KARAKTERIZACIJA I DIFERENCIJACIJA CRNIH VINA RAZLIČITIH KULTIVARA NA OSNOVI SASTAVA FENOLNIH SPOJEVA

Zgrablić, Lara

Master's thesis / Specijalistički diplomski stručni

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **The Polytechnic of Rijeka / Veleučilište u Rijeci**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:125:184706

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

Repository / Repozitorij:

Polytechnic of Rijeka Digital Repository - DR PolyRi

zir.nsk.hr

Image not found or type unknown

VELEUČILIŠTE U RIJECI

Lara Zgrablić

KARAKTERIZACIJA I DIFERENCIJACIJA CRNIH VINA RAZLIČITIH KULTIVARA NA OSNOVI SASTAVA FENOLNIH SPOJEVA

(specijalistički završni rad)

Rijeka, 2020.

VELEUČILIŠTE U RIJECI

Poljoprivredni odjel

Specijalistički diplomski stručni studij Vinarstvo

KARAKTERIZACIJA I DIFERENCIJACIJA CRNIH VINA RAZLIČITIH KULTIVARA NA OSNOVI SASTAVA FENOLNIH SPOJEVA

(specijalistički završni rad)

MENTOR

Dr. sc. Igor Lukić

STUDENT

Lara Zgrablić

MBS: 2421200001/18

VELEUČILIŠTE U RIJECI **Prilog 1.**

Poljoprivredni odjel

Rijeka, 01. 07. 2020.

ZADATAK
za specijalistički završni rad

Pristupnici Lari Zgrablić, **MBS: 2421200001/18**

Studentici Specijalističkog diplomskog stručnog studija Vinarstvo izdaje se zadatak specijalističkog završnog rada – tema specijalističkog završnog rada pod nazivom:

„Karakterizacija i diferencijacija crnih vina različitih kultivara na osnovi sastava fenolnih spojeva"

Sadržaj zadatka: Saznanja o sastavu fenolnih spojeva u određenom vinu od velike su važnosti jer mogu poslužiti u kontroli proizvodnje i kvalitete, na osnovi njega se mogu predvidjeti senzorske značajke i potencijal dozrijevanja te saznati pojedinosti o tehnologiji proizvodnje i starosti vina. Isto tako, fenolni spojevi mogu biti korisni kao pokazatelji podrijetla kultivara, što može biti iskorišteno za izradu zaštićenih oznaka i u marketinške svrhe. Vina od pojedinih kultivara crnog grožđa (tzv. sortna vina) proizvedena u Republici Hrvatskoj nedovoljno su istraživana te nisu detaljno razjašnjene značajke tipične za kultivar. Cilj ovog rada je karakterizacija i diferencijacija crnih vina različitih kultivara na osnovi sastava fenolnih spojeva. Studentica će obraditi podatke HPLC analize pomoću prilagođenog računalnog programa, statistički obraditi podatke te odrediti koji su fenolni spojevi karakteristični i mogu poslužiti kao markeri vina pojedinih kultivara.

Preporuka _____

_____

Rad obraditi sukladno odredbama Pravilnika o završnom radu Veleučilišta u Rijeci.

Zadano: 01.07.2020. **Predati do: 20.08.2020.**

Mentor:
dr.sc. Igor Lukić

Pročelnik odjela:
dr.sc. Mario Staver

Zadatak primio dana: 01. 07. 2020.

Lara Zgrablić

Dostavlja se:
- **mentoru**
- **pristupniku**

I Z J A V A

Izjavljujem da sam specijalistički završni rad pod naslovom

„Karakterizacija i diferencijacija crnih vina različitih kultivara na osnovi sastava fenolnih spojeva“

izradio samostalno pod nadzorom i uz stručnu pomoć mentora dr. sc. Igora Lukića.

Lara Zgrablić

(potpis studenta)

SAŽETAK

Cilj ovog rada bio je okarakterizirati i diferencirati crna vina različitih kultivara, Plavca malog, Terana, Merlota i Cabernet Sauvignona, na osnovi sastava fenolnih spojeva. Uzorci vina prikupljeni su od proizvođača iz Istre i Dalmacije te podvrgnuti analizi fenolnih spojeva tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti te fizikalno-kemijskoj i senzorskoj analizi. Dobiveni rezultati pokazali su kako postoje razlike između istraživanih vina. Vino Plavca malog odlikovalo se višim koncentracijama taksifolina, procijanidina B1, kvercetin-3-O-glukozida i kvercetin-3-O-glukuronida, ukupnih flavonoida i ukupnih fenola, nižom koncentracijom ukupnih antocijana uz slabiji intenzitet obojenja, višom alkoholnom jakosti i ukupnim ekstraktom, nižom ukupnom kiselosti i višim pH. Vino kultivara Teran imalo je više koncentracije *trans* i *cis*-piceida, niže koncentracije taksifolina i protokatehinske kiseline, visoku ukupnu kiselost i visok intenzitet boje. Vino od Merlota isticalo se višom koncentracijom protokatehinske i nižim koncentracijama nekoliko hidroksicimetnih kiselina, dok je vino od Cabernet Sauvignona imalo najvišu koncentraciju *cis*-kutarne kiseline i najniže koncentracije piceida i vanilinske kiseline. Rezultati o fenolnom sastavu i vezanim svojstvima dobiveni u ovom radu mogli bi biti upotrijebljeni za usmjeravanje postupaka u proizvodnji za bolje isticanje pozitivnih tipičnih karakteristika vina istraživanih kultivara i poboljšanje njihove kvalitete. Također, ovaj je rad dodatno proširio saznanja o autohtonim hrvatskim kultivarima: Plavcu malom i Teranu.

Ključne riječi: vino, kultivar, fenoli, karakterizacija, diferencijacija,

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. PREGLED LITERATURE 3
2.1. Neflavonoidi 3
2.1.1. Fenolne kiseline i njihovi derivati 3
2.1.2. Stilbeni 6
2.2. Flavonoidi 7
2.2.1. Antocijani 8
2.2.2. Flavonoli i flavanonoli 11
2.2.3. Flavan-3-oli 12
2.2.4. Tanini 12
2.3. Distribucija fenolnih spojeva unutar bobice 14
2.4. Opis kultivara Plavac mali 15
2.5. Opis kultivara Teran 16
2.6. Opis kultivara Cabernet Sauvignon 18
2.7. Opis kultivara Merlot 19
3. METODOLOGIJA RADA 22
3.1. Uzorci 22
3.2. Fizikalno-kemijske analize vina 22
3.3. Senzorska analiza vina 26
3.4. Statistička obrada rezultata 26
4. REZULTATI I RASPRAVA 27
4.1. Osnovni fizikalno – kemijski parametri 27
4.2. Fenolni spojevi i boja 28
4.2.1. Hidroksibenzojeve kiseline 28
4.2.2. Hidroksicimetne kiseline 30
4.2.3. Stilbeni 32
4.2.4. Flavan-3-oli 33
4.2.5. Flavonoli 35
4.2.6. Flavanonoli 36

4.2.7. Ukupni flavonoidi 37
4.2.8. Ukupni antocijani 37
4.2.9. Ukupni fenoli 39
4.3. Senzorska analiza 40
4.3.1. Boja i odsjaj 40
4.3.2. Okus 41
4.4. Diskriminacijska analiza parcijalnih najmanjih kvadrata 43
5. ZAKLJUČAK 48
POPIS LITERATURE 50
POPIS TABLICA 53
POPIS GRAFOVA 54
POPIS SLIKA 54

1. UVOD

Fenoli su kompleksna skupina spojeva koja ima vrlo važnu ulogu u kvaliteti i karakteristikama grožđa i vina. Dijele se na dvije osnovne podskupine: flavonoide (antocijane, flavonole, flavanole i dr.) i neflavonoide (fenolni alkoholi i kiseline te stilibeni). Zajednički im je benzenski prsten kao osnovna strukturna jedinica. Glavni izvor fenolnih spojeva u proizvodnji vina su bobice grožđa, a ponekad mogu biti ekstrahirani i iz peteljke ili lišća, ili iz nekih vanjskih izvora tijekom vinifikacije poput drvenih bačava, tzv. čipsa i sl. Kultivar je jedan od najvažnijih čimbenika koja utječe na fenolni sastav grožđa i vina. Osim kultivara, na sadržaj i sastav fenola u vinu snažno utječu zemljopisni položaj, mikroklima, vinogradarska praksa, fenolna zrelost grožđa te postupci i parametri tijekom vinifikacije i dozrijevanja.

Ovaj rad bavi se proučavanjem razlika i sličnosti u fenolnom sastavu između vina od različitih kultivara crnog grožđa – Plavca malog, Terana, Merlota i Cabernet Sauvignona, odnosno mogućnošću identifikacije kultivara na temelju fenolnog sastava. Iako je na temu fenolnog sastava Merlota i Cabernet Sauvignona provedeno više istraživanja u globalnim razmjerima, vrlo je malo objavljenih i dostupnih informacija o vinima od Plavca malog i Terana. Također, vina od pojedinih kultivara crnog grožđa proizvedena u Republici Hrvatskoj općenito su nedovoljno istraživana te nisu detaljno razjašnjene značajke tipične za kultivar. U hrvatskom vinarstvu i vinogradarstvu, Plavac mali i Teran vodeći su autohtoni kultivari crnog grožđa, stoga je iznimno bitno dobiti širu sliku o njihovom fenolnom sastavu i tipičnosti vina tih kultivara. Saznanja o sastavu fenolnih spojeva u određenom vinu od velike su važnosti jer mogu poslužiti u kontroli proizvodnje i kvalitete, na osnovu njega se mogu predvidjeti senzorske značajke i potencijal dozrijevanja te saznati pojedinosti o tehnologiji proizvodnje i starosti vina. Fenolni spojevi mogu biti korisni kao pokazatelji podrijetla kultivara, što može biti iskorišteno u izradi zaštićenih oznaka i u marketinške svrhe. Nadalje, kod plasmana vina kao proizvoda na tržište za pojedinog je proizvođača vrlo bitna tipičnost vina koja proizlazi iz kultivara koja iz godine u godinu mora biti što je više moguće sličnija. Tipičnost koja proizlazi iz kultivara ili sortna tipičnost označava mjeru u kojoj vino odražava i pokazuje karakteristike kultivara od kojeg je proizvedeno. Zbog niza vanjskih faktora koji su izvan ljudskog utjecaja nemoguće je ponoviti dvije iste berbe te tako i proizvesti dva ista vina,

međutim sa širim saznanjima o potencijalu različitih kultivara grožđa proizvođač bi mogao lakše odlučivati o postupcima tijekom vinifikacije kako bi dobio željeni rezultat.

