2014.

Cedilak A: Antioksidacijska svojstva vina. *Završni rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2016.

Cheryan M: *Ultrafiltration Handbook*. Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster-Basel, 1986.

Čobanov A: Kakvoća domaćeg bijelog vina Pinot sivi iz podregije Slavonija. *Završni rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2016.

Dolar D: Utjecaj poroznosti i ostalih karakteristika NF/RO membrana na njihovu separacijsku djelotvornost pri obradi voda. *Doktorska disertacija*. Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2009.

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.

Haarstrick A, Rau U i Wagner F: Cross-flow filtration as a method of separating fungal cells and purifying the polysaccharide produced. *Bioprocess Engineering* 6:179-186, 1991.

Heldman DR i Lund DB: *Handbook of food engineering*. 2nd edition, CRC Press, Boca Raton, 2007.

Herceg Z: *Procesi konzerviranja hrane: novi postupci*. Golden marketing-Tehnička knjiga, Zagreb, 2009.

Horvat B: Od berbe do mladog vina. *Gospodarski list*; prilog prema knjizi Zoričić M: Domaće vino. Novinarsko nakladničko i trgovačko d.d., Zagreb, 2010.

Jakobek L, Šeruga M, Šeruga B, Novak I i Medvidovic-Kosanović M: Phenolic compound composition and antioxidant activity of fruits of Rubus and Prunus species from Croatia. *International Journal of Food Science and Technology* 44:860–868, 2009.

Kähkönen MP, Hopia AI i Vuorela H J: Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 47:3954–3962, 1999.

Karalić H: Polifenolne tvari u vinu. *Završni rad*, Prehrambeno-tehnološki fakultet u Osijeku, Osijek, 2014.

Kelemović R: Utjecaj membrane i tlaka na kakvoću i protok vina kod ultrafiltracije i mikrofiltracije pločastim modulom. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet u Osijeku, Osijek, 1999.

Kong JM, Chia LS, Goh NK, Chia TF i Brouillard R: Analysis and biological activities of antocyanins. *Phytochemistry* 64:923-933, 2003.

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.

Lytra G, Tempere S, Floch A, Revel G i Barbe JC: Study of Sensory interactions among red Wine Fruity esters in a model Solution. *Journal of agricultural and Food chemistr*y 61:8504-13, 2013.

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

Maletić E, Karoglan Kontić J i Pejić I: V*inova loza - Ampelografija, ekologija, oplemenjivanje*. Školska knjiga, Zagreb, 2008.

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

Ministarstvo poljoprivrede RH: *Zakon o vinu*. Narodne novine 32/19, 2019.

Ministarstvo poljoprivrede RH: *Pravilnik o proizvodnji vina*. Narodne novine 2/05, 2005.

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

Moreno J i Peinado R: *Enological chemistry*. Academic Press, Boston, 2012.

Moslavac T: Koncentriranje model otopina alkohola, estera i aldehida RO*. Doktorski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet u Osijeku, Osijek, 2003.

Mulder M: *Basic Principles of Membrane Technology*. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Boston, 1996.

Osada Y i Nakagawa T: *Membrane Science and Technology*. Marcel Dekker Inc., New York, 1992.

Osrečak M, Kozina B, Maslov L i Karoglan M: Utjecaj djelomične defolijacije na koncentraciju polifenola u vinima Graševine, Traminca i Manzonija bijelog (Vitis vinifera L). *Proceedings*. 46th Croatian and 6th International Symposium on Agriculture. Opatija. Croatia. str. 972-975, Zagreb: Regata d.o.o. Zagreb, 2011.

Pabby AK, Rizvi SSH i Sastre AM: *Handbook of membrane separations. Chemical, pharmaceutical, food and biotechnological applications*. CRC Press, Vienna Austria, 2009.

Paunović R i Dančić M: *Vinarstvo i tehnologija jakih alkoholnih pića*. Zadružna knjiga, Beograd, 1967.

Perić P: *Sok od grožđa*. Prehrambena tehnologija u Požegi, Požega, 2013.

Pichler A: Tehnologija vina. *Nastavni materijali*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2019.

Pichler A: Utjecaj dodataka i skladištenja na kvalitetu, reološka i termofizikalna svojstva paste od maline. Doktorski rad. Prehrambeno – tehnološki fakultet u Osijeku, 2011.

Popović K: Utjecaj koncentriranja membranskim procesima tvari boje i arome soka od aronije. *Doktorska disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet u Osijeku, Osijek, 2019.

Pozderović A: Tehnologija vina. *Interna skripta*. Prehrambeno-tehnološki fakultet u Osijeku, Osijek, 2010.

Pozderović A: Membranski procesi. *Nastavni materijali*. Prehrambeno tehnološki-fakultet u Osijeku, Osijek, 2011.

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

Ribereau Gayon, Glories Y, Maujean A i Dudourdieu D: *Handbook of enology – the microbiology of wine and vinifications, second edition.* John Wiley and sons, Chichester, West Sussex, England, 2006.

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.

Smiljanić J: Utjecaj temperature i tlaka na protok permeata kod koncentriranja soka aronije nanofiltracijom. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet u Osijeku, Osijek, 2013.

Sokolić I: *Zlatna knjiga o vinu*. Otokar Keršovani, Rijeka, 1976.

Stričević D i Sever B: *Organska kemija*. Profil International, Zagreb, 2001.

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.

Van Der Horst HC i Hanemaaijer JH: Cross-flow microfiltration in the food industry: state of the art. *Desalination* 77:235-258, 1990.

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

Wang LK, Shammas NK, Cheryan M, Zeng Y-M i Zou S-W: Treatment of food industry foods and wastes by membrane filtration. U *Handbook of environmental engineering, Volume 13: Membrane and desalination technologies*. Springer Science+Bussiness Media, LLC, 237-267, 2011.

Wang H i Zhou H: Understand the basics of membrane filtration. *Chemical Engineering Progress* 109:33-40, 2013.

Warczok J, Ferrando M, Lopez F i Guell C: Concentration of apple and pear juices by nanofiltration of low pressure. *Journal of Food Engineering* 63:63-70, 2004.

Zoričić M: *Podrumarstvo*. Globus, Zagreb, 1996.