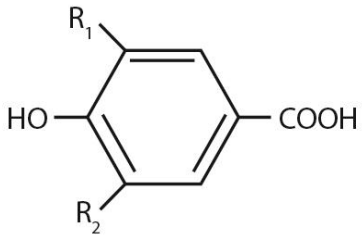
Cilj ovog rada bila je karakterizacija i diferencijacija crnih vina različitih kultivara na osnovi sastava fenolnih spojeva. Navedeno je podrazumijevalo pronaći zajedničke karakteristike u fenolnom sastavu vina istog kultivara i razlike u fenolnom sastavu među vinima različitih kultivara te na osnovi toga odrediti koji su fenolni spojevi karakteristični i mogu poslužiti kao markeri vina pojedinih kultivara. Navedeno je poslužilo za detaljnije opisivanje i razumijevanje fenolnog profila vina autohtonih kultivara, što bi u budućnosti moglo biti upotrijebljeno kao pomoć pri upravljanju proizvodnjom takvih vina i isticanju njihove tipičnosti i prepoznatljivosti.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Neflavonoidi

Neflavonoidi su fenolni spojevi relativno jednostavne građe, jednostavnije od flavonoida, jer im je osnovna građevna jedinica obično samo jedan fenolni prsten. Prema važnosti i zastupljenosti, neflavonoidi iz grožđa i vina dijele se na dvije osnovne podskupine, fenolne kiseline i njihove derivate te stilibene. Nalaze se uglavnom u vakuolama kožice i mesu bobice grožđa. Neflavanoidi podrijetlom iz grožđa su početno sintetizirani iz fenilalanina (metaboličkim putem šikiminske kiseline), dok oni podrijetlom od kvasaca potječu od octene kiseline, odnosno acetil koenzima A (Jackson, 2000.). Primjer osnovne strukture neflavanoida prikazan je na Slici 1.

Slika 1: Primjer osnovne strukture neflavanoida - hidroksibenzojeve kiseline



Izvor: Margalit, 2005.

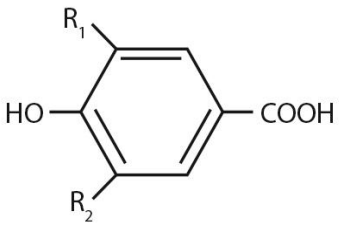
2.1.1. Fenolne kiseline i njihovi derivati

Fenolne kiseline nalaze se uglavnom u mesu bobice grožđa te se zbog toga njihove najviše količine otpuštaju u vino tijekom runjanja-muljanja i prešanja (Iland et al., 2011.), dok maceracija, odnosno uvjeti kontakta grožđanog soka i čvrstih dijelova grožđa, ima manji utjecaj. Njihove koncentracije kreću se u rasponu od 100 do 200 mg/L u crnim vinima i od 10

do 20 mg/L u bijelim vinima (Ribereau-Gayon et al., 2000). U vinu se nalaze u slobodnom ili vezanom obliku (glikozidi, tartarati, itd.)

Fenolne kiseline dijele se na hidroksibenzojeve i hidroksicimetne kiseline. Glavni predstavnici hidroksibenzojevih kiselina su *p*-hidroksibenzojeva kiselina, protokatehinska kiselina, vanilinska kiselina, galna kiselina, siringinska kiselina te salicilna kiselina i gentizinska kiselina u tragovima. Njihova osnovna struktura prikazana je u Tablici 1. Galna kiselina najvažniji je fenolni spoj iz ove podskupine jer je prekursor svih hidrolizirajućih tanina, a nalazi se i u kondenziranim taninima (Garrido, Borges, 2013.). Etilni esteri tih fenolnih kiselina također su identificirani u vinu (Kallithraka, Salachaa i Tzouroua, 2009.).

Tablica 1: Struktura i kemijska formula hidroksibenzojevih kiselina

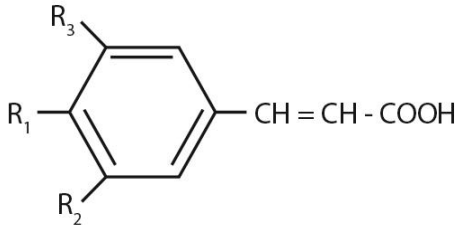
Hidroksibenzojeva kiselina	**R_1**	**R_2**	**Osnovna strukturna formula**
p-Hidroksibenzojeva kiselina	H	H	
Protokatehinska kiselina	H	OH	
Vanilinska kiselina	OH	OH	
Galna kiselina	H	OCH_3	
Siringinska kiselina	OCH_3	OCH_3	

Izvor: Margalit, 2005.

Najvažniji predstavnici slobodnih hidroksicimetnih kiselina su *p*-kumarinska kiselina, kafeinska i ferulinska kiselina, čija je struktura prikazana u Tablici 2. Spomenute kiseline se u grožđu nalaze uglavnom esterificirane s šećerima, alkoholima ili najčešće organskim kiselinama (vinskom) čineći hidroksicinamoiltartarate. Prisutnost dvostruke veze dovodi do postojanja dvaju izomernih oblika: *cis* i *trans*. U grožđu, hidroksicinamoiltartarati kaftarna i fertarna kiselina uglavnom se nalaze u *trans* obliku, dok je za kutarnu kiselinu pronađen i zanemariv udio *cis* oblika. *Trans*-kaftarna kiselina i *trans*-fertarna kiselina većim dijelom se nalaze u mesu bobice, pa se tijekom prešanja grožđa brzo oslobađaju u mošt. Nasuprot tome,

trans i *cis* izomeri kutarne kiseline su manje ekstraktabilni jer su u većem udjelu lokalizirani u koži bobica grožđa (Garrido i Borges, 2013.).

Tablica 2: Struktura i kemijska formula hidroksicimetnih kiselina

Hidroksicimetna kiselina	**R_1**	**R_2**	**R_3**	**Osnovna strukturna formula**
p-Kumarinska kiselina	OH	H	H	
Kafeinska kiselina	OH	OH	H	
Ferulinska kiselina	OH	OCH_3	H	
Sinapinska kiselina	OH	OCH_3	OCH_3	

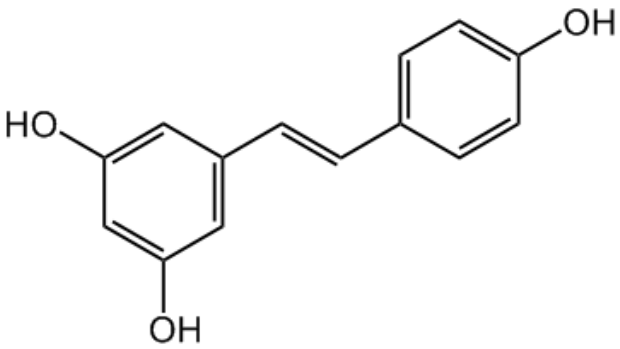
Izvor: Margalit, 2005.

Fenolne kiseline su bezbojne u razrijeđenoj alkoholnoj otopini, ali mogu postati žute uslijed oksidacije. One su nosioci (posebno kaftarna) oksidativnog posmeđivanja mošta (kod bijelih vina) i sudjeluju u različitim reakcijama polimerizacije fenola. Fenolne kiseline djelomično su odgovorne za gorčinu i astringenciju grožđa vina, iako u puno manjoj mjeri nego tanini (Garrido i Borges, 2013.). Pojedine fenolne kiseline su prekursori hlapivih fenola. Točnije, iz *p*-kumarinske i ferulinske kiseline pod utjecajem bakterija ili kvasaca *Brettanomyces* mogu nastati 4-etil-fenol i 4-etil-gvajakol, hlapljivi fenoli nositelji mirisa koji podsjećaju na mirise štale, konja i znoja (Iland et al., 2011.)

2.1.2. Stilbeni

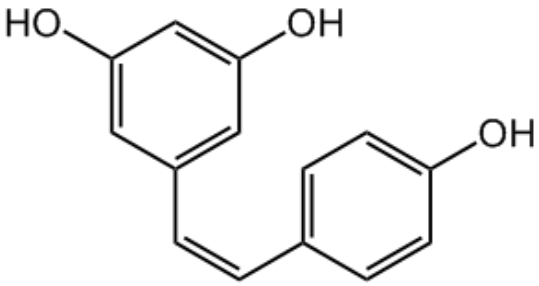
Stilbeni su druga skupina neflavonoida, sastavljeni od dva benzenska prstena najčešće vezanih preko etenilnog mosta. Najvažniji stilbeni su resveratrol i njegovi glukozidi *trans*-piceid i *cis*-piceid. Resveratrol nastaje u trsu kao odgovor na gljivične bolesti (Iland J. et al., 2011.). U zdravom, grožđu razine stilbena su uobičajeno niske ili bivaju nedetektirane. *Trans*-piceid se prirodno pojavljuje u grožđu i grožđanom soku (Romero-Pérez et al., 1999.; Jackson, 2008.) te tijekom proizvodnje vina može hidrolizirati pod utjecajem enzima β-glukozidaze čime se povećava koncentracija *trans*-resveratrola u vinu (Jeandet i sur., 1994).

Slika 2: Struktura *trans*-resveratrola



Izvor: http://www.chm.bris.ac.uk/motm/resveratrol/resveratrolh.htm

Slika 3: Struktura *cis*-resveratrola

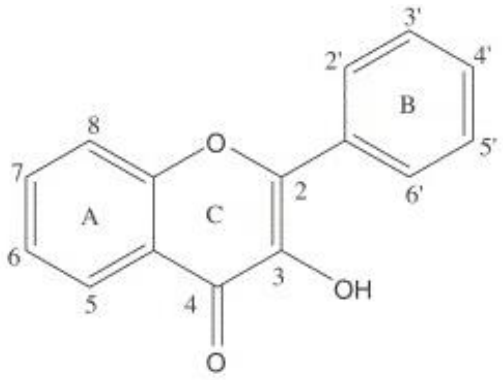


Izvor: http://www.chm.bris.ac.uk/motm/resveratrol/resveratrolh.htm

2.2. Flavonoidi

Flavonoidi imaju dva fenolna prstena (A i B) međusobno povezana s lancem od tri ugljikova atoma (Martinez, 2002.). Most od tri ugljikova atoma je kod većine flavonoida zatvoren u obliku heterocikličkog prstena (prsten C).

Slika 4: Osnovna struktura flavonoida sa A, B i C prstenima



Izvor: https://www.chimicamo.org/chimica-organica/flavonoidi.html

Flavonoidi potječu od kombinacije derivata sintetiziranih iz fenilalanina (metaboličkim putem šikiminske kiseline) i iz octene kiseline (Jackson, 2000.). Oni čine 85% ili više svih fenola u bobici grožđa (Boulton et al., 1998.). Slabo su zastupljeni u mesu bobice, jako zastupljeni u sjemenkama i općenito dosta zastupljeni u kožici što ovisi o sorti/kultivaru (Boulton et al., 1998.). Većina flavonoida prirodno postoji u biljkama kao *O*-glikozidi (imaju šećernu komponentu), a iznimka su u tome flavanoli (katehini i proantocijanidini) koji postoje kao aglikoni (bez šećerne komponente). Bioaktivnost spojeva ove skupine proizlazi iz strukture aglikona, a ne od šećera s kojim su vezani. Osim kao glikozide, nalazimo ih i kao acilne derivate, tj. polimerizirane s neflavonoidima.

U biljkama flavonoidi imaju različite uloge: u pigmentaciji (daju cvijeću boju) radi privlačenja kukaca kako bi se olakšalo oprašivanje, u obrani od predatora i patogena te kao mehanička potpora. Flavanoli tako sudjeluju i u obrambenom mehanizmu protiv patogena, predatora i vanjskog stresa (Harborne and Williams, 2000.). Njihova glavna uloga je da

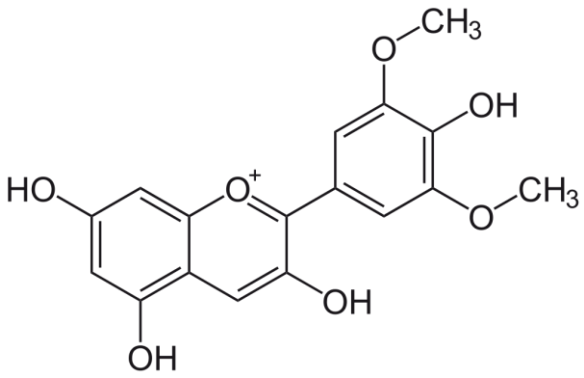
apsorbiraju spektar svjetlosti valnih duljima od 280 do 330 nm i tako budu UV zaštita i filtar koji štiti biljku od oštećenja tkiva (Flint et al., 1985.; Price et al., 1995.). Na osnovu fenolnog sastava vrlo se dobro može vidjeti kako vinova loza reagira na uvjete okoline, prvenstveno dostupnost vode (vodni stres), temperaturu i svjetlost (Carbonneau et al., 2007.). Kod vinove loze, boja grožđa koju osiguravaju antocijani, privlači ptice (više nego kukce) koje bobice koriste kao hranu, a sjemenke odbacuju na neku novu lokaciju gdje je moguć novi rast vinove loze. Biljka vinove loze na taj način osigurava svoj opstanak i širenje vrste.

Ovisno o modifikacijama strukture ugljikovog mosta ili C prstena, flavonoidi se mogu svrstati u različite skupine, pa tako postoji više podjela koje se primjenjuju (do 13 podskupina ovisno o autoru koji je obavio klasifikaciju). Kod grožđa, mošta i vina najvažnije podskupine su: antocijani, flavanoli (flavan-3-oli), flavonoli i flavanonoli.

2.2.1. Antocijani

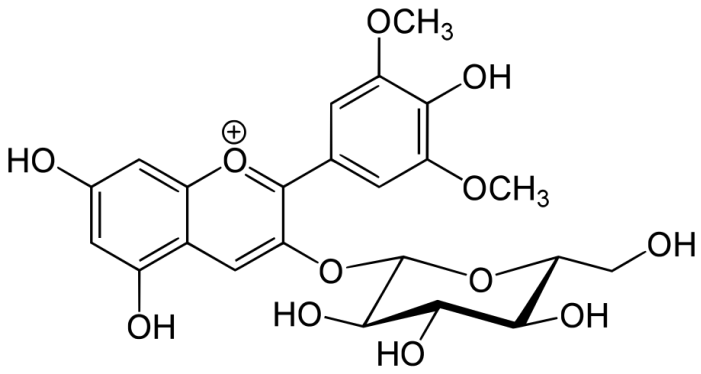
Antocijani su fenolni spojevi čija je najvažnija značajka da su zaslužni za boju grožđa i vina. U grožđu su prisutni kao glikozidi (Slika 6.) koji se hidrolizom razgrađuju na aglikone antocijanidine (Slika 5.) i glukozu.

Slika 5: Struktura malvidina, aglikona



Izvor: https://en.wikipedia.org/wiki/Malvidin#/media/File:Malvidin.svg

Slika 6: Struktura malvidin-2-glukozida



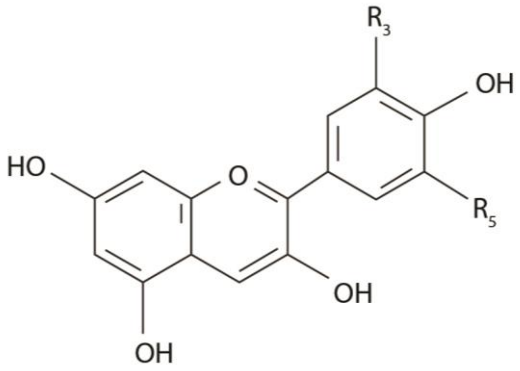
Izvor: https://en.wikipedia.org/wiki/Oenin

Molekula šećera iz antocijana se može dalje vezati s octenom, kumarinskom ili kafeinskom kiselinom i tako činiti kompleksnije spojeve (Ribéreau-Gayon et al., 2000.). Pojedinačni antocijani su nestabilni i relativno lako oksidiraju pa je polimerizacija (i kopigmentacija) poželjna jer povećava stabilnost antocijana i boje vina.

Zajedničko svojstvo antocijana je struktura bazirana na kationu flaviliumu, a međusobno se razlikuju prema mjestu vezanja hidroksilne (-OH) i metoksi skupine (-OCH_3) na njihovoj osnovnoj strukturi (Košir et al., 2004.). Za strukturu su karakteristična dva benzenska prstena (A i B) povezana nezasićenim kationskim oksigeniranim heterociklom (C prsten). Prema naboju antocijani su kationskog karaktera jer imaju dvije dvostruke veze u C prstenu i stoga nose pozitivan naboj (Mazza G., 1995.).

Prema podacima Sanchez-Ballesta iz 2008. godine u biljkama je do sada identificirano više od 600 različitih antocijana. Kod sorti iz roda *Vitis vinifera* najčešći su monoglukozidi i acilirani monoglukozidi antocijana s octenom, *p*-kumarinskom i kafeinskom kiselinom. Poznato je pet najvažnijih molekula antocijanidina, odnosno antocijana koji su prisutni u grožđu: cijanidin, peonidin, delfinidin, petunidin i najčešći malvidin te njihovi derivati. Oni se međusobno razlikuju prema mjestu vezanja hidroksilnih i metoksi skupina na B fenolnom prstenu antocijana (Tablica 3), što određuje boju kojom doprinose ukupnoj boji kožice grožđa ili vina.

Tablica 3: Struktura antocijanidina u grožđu

Aglikon	R'3	R'5	Osnovna strukturna formula
Cijanidin	OH	H	
Delfinidin	OH	OH	
Peonidin	OCH_3	H	
Petunidin	OH	OCH_3	
Malvidin	OCH_3	OCH_3	

Izvor: Ribéreau-Gayon et al., 2000.

Koncentracija antocijana u grožđu ovisi o sorti/kultivaru, ekološkim i klimatskim uvjetima i vinogradarskim zahvatima. Genetski čimbenici su važni i određuju karakterističan antocijanski profil za različite kultivare grožđa i njihova vina, ali uz bitne razlike u koncentracijama iz godine u godinu (Gonzalez-Neves et al., 2006.). Koncentracija antocijana u grožđu direktno utječe na koncentraciju u vinu uz bitan utjecaj načina vinifikacije, tj. maceracije, tijekom koje dolazi do njihove ekstrakcije iz kožice grožđa u mošt odnosno vino.

Boja koju daju antocijani varira od crvene do plave te ovisi o uvjetima medija (pH, SO_2) i o molekularnoj strukturi antocijana. S porastom broja hidroksilnih grupa boja se mijenja od crvene prema modroj, dok se metoksiliranjem obojenost mijenja prema crvenom. Tako je cijanidin crven, peonidin ružičasto-crven, delfinidin i petunidin plavo-ljubičasti, a malvidin ljubičast. S različitim metalnim ionima i ugljikohidratima antocijani mogu stvarati komplekse pri čemu im se također mijenja boja. Prisutnost metalnih iona i vrsta radikala na prstenu B utječe na pH, a pH na boju. Boja je najstabilnija i najintenzivnija pri nižim pH vrijednostima. Kod niže pH vrijednosti izraženija je crvena boja, a kod više pH vrijednosti plava i svijetlo ljubičasta boja (Jackson, 2000.). Osim toga, u otopini vakuolarnog grožđanog soka gdje se nalaze zajedno s ostalim fenolima (fenolnim kiselinama, flavonoidima, itd.) dolazi do kopigmentacije (vezanja antocijana s ostalim fenolima i ostalim spojevima) čime se povećava intenzitet boje. Na boju može utjecati i slobodni SO_2 koji izbljeđuje antocijane i etanol koji negativno utječe na kopigmentaciju. Dio antocijana (prije kopigmentacije) se

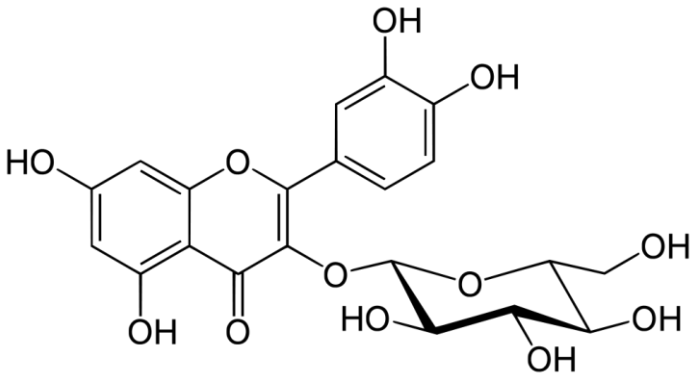
tijekom vinifikacije taloži zajedno s mrtvim stanicama kvasaca i tartaratima, odnosno solima vinske kiseline.

2.2.2. Flavonoli i flavanonoli

Flavonoli su pigmenti žute boje identificirani i u bijelom i u crnom grožđu i vinu. Glavna uloga u grožđu im je obrana od patogena, predatora i vanjskog stresa. Flavonoli absorbiraju UV zračenje valnih duljina od 280 do 330 nm te time djeluju kao UV filtar, tj. štite biljku (Flint et al., 1985.; Price et al., 1995.).

Najzastupljeniji flavonoli u grožđu su kvercetin i kvercetin-3-O-glukozid (Slika 7) koji se u crnom vinu često pojavljuju kao kopigmenti vezani na antocijane (Lambert, 2002.; Downey et al., 2003.). Flavonoli se razlikuju po skupinama koje su vezane na bočnom B prstenu. Kvercetin ima dvije OH skupine na bočnom prstenu, kaempferol jednu i miricetin tri OH skupine. U crnim sortama su zastupljena sva tri flavonola, a u bijelim kaempferol i kvercetin.

Slika 7: Kvercetin-3-O-glukozid



Izvor: Iland et al., 2011.

Flavanonoli su pigmenti nešto svjetlije žute boje od flavonola. Prisutni su i u bijelom i crnom grožđu. Za razliku od antocijana, sinteza flavonola nije vezana s pojavom šare te su oni

prisutni u bobici i prije pojave šare (Jackson, 2000.). U crnim vinima nalaze se u koncentracijama od približno 100 mg/L dok u nemaceriranim bijelim vinima tek 1 do 3 mg/L. Predstavnici flavanonola u grožđu su taksifolin, astilbin i engeletin.

2.2.3. Flavan-3-oli

Flavanoli ili flavan-3-oli su najvažniji monomerni flavonoidi u grožđu. Njihova struktura ima dva asimetrična atoma ugljika (C2 i C_3) zahvaljujući kojima nastaju četiri izomera. Stabilniji oblici su (+)-katehin i (-)-epikatehin pa su oni najzastupljeniji u grožđu (Boulton i sur., 1998.). Flavan-3-oli iz grožđa su katehin, epikatehin, epikatehin-galat i epigalokatehin. Za razliku od ostalih flavanoida, flavanoli se ne nalaze u obliku glikozida i aciliranih oblika. Oni su prvenstveno prisutni kao monomeri, ali imaju tendenciju polimerizacije pa mogu i polimerizirati u kondenzirane tanine (Jackson, 2000.).

Flavanoli su prisutni i u ranoj fazi razvoja bobice kao sastavni dio obrambenog mehanizma biljke i ploda. Okus gorčine i astringencije odbija ptice i ostale predatore kako ne bi konzumirale grožđe kao hranu prije nego sjemenke sazriju i budu spodobne klijati. Kada bobica počinje sazrijevati, koncentracija ovih spojeva počinje opadati i okus gorčine i astringencije se smanjuje čime bobica postaje ukusnija. U toj je fazi sjemenka zrela i ukoliko padne ili kroz probavni sustav životinja dospije ponovno u tlo, postoji mogućnost za klijanje i rast nove biljke (Jackson, 2000.).

2.2.4. Tanini

Tanini su veliki polimerizirani fenolni spojevi čija relativna molekularna masa iznosi od 600 do 3500. Tvore stabilne veze s proteinima i ostalim biljnim polimerima kao što su polisaharidi. Njihova struktura i položaj aktivnih mjesta u molekuli imaju veliki utjecaj na njihovu reaktivnost.

Tanini se dijele na dvije osnovne skupine, hidrolizirajuće i kondenzirane tanine i komplekse (Linskens i Jackson, 1988.; Scalbert, 1993.). Hidrolizirajući tanini su polimeri

elaginske ili galne i elaginske kiseline sa glukozom. Nisu prisutni u grožđu, već u vino mogu dospjeti ekstrakcijom iz drveta drvenih bačava, čipsa, nakon dodatka u obliku komercijalnog enološkog preparata i slično. Imaju važnu ulogu u dozrijevanju i organoleptičkim svojstvima vina, međutim ne utječu na karakteristike kultivara osim na način da ih umanje. Kompleksni tanini nastaju tijekom dozrijevanja vina reakcijama tanina grožđa i tanina iz drveta.

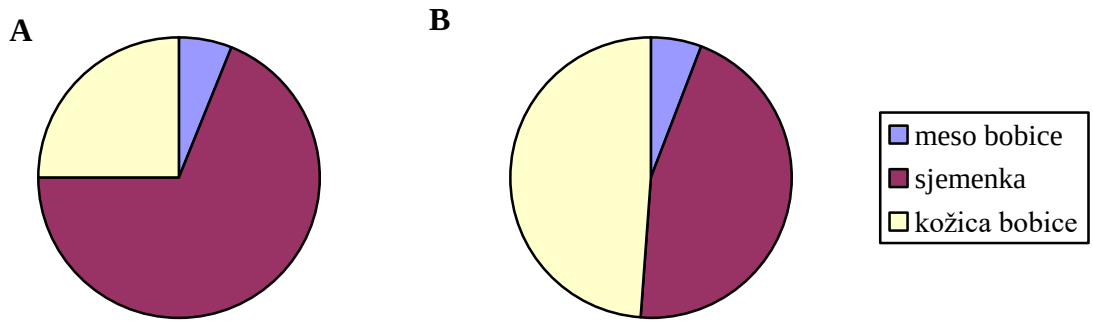
U grožđu, a kasnije i u vinu prisutni su kondenzirani tanini koji mogu činiti razliku među kultivarima/sortama. Kondenzirani tanini u vinu su više ili manje kompleksi polimeri monomernih jedinica flavan-3-ola, katehina i epikatehina. Povezani su kovalentnim vezama i relativno su stabilni u kiselom mediju kao što je vino. To su složene strukture lanaca podložne stalnim promjenama vežući se međusobno ili s drugim kemijskim spojevima u vinu tvoreći različite polimerne lance. Osnovne katehinske jedinice imaju ograničena svojstva prema proteinima: tek kao dimeri imaju dovoljno veliku molekularnu masu da bi se mogli stabilno vezati s proteinima. Moguć je beskonačan broj njihovih izomera, što objašnjava raznolikost tih molekula i složenost njihove analize. Polimeri imaju više od deset flavan-3-olnih jedinica i relativnu molekulsku masu iznad 3000 (Ribereau-Gayon et al., 2000.). Zagrijavanjem u kiselim uvjetima kondenzirajući tanini hidroliziraju u crvene antocijanidin pigmente, stoga se koristi i pojam proantocijanidini. Proantocijanidini koji hidroliziraju u cijanidine poznati su kao procijanidini i sastoje se od katehina i epikatehina. U slučaju da se sastoje od galokatehina i/ili epigalokatehina, hidrolizom nastaju delfinidini te ih stoga nazivamo prodelfinidini.

Kondenzirani tanini su najzastupljeniji u sjemenkama grožđa. U mesu/pulpi gotovo da ih nema, a u kožici su zastupljeni značajno manje u odnosu na sjemenke. Njihov sadržaj u kožici varira s obzirom na kultivar i način uzgoja grožđa (Jackson, 2000.). Tijekom maceracije tanini u većoj mjeri prelaze u vino iako ih ima i u samotočnim frakcijama. Koncentracije u crnim vinima variraju ovisno o kultivaru i načinu vinifikacije te iznose između 1 i 4 g/L. U suhim bijelim vinima koncentracija tanina varira od 100 do 300 mg/L ovisno o bistroći mošta koji fermentira (Ribereau-Gayon et al., 2000.).

2.3. Distribucija fenolnih spojeva unutar bobice

Antocijani se obično sintetiziraju u kožici bobice grožđa, osim u slučaju bojadisera gdje je i meso obojano. Flavonoli i stilibeni se sintetiziraju u kožici, dok su flavan-3-oli i tanini i u kožici i sjemenci. Samo manji udio fenolnih spojeva nalazi se u mesu bobice, kao npr. pojedine hidroksicimetne kiseline (Iland et al., 2011.). Fenolne kiseline, flavonoli, flavan-3-oli i tanini prisutni su i u peteljki sa sličnim sastavom kao u sjemenci (Souquet et al., 2000.). Prema istraživanju Singletona i Esausa (1969.) u mesu bobice se nalazi 6 % ukupnih fenolnih spojeva, u sjemenci 69 % kod bijelih sorti i 46 % kod crnih sorti te u kožici bobice 25 % kod bijelih i 50 % kod crnih sorti (Graf 1). Relativno mali udio koji se nalazi u mesu bobice u usporedbi s kožicom i sjemenkama razlog je velikog utjecaja maceracije na fenolni sastav vina.

Graf 1: Distribucija fenolnih spojeva unutar bobice grožđa kod bijelih (A) i crnih (B) sorata grožđa



Izvor: vlastiti

2.4. Opis kultivara Plavac mali

Plavac mali ili Pagadebit crni autohtoni je i najpoznatiji kultivar crnog grožđa srednje i južne Dalmacije. Na temelju istraživanja profesorice dr. Carole Meredith i njenih suradnika (s University of California Davis) s jedne i dr. Ivana Pejića i dr. Edi Maletića i njihovih suradnika (s Agronomskog fakulteta u Zagrebu) s druge strane utvrđeno je da je Plavac mali nastao križanjem dviju autohtonih sorti – Kaštelanski crljenak ili Pribidrag, koji je identičan slavnoj kalifornijskoj sorti Zinfandel te talijanskoj Primitivo, i Dobričić, koji već godinama uglavnom služi za pospješenje boje vina drugih kultivara. U Republici Hrvatskoj 9,1 % vinograda sa ZOI jesu vinogradi Plavca malog, što iznosi 1.697,3 ha (DZS, 2016.) Kultivar je izvanredno prilagođen vreloj mediteranskoj klimi i škrtom tlu, štoviše, Plavci s južnih krševitih padina izloženih suncu daju puna, snažna i zdrava vina odlične kvalitete i dugog životnog vijeka. Najbolja vina Plavca uspijevaju na položajima Dingač, Postup, Hvarske plaže (Sveta Nedilja, Ivan Dolac, Jagodna i Medvid bod), odnosno na najizrazitijim vinogradarskim položajima u bračkom, viškom, hvarskom i pelješkom vinogorju (Mirošević i Turković, 2003.).

Mladica Plavca malog je zelene boje s crvenkastim nijansama na sunčanoj strani i povijena vrha, kratkih do srednje dugih internodija. List je pravilan, srednje velik, najčešće peterodijelan, pentagonalan do srcolik. Sinusi peteljke otvoreni su u obliku slova U, a postrani urezi srednje duboki i najčešće zatvoreni. Lice plojke tamnozeleno je i golo, a naličje vunasto dlakavo. Peteljka je kratka, odrvenjela. Nerijetko je dozrijevanje bobica unutar grozda nejednoliko, mogu se pronaći bobice od zelenih do prezrelih i prosušenih. Grozd je malen do srednje velik (150 – 250 grama), piramidalan, prvi grozd na mladici je najčešće s krilcem, srednje zbijen. Bobica je debele kožice i čvrste građe s puno šećera, srednje velika, okrugla, tamnoplave boje prekrivena maškom. Sok je bezbojan, ugodne arome i okusa, čiji intenzitet ovisi o stupnju dozrelosti bobica. Urod varira od 4.000 L do 15.000 L po hektaru, ovisno o položaju. Otpornost na gljivične bolesti je dobra. Vina obično obiluju taninima, ponekad i vrlo trpkim, alkohol je vrlo visok, od 13% do 16%, najčešće su blago slatkasta što je češće posljedica spoja visokog alkohola, tanina i glicerola, nego samog ostatka šećera, te vrlo bogatog i punog tijela. Spada u četvrto razdoblje po vremenu dozrijevanja (Mirošević i Turković, 2003.).

Slika 8: Plavac mali



Izvor: Mirošević i Turković, 2003.

2.5. Opis kultivara Teran

Teran ili Refošk istarski, Terrano ili Refosco d'Istria, R. del Carso (a peduncolo e raspo verdete) je autohtona istarska vinska sorta/kultivar grožđa i crno vino koje se iz nje proizvodi. Teran crvenih peteljčica, koji je zastupljeniji u Istri, akumulira prosječno 16 % šećera i do preko 10 g/L ukupnih kiselina. Izrazito visok ili viši sadržaj ukupnih kiselina jedna je od glavnih tehnoloških karakteristika tog kultivara. Današnji vinari borbu sa visokim kiselinama vode vrlo dobro, što u vinogradu, što u podrumu. Danas, „ukrotiti divlju narav istarskog Terana izazov je kojeg se prihvaća sve više istarskih vinara, njihovi su rezultati izvrsni, i pred domaću i svjetsku vinsku javnost istarski Teran postupno izlazi u sasvim novom svjetlu, zapravo ponavljajući put kojeg je još prije desetak godina uspješno prešla istarska Malvazija." (Šišović, 2016.). U Republici Hrvatskoj ima 263,6 ha nasada Terana sa Zaštićenom Oznakom Izvornosti (ZOI), što čini 1,4 % ukupnih vinograda u Hrvatskoj sa ZOI, a gotovo su svi nasadi u Istri (DZS, 2016.). „To je druga crna sorta po zastupljenosti u Istri, sedma u Hrvatskoj, na oko milijun zasađenih trsova u prosjeku daje nešto manje od 900.000 litara vina“ (Špiranec, 2019.).

Prema Miroševiću (2003.), kultivar Teran se odlikuje velikim grozdom, teškim 150 g do 300 g, koji je gust do malo rahli, granat. Tamnomodre bobice srednje su velike do velike, jajolika oblika i debele otporne kožice, pod kojom je meso crvenkasto, sočno i praskavo,

kiselkasta soka. Bobica najčešće sadrži dvije do tri sjemenke. Odrasli list je okruglast ili produljen, srednji dio je širok, trodijelan ili peterodijelan, sinus peteljke je oblika otvorenog V, lice jasno zeleno, u jesen ljubičasto-smeđe, uzduž rebara zeleno, naličje bjelkasto vunasto. List je velik s bjelkastim i vunastim naličjem. Vršci mladica su svijetlozeleni, jako runjavi; rubovi mladih listića su crvenkasti. Cvijet je dvospolan. Rozgva boje lješnjaka srednje je debljine i srednje dugih internodija. Vitica je vrlo razvijena, čvrsta, dužine više od 30 cm. Trs je snažan, bujne vegetacije, visoke ali neredovite rodnosti i sklon osipanju. Otpornost u cvatnji je slaba, osobito u plodnom tlu i na vrlo bujnoj podlozi, ali je otpornost na gljivične bolesti vrlo dobra. Teran spada u četvrto razdoblje prema vremenu dozrijevanja. Kakvoća grožđa ovisi o vinogradarskom položaju i karakteristikama godine. Prikladnija su kraška ilovasto pjeskovita ili šljunčana tla na višim položajima (100 do 150 m nadmorske visine) i južne ekspozicije. Na plodnim, dubokim i zbijenim tlima nižih položaja daje manje vrijedne proizvode. Vrhunsku kvalitetu postiže u dobrim godinama na području središnje Istre, ali i na crvenim tlima sjeverozapadne Istre (Peršurić i Radeka, 2009.).

Slika 9: Teran



Izvor: Mirošević i Turković, 2003.

2.6. Opis kultivara Cabernet Sauvignon

Cabernet Sauvignon je visokokvalitetni kultivar francuskog podrijetla (Bordeaux), ali je osim u Francuskoj rasprostranjen u gotovo svim vinogradarskim zemljama svijeta. Potomak je spontanog križanja kultivara Cabernet franc i Sauvignon bijeli (Mirošević et al. 2008.). Poznat je još i pod sinonimima, franc.: C. S. Noir., Vidure Sauvignon, Carbonet i dr., C. S. Nero, Blauer, Black. Prema službenim podacima iz 2015. godine organizacije OIV (International Organisation of Vine and Wine), Cabernet Sauvignon proteže se na oko 340.000 ha, što zauzima 5% ukupne površine vinograda na svijetu (OIV, 2018.), a u Republici Hrvatskoj zauzima 727,4 ha, odnosno 3,9 % ukupnih vinograda pod ZOI (DZS, 2015.).

Cvijet je dvospolan a vrhovi mladica su runjavi sa blagim antocijanskim obojenjem. List može biti peterodijelan do sedmerodijelan, okruglast, srednje veličine. Postrani gornji sinusi karakterističnog su trokutnog ili okruglog otvora, duboki, preklopljenih rubova. Ponekad i na dnu ureza imaju rub. S druge strane, postrani donji sinusi srednje su duboki, okruglog, često trokutnog otvora te preklopljenih rubova. Sinus peteljke ima okruglasti otvor a rubovi plojke su preklopljeni. Lice je tamnozeleno, a naličje rijetko paučinasto. Plojka lista je valovita, naborana i dosta debela. Rebra su svijetlozelena. Glavni zupci su široki i tupi, često uglasti, produljeni, šiljasti. Sporedni zupci su široki, tupi i obli. Peteljka lista je kraća od glavnog rebra te malo crvenkasta (Mirošević N., Turković Z., 2003.).

Zreli grozd je dosta malen, stožast, malo granat, na vršku malo zakrenut, često sa sugrozdićem na zglobu donjega grozda. Peteljkovina je zelena sa srednje dugom i srednje debelom peteljkom grozda. Zrele bobice su male do srednje veličine, crno-modre, jako oprašene maškom, okrugle. Otporna kožica čvrsto se drži čaške. Meso je sočno, sok skladnog i specifičnog okusa. Rozgva je srednje debljine, kestenjasta, tvrda sa srednje dugim člancima (Robinson, 2016.).

Kultivar Cabernet Sauvignon nema posebne zahtjeve prema tlu. U pravilu mu odgovaraju viši brežuljkasti položaji koji nisu izloženi mrazu. Dobro podnosi sušna a tako i kišna razdoblja u jesen, ako ne traju predugo. Dozrijeva potkraj trećeg razdoblja. Kultivar je dosta dobre otpornosti prema peronospori i truljenju grožđa, ali slabe prema crnoj pjegavosti. Male je do srednje, ali redovite rodnosti, visoke kakvoće (Mirošević i Turković, 2003.).

Daje vina s notama crnog voća i hrapavim taninima. Izražen je njegov afinitet prema hrastu, bilo tijekom fermentacije ili tijekom starenja. Osim što odležavanje omekšava prirodno visoke tanine grožđa, jedinstveni okusi drveta vanilije i začina nadopunjuju sortne okuse grožđa crnog ribizla i duhana (Clarke, 2001.). Gospodarska vrijednost ovisi o plasmanu dobro odnjegovanih vina u bocama, po cijenama koje mogu izjednačiti manjak mase prinosa.

Slika 10: Cabernet Sauvignon



Izvor: Mirošević i Turković, 2003.

2.7. Opis kultivara Merlot

Merlot je svjetski kultivar nastao križanjem istih roditelja kao i Cabernet Sauvignon – Cabernet Franca i Sauvignona bijelog na području Bordeauxa. Sinonimi su Merlot crni, Merlot, Merlot noir, Bigney Vitraile, Pulliat vignole. Prema podacima iz 2004. godine Merlotom je u svijetu bilo zasađeno 260.000 hektara, a 2015. godine 266.000 hektara (OIV, 2015.) U Republici Hrvatskoj zasađeno je 857,4 ha Merlota, odnosno 9,1 % vinograda pod ZOI (DZS, 2015.).

Cvijet Merlota je dvospolan. Grozd je srednje krupan, valjkast, rastresit, s jednim ili dva sugrozdića na koljencu, težine 140 do 180 grama. Peteljka grozda je duga, do koljenca odrvenjela. Zrele bobice su nejednake, okruglaste, modrocrne, modrosivo oprašene. Kožica je srednje debljine, izdržljiva, a meso srednje gustoće i sok malo crvenkast, sladak i ugodna okusa. Boja kožice je manjeg intenziteta nego ona Cabernet Sauvignona te je kožica tanja i s manje tanina po jedinici volumena. Rast je snažan i polu-uspravan, a rodnost srednja. U cvatnji je osjetljiv te slabo otporan na peronosporu i trulež grožđa zbog tanke i osjetljive kožice. Tjera dosta rano pa postoji rizik od ranog proljetnog mraza, međutim otporan je na zimska smrzavanja (Robinson et al., 2012.).

Slika 11: Grozd Merlota sa sugrozdićem



Izvor: https://en.wikipedia.org/wiki/Merlot

Merlot je jedan od rijetkih vinskih kultivara crnog grožđa koji se podjednako uspješno uzgajaju u južnim i sjevernim vinorodnim područjima: prikladan je za umjerenu klimu, ako jesen nije redovito kišovita. Traži svježa, topla tla, na suhim ocjednim položajima. Ne podnosi vlagu zbog truljenja grožđa i bujnog razvitka. Kiseline i tanini su naglašeniji kada je vino mlado, zbog čega traži dulje dozrijevanje. „Ključ uspjeha kod Merlota najviše leži u prinosima te oni vinogradari koji smognu snage smanjiti ih postižu odlične rezultate i viši

stupanj kompleksnosti i izvrsnosti, koja se dodatno još nadopunjuje kupažiranjem s drugim sortama.“ (http://vinacroatia.hr/hrvatska-vina/sorte/ostale-hrvatske-najvaznije-crne-sorte/)

Dozrijeva u drugom razdoblju, nešto prije Cabernet Sauvignona te ima veći sadržaj šećera i manji sadržaj jabučne kiseline. Po kakvoći vino zaostaje za Cabernetom i Pinotom crnim, ali je ipak nadprosječne vrijednosti (Mirošević i Turković, 2003.). Karakteristika Merlota je da se naglo mijenja u periodu zrelosti, odnosno da u svega nekoliko dana dolazi u fazu prezrelosti. Sukladno time od kultivara Merlot proizvode se dva različita stila vina. Vina rane berbe srednjeg tijela, svježija i s aromama svježeg bobičastog voća te vina kasnije berbe jače obojenosti, punijeg tijela, viših alkohola, veće fenološke zrelosti te aromama zrelih kupina i šljiva (Clarke, 2001.).

Slika 12: Merlot



Izvor: Mirošević i Turković, 2003.

3. METODOLOGIJA RADA

3.1. Uzorci

Vina od svjetski poznatih kultivara grožđa Cabernet Sauvignon i Merlot te hrvatskih autohtonih kultivara grožđa Plavac mali i Teran prikupljeni su u travnju 2017. od lokalnih proizvođača iz različitih dijelova Hrvatske koji su ih dobrovoljno ustupili: Cabernet Sauvignon, Merlot i Teran iz Istre te Plavac mali iz Dalmacije. Vina su odabrana na način da se uključi većina mogućih izvora varijabilnosti te su stoga bila uključena različita vinogradarska područja i vinogorja, a sva vina istog kultivara grožđa proizvedena su od strane različitih proizvođača. Izbor vina bio je reprezentativan za hrvatsko vinogradarstvo na način da je predstavljao kultivare koji su među najraširenijim i najvažnijim u Republici Hrvatskoj. Prikupljena su samo mlada vina iz berbe 2016. označena Zaštićenom oznakom izvornosti (ZOI) i tradicionalnim izrazom kvalitete – *kvalitetno* ili *vrhunsko vino,* proizvedena standardnom tehnologijom bez korištenja drvenih bačvi. Vina su prikupljena i analizirana u okviru provedbe uspostavnog istraživačkog projekta Hrvatske zaklade za znanost „Razjašnjavanje sortne tipičnosti vina i maslinovih ulja od hrvatskih domaćih sorti – TYPICRO“ (UIP-2014-09-1194).

3.2. Fizikalno-kemijske analize vina

Vina su analizirana tijekom travnja i svibnja 2017. godine u Vinarskom laboratoriju Instituta za poljoprivredu i turizam u Poreču. Standardni fizikalno-kemijski parametri vina (relativna gustoća, alkoholna jakost, ukupni suhi ekstrakt, reducirajući šećeri, ukupna kiselost (kao vinska kiselina u g/L), hlapljiva kiselost (kao octena kiselina u g/L) te pH vrijednost) određivani su u skladu s OIV metodama (OIV, 2016).

Fenolni spojevi u uzorcima vina analizirani su tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (engl. *high-performance liquid chromatography*, HPLC) na uređaju Agilent Infinity 1260 opremljenim s G1311B kvarternom pumpom, G1329B autosamplerom,

G1316A termostatom kolone i G4212B detektorom s nizom dioda (engl. *diode array detector*, DAD) (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, SAD). Korišten je softver Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition, verzija 01.07.027 (Agilent Technologies). Uzorci su filtrirani kroz PTFE filtere (Chromafil Xtra, širina pora 0,45 μm, promjer 25 mm). Upotrijebljena je modificirana metoda preuzeta od Pati i sur. (2014.). Volumen uzorka od 10 μL injektiran je u kolonu Poroshell 120 EC-C18 (150 mm × 4,6 mm, veličina čestica 2,7 μm) s istovrsnom pretkolonom (5 mm × 4,6 mm, veličina čestica 2,7 μm) (Agilent Technologies). Temperatura kolone održavana je tijekom analize na 26 °C. Primijenjeno je gradijentno eluiranje pri čemu je eluens A bila 1 %-tna mravlja kiselina (voda : mravlja kiselina, 99 : 1, v/v), a eluens B čisti acetonitril (Tablica 4). Voda (Honeywell, Charlotte, NC, SAD) i acetonitril (J. T. Baker, Fischer Scientific, Göteburg, Švedska) bili su kromatografske čistoće, a mravlja kiselina analitičke čistoće (VWR Chemicals, Radnor, PA, SAD). Kromatogrami su bilježeni na valnim duljinama 280 nm i 330 nm, uz snimanje spektara u rasponu valnih duljina od 200 do 600 nm. Spojevi su identificirani usporedbom vremena zadržavanja i UV/Vis spektara s vremenima zadržavanja i spektrima standarda u standardnim otopinama. Kvantifikacija je provedena prema baždarnim krivuljama dobivenim analizom standardnih otopina spojeva ili je provedeno semikvantitativno određivanje u slučaju kada su na raspolaganju bili samo kvalitativni standardi. Kemikalije za pripremu standardnih otopina nabavljene su od Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, SAD), Acros Organics (Geel, Belgija) i Extrasynthese (Genay, Francuska) (Tablica 5). Kvalitativne standarde *trans*-kutarne i *trans*-fertarne kiseline donirala je dr. Urška Vrhovšek iz Fondazione Edmund Mach (San Michele All'Adige, Italija). *Cis*-izomeri hidroksicinamata dobiveni su izlaganjem otopina *trans*-izomera u metanolu UV svjetlosti tijekom 4 sata.

Tablica 4: Program eluiranja u metodi na osnovi tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti primijenjene za analizu fenolnih spojeva

Vrijeme (min)	% A	% B	Brzina protoka (ml/min)
0	98	2	0,3
10	87	13	0,3
25	85	15	0,3
30	78	22	0,3
46	78	22	0,3
47	1	99	0,7
49	1	99	0,7
56	98	2	0,7
64	98	2	0,7
65	98	2	0,3
74	98	2	0,3

Izvor: vlastiti

Određivanje koncentracije ukupnih flavonoida i ukupnih atocijana provedeno je prema metodi Di Stefano et al. (1989.), nakon razrjeđenja uzorka vina 10 do 20 puta otopinom etanol : voda : klorovodična kiselina (37 %-tna) u omjeru 70 : 30 : 1 (v/v/v) i očitanja absorbancije u području valnih duljina od 230 do 700 nm. Koncentracije ukupnih flavonoida i ukupnih antocijana određena je prema uputama iz metode grafički i računski.

Određivanje koncentracije ukupnih fenola provedeno je prema metodi Singleton i Rossi (1965.). U tikvici od 25 mL alikvotu uzorka (0,25 mL) dodano je 1,25 mL Folin-Ciocalteu reagensa i 15 mL vode, a nakon 30 sekundi 5 mL Na2CO3 te deionizirana voda do oznake. Nakon još 30 min očitana je apsorbancija na valjnoj duljini 765 nm. Koncentracija je određena prema kalibracijskoj krivulji apsorbancija standardnih otopina galne kiseline i izražena u mg/L ekvivalenata galne kiseline.

Određivanje parametara boje provedeno je prema metodi predloženoj od OIV-a (OIV, 2016.) korištenjem UV/Vis spektrofotometra Varian Cary 50 (Varian Inc., Harbour City, CA,

SAD). Intenzitet boje određen je kao zbroj absorbancija pri valnim duljinama od 420, 520, i 620 nm, dok je nijansa boje određena kao omjer absorbancija pri 420 i 520 nm.

Tablica 5: Popis kemijskih standarda (s pripadajućim CAS brojem, čistoćom i proizvođačem) korištenih za kvantitativno određivanje fenolnih spojeva u uzorcima vina

Kemijski standardi fenola	**CAS broj**	**Čistoća**	**Proizvođač**
hidroksibenzojeve kiseline			
galna kiselina	149-91-7	≥ 98 %	Fluka
protokatehinska kiselina	99-50-3	≥ 97 %	Fluka
p-hidroksibenzojeva kiselina	99-96-7	99 + %	Acros Organics
2,5-dihidroksibenzojeva kiselina	490-79-9	99 %	Acros Organics
siringinska kiselina	530-57-4	≥ 95 %	Sigma
hidroksicimetne kiseline			
trans-kaftarna kiselina	67879-58-7	≥ 97 %	Sigma
kafeinska kiselina	331-39-5	≥ 98 %	Sigma
p-kumarna kiselina	501-98-4	≥ 98 %	Fluka
ferulinska kiselina	1135-24-6	≥ 99 %	Fluka
flavan-3-oli			
katehin	225937-10-0	≥ 96 %	Fluka
epikatehin	490-46-0	≥ 90 %	Fluka
procijanidin B1	20315-25-7	≥ 80 %	Extrasynthese
procijanidin B2	29106-49-8	≥ 90 %	Extrasynthese
ostali fenoli			
tirosol	501-94-0	98 %	Aldrich
taksifolin	480-18-2	≥ 85 %	Fluka
trans-piceid	65914-17-2	≥ 95 %	Sigma

Izvor: vlastiti

3.3. Senzorska analiza vina

Senzorsku analizu proveo je panel ocjenjivača-kušača Instituta za poljoprivredu i turizam u Poreču sastavljen od 6 do 8 članova. Članovi panela uglavnom su već imali veliko višegodišnje iskustvo u senzorskoj analizi vina različitih kultivara. Uzorci vina ocijenjeni su kvantitativnom deskriptivnom senzorskom analizom. Kriteriji za kvalitativnu i kvantitativnu analizu (glavni deskriptori i njihov opis te intenziteti percepcije) prethodno su dogovoreni, potvrđeni i usuglašeni ocjenjivanjem reprezentativnih uzoraka vina različitih kultivara na nekoliko preliminarnih sjednica. Isti uzorak ocijenjen je kao kontrolni uzorak više puta prije niza uzoraka iz pokusa radi ujednačavanja ocjenjivača na svakoj sjednici. Senzorska analiza provedena je u prostoriji namijenjenoj za tu svrhu koja je zadovoljavala kriterije norme HRN EN ISO 8589 (2010). Članovi panela bili su smješteni u zasebne kabine, zaštićeni od mogućih izvora interferencija iz okoliša (buka, vizualni podražaji, mirisi). Uzorci su čuvani na 11 °C i posluženi označeni šiframa nasumičnim redoslijedom u standardnim čašama (ISO 3591, 1977.) na sobnoj temperaturi (20 °C). Tijekom kvantitativne deskriptivne analize intenziteti pojedinih senzorskih svojstava (deskriptora) mirisa i okusa ocjenjivani su korištenjem strukturirane skale vrijednostima od 0 (svojstvo se ne može osjetiti) do 10 (svojstvo se osjeti vrlo intenzivno).

3.4. Statistička obrada rezultata

Provedeni su jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) i Fischerov test najmanjih značajnih razlika (LSD) na razini značajnosti $p < 0,05$ za usporedbu prosječnih vrijednosti korištenjem računalnog programa za statističku obradu podataka Statistica, verzija 13.2 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, SAD). Diskriminacijska analiza parcijalnih najmanjih kvadrata (engl. *partial least squares - discriminant analysis,* PLS-DA) provedena je da bi se pojedini fenolni spojevi ili ostale karakteristike potvrdili kao najkorisniji markeri za karakterizaciju i diferencijaciju vina pojedinih kultivara. Diskriminacijska analiza parcijalnih najmanjih kvadrata obavljena je s auto-skaliranim podatcima korištenjem računalnog programa MetaboAnalyst v. 4.0 (http://www.metaboanalyst.ca) razvijenog na Sveučilištu u Alberti u Kanadi (Xia et al., 2015).

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Osnovni fizikalno – kemijski parametri

Rezultati analize osnovnih fizikalno - kemijskih parametara prikupljenih uzoraka vina prikazani su u Tablici 6.

Tablica 6: Rezultati fizikalno - kemijske analize vina kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.

Fizikalno-kemijski parametar	**Plavac mali**	**Teran**	**Merlot**	**Cabernet Sauvignon**
Relativna gustoća 20°C/20°C	0,9939 ^{ab} ± 0,001	0,9940 ^{ab} ± 0,001	0,9935 ^{b} ± 0,001	0,9944 ^{a} ± 0,001
Alkoholna jakost (vol.%)	13,89 ^{a} ± 0,94	12,82 ^{bc} ± 0,89	13,36 ^{ab} ± 0,95	12,65 ^{c} ± 0,72
Ukupna kiselost (g/L vinske kiseline)	4,9 ^{c} ± 0,6	6,2 ^{a} ± 0,7	5,7 ^{ab} ± 0,9	5,6 ^{b} ± 0,9
Hlapiva kiselost (g/L octene kiseline)	0,60 ^{a} ± 0,14	0,51 ^{ab} ± 0,14	0,48 ^{b} ± 0,16	0,52 ^{ab} ± 0,13
Reducirajući šećeri (g/L)	2,8 ^{a} ± 0,7	2,2 ^{b} ± 0,8	2,4 ^{ab} ± 0,9	1,9 ^{b} ± 0,4
Ukupni suhi ekstrakt (g/L)	30,9 ^{a} ± 2,8	28,0 ^{b} ± 3,0	28,2 ^{b} ± 2,7	28,5 ^{b} ± 1,9
Ukupni suhi ekstrakt bez reducirajućih šećera (g/L)	28,1 ^{a} ± 2,4	25,8 ^{b} ± 2,8	25,8 ^{b} ± 1,9	26,6 ^{ab} ± 1,8
pH	3,73 ^{a} ± 0,18	3,35 ^{b} ± 0,13	3,39 ^{b} ± 0,20	3,48 ^{b} ± 0,26

Izvor: vlastiti

Viša relativna gustoća izmjerena je u vinu kultivara Cabernet Sauvignon u odnosu na vino kultivara Merlot (Tablica 6). Najviša alkoholna jakost izmjerena je u vinu Plavca malog

što je u skladu s prethodno objavljenim podacima (Lukić et al., 2019.), iako ne statistički značajno različita od one određene za vino od kultivara Merlot. Nadalje, najviša ukupna kiselost izmjerena je u vinu Terana, iako ne značajno različita od one izmjerene za Merlot, a najniža u vinu Plavca malog, što odgovara karakteristikama kultivara prema Miroševiću (2002.), kao i rezultatima prethodnih istraživanja (Lukić et al., 2019.). Najviša razina ukupnog suhog ekstrakta, ukupnog suhog ekstrakta bez reducirajućih šećera i vrijednosti pH utvrđena je kod Plavca malog. Takvi rezultati potvrdili su rezultate ranijih istraživanja (Lukić et al., 2019.), ali i općeprihvaćeno mišljenje da vina Plavca malog vrlo ekstraktivna, s nešto nižim sadržajem ukupnih kiselina, odnosno višim vrijednostima pH.

4.2. Fenolni spojevi i boja

4.2.1. Hidroksibenzojeve kiseline

U ovom istraživanju identificirane su sljedeće hidroksibenzojeve kiseline: galna, protokatehinska, *p*-hidroksibenzojeva, vanilinska i siringinska. Rezultati analize prikazani su u Tablici 7.

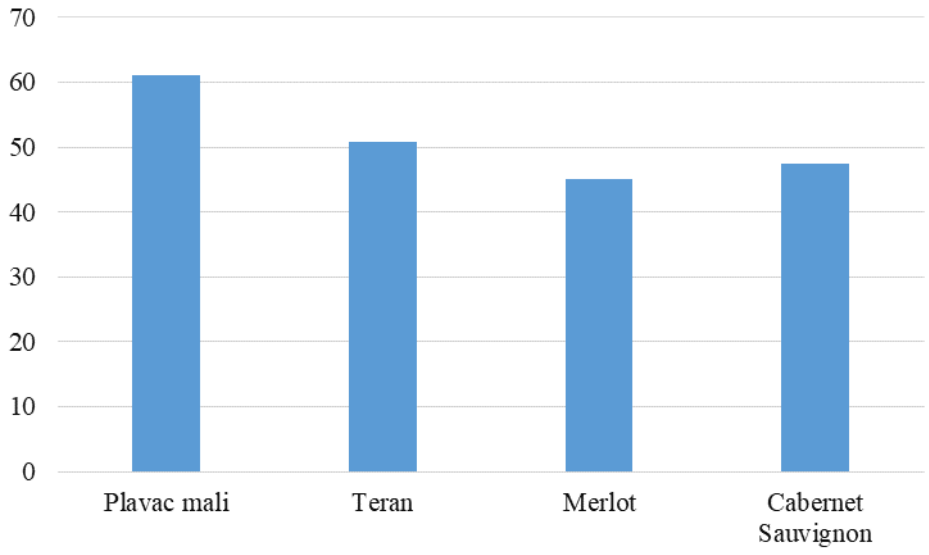
Tablica 7: Koncentracija hidroksibenzojevih kiselina (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.

Hidroksibenzojeve kiseline	**Plavac mali**	**Teran**	**Merlot**	**Cabernet Sauvignon**
galna kiselina	49,32 ± 17,98	40,56 ± 22,89	33,98 ± 10,44	38,88 ± 22,36
protokatehinska kiselina	5,65 ^{b} ± 0,91	4,57 ^{c} ± 0,88	6,86 ^{a} ± 1,83	4,32 ^{c} ± 1,19
p-hidroksibenzojeva kiselina	0,77 ^{a} ± 0,28	0,54 ^{b} ± 0,21	0,47 ^{b} ± 0,22	0,94 ^{a} ± 0,29
vanilinska kiselina	2,28 ^{a} ± 0,53	2,13 ^{a} ± 0,76	1,98 ^{a} ± 0,91	1,12 ^{b} ± 0,42
siringinska kiselina	3,03 ^{a} ± 1,41	3,05 ^{a} ± 1,46	1,71 ^{b} ± 0,94	2,24 ^{ab} ± 0,87

Izvor: vlastiti

U svim je uzorcima utvrđeno da je daleko najviše bilo zastupljeno galne kiseline, što je odgovaralo prijašnjim istraživanjima (Granato, 2010.; Lukić et al., 2019.) (Tablica 7). Nisu pronađene statistički značajne razlike, što se razlikovalo od prijašnjih istraživanja u kojima je najniža koncentracija galne kiseline utvrđena u vinu kultivara Cabernet Sauvignon (Lukić et al., 2019.). Najvišu koncentraciju protokatehinske imalo je vino kultivara Merlot, zatim ono Plavca malog, dok je najniža koncentracija pronađena u vinima kultivara Teran i Cabernet Sauvignon. Koncentracija *p*-hidroksibenzojeve kiseline bila je viša u uzorcima vina kultivara Plavca malog i Cabernet Sauvignona u odnosu na vina od Terana i Merlota. Najniža koncentracija vanilinske kiseline pronađena je u vinu kultivara Cabernet Sauvignon, što odgovara rezultatima dobivenim za vina iz berbe 2015. godine koje su objavili Lukić et al. (2019.). Navedeno upućuje na mogućnost da bi niža koncentracija vanilinske ksieline mogla poslužiti kao indikator za prepoznavanje vina tog kultivara. Siringinske kiseline bilo je više u uzorcima vina kultivara Plavca malog i Terana u odnosu na vino od kultivara Merlot. Vino kultivara Plavac mali imalo je najvišu koncentraciju ukupnih hidroksibenzojevih kiselina (Graf 2).

Graf 2: Koncentracija ukupnih hidroksibenzojevih kiselina (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.



Izvor: vlastiti

4.2.2. Hidroksicimetne kiseline

Od hidroksicimetnih kiselina identificirani su hidroksicinamoiltartarati *cis*-kaftarna, *trans*-kaftarna, *cis*-kutarna i *trans*-kutarna te *cis*-fertarna i *trans*-fertarna, a od slobodnih oblika kafeinska i *p*-kumarna. Rezultati su prikazani u Tablici 8 i Grafu 3.

Tablica 8: Koncentracija hidroksicimtnih kiselina (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.

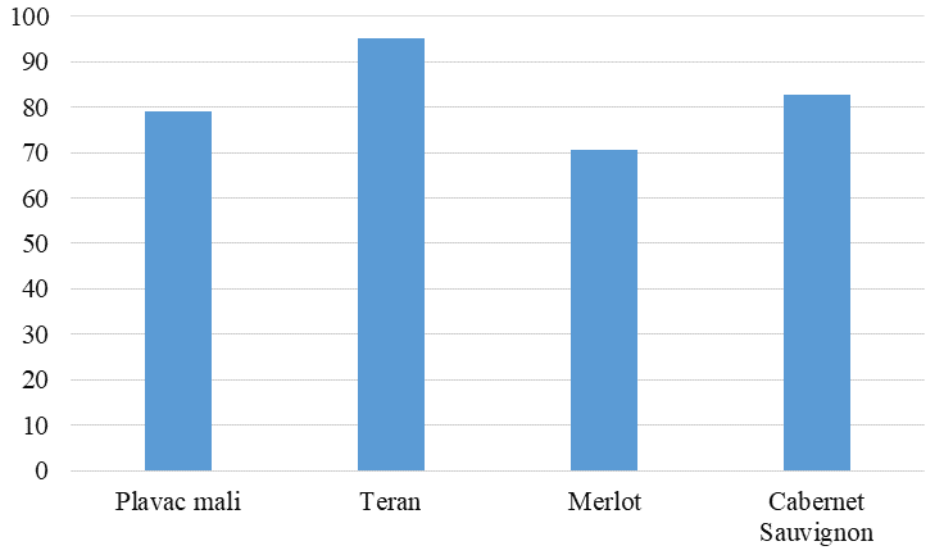
Hidroksicimetne kiseline	**Plavac mali**	**Teran**	**Merlot**	**Cabernet Sauvignon**
cis-kaftarna kiselina	2,12 ^{a} ± 0,37	1,73 ^{b} ± 0,38	1,78 ^{b} ± 0,25	1,92 ^{ab} ± 0,41
trans-kaftarna kiselina	51,5 ^{ab} ± 16,9	65,1 ^{a} ± 21,9	47,9 ^{b} ± 17,9	53,8 ^{ab} ± 22,7
cis-kutarna kiselina	3,36 ^{bc} ± 0,69	3,48 ^{b} ± 0,73	2,83 ^{c} ± 0,61	4,47 ^{a} ± 0,95
trans-kutarna kiselina	10,46 ^{ab} ± 4,03	12,59 ^{ab} ± 3,46	9,78 ^{b} ± 4,25	13,43 ^{a} ± 6,03
cis-fertarna kiselina	1,22 ± 0,08	1,26 ± 0,13	1,28 ± 0,12	1,22 ± 0,05
trans-fertarna kiselina	3,17 ^{a} ± 0,38	3,31 ^{a} ± 0,67	2,14 ^{b} ± 0,21	2,00 ^{b} ± 0,20
kafeinska kiselina	4,28 ± 6,16	5,51 ± 7,94	2,24 ± 0,60	3,42 ± 3,18
p-kumarna kiselina	2,94 ± 2,08	2,20 ± 1,74	2,63 ± 1,76	2,47 ± 1,99

Izvor: vlastiti

Najveću koncentraciju imala je *trans*-kaftarna kiselina (Tablica 7) što je odgovaralo prijašnjim istraživanjima (de Villiers et al., 2005.; Darias-Martin et al., 2008.; Lukić et al., 2019.). Najviša koncentracija *cis*-kaftarne kiseline pronađena je u vinu kultivara Plavac mali, iako ne statistički značajno različita od one u vinu kultivara Cabernet Sauvignon. Koncentracija *trans*-kaftarne kiseline bila je viša u vinu od kultivara Teran u odnosu na vino od kultivara Merlot. Značajna razlika pokazala se u koncentracijama *cis*-kutarne kiselina koje je bilo najviše u vinu kultivara Cabernet Sauvignon, a najmanje u vinu Merlota, po čemu bi se mogla prepoznavati vina ovih kultivara. Viša koncentracija *trans*-fertarne kiseline pronađena je u vinima Terana i Plavaca malog u odnosu na Merlot i Cabernet Sauvignon, kao u istraživanju Lukić et al. iz 2019. godine. U svim vinima pronađena je viša koncentracija *trans*

u odnosu na *cis* izomer u slučaju svih kiselina, što je potvrdilo navode iz 2013. od Garridoa i Borgesa da je *trans* izomer dominirajući. Za slobodne hidroksicimetne kiseline, kafeinsku i *p*-kumarnu, nisu pronađene statistički značajne razlike između vina različitih kultivara. Najviša koncentracija ukupnih hidroksicimetnih kiselina pronađena je u vinu kultivara Teran (Graf 3).

Graf 3: Koncentracija ukupnih hidroksicimetnih kiselina (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.



Izvor: vlastiti

4.2.3. Stilbeni

Rezultati analize stilbena prikazani su u Tablici 9 i Grafu 4. Najzastupljeniji stilben u ovom istraživanju bio je *cis*-piceid što je u skladu s rezultatima istraživanja I. Lukića et al. (2019.) i Pérez-Trujillo et al. (2011.).

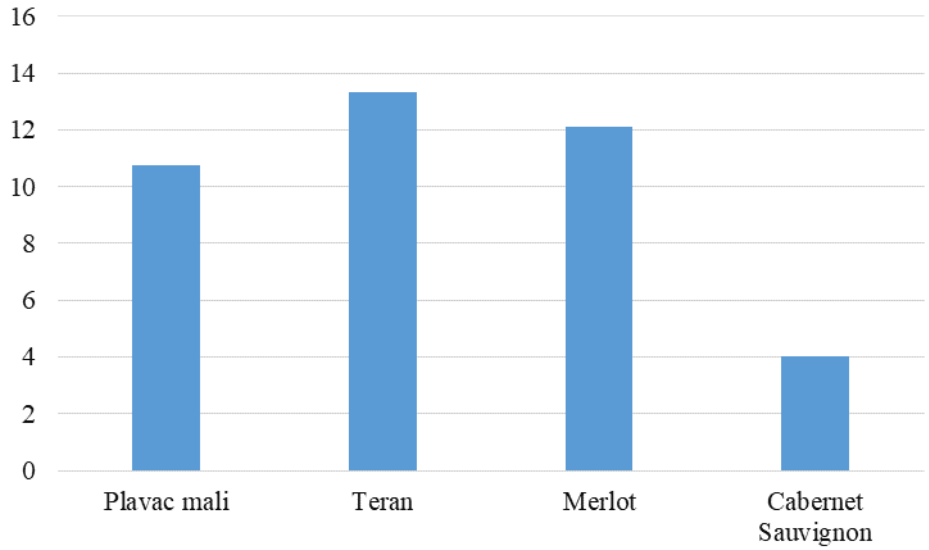
Tablica 9: Koncentracija stilbena (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.

Stilbeni	**Plavac mali**	**Teran**	**Merlot**	**Cabernet Sauvignon**
cis-piceid	9,60 ^{a} ± 2,54	11,42 ^{a} ± 6,26	10,83 ^{a} ± 7,70	3,60 ^{b} ± 1,6
trans-piceid	1,14 ^{b} ± 0,17	1,93 ^{a} ± 1,07	1,29 ^{b} ± 0,86	0,41 ^{c} ± 0,26

Izvor: vlastiti

Koncentracija *cis*-piceida je u vinu Cabernet Sauvignon bila niža u odnosu na vina ostala tri kultivara, što je potvrdilo ranija istraživanja (Lukić i sur., 2019) S druge strane, značajnija razlika bila je vidljiva kod *trans*-piceida kojeg je najviše imalo vino Terana, zatim Merlota i Plavca malog, dok je najniža koncentracija pronađena u vinu kultivara Cabernet Sauvignon, što je također bilo u skladu s istraživanjem Lukića i sur. iz 2019. godine te je naznačilo mogućnost da su niže koncentracije piceida vjerojatno tipična karakteristika vina kultivara Cabernet Sauvignon. Također, u istraživanju D. Granato iz 2010. godine pronađeno je više *trans*-piceida u vinu Merlota nego u vinu Cabernet Sauvignona. Najviša koncentracija ukupnih stilbena, odnosno zbroja dva izomera piceida, pronađena je u vinu kultivara Teran, a najniža u vinu kultivara Cabernet Sauvignon.

Graf 4: Koncentracija ukupnih stilbena (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.



Izvor: vlastiti

4.2.4. Flavan-3-oli

U ovom istraživanju identificirani su flavan-3-olni monomeri katehin (kvantificiran u zbroju s tirosolom zbog nedovoljnog odvajanja pikova u HPLC analizi) i epikatehin te flavan-3-olni dimeri, procijanidin B1 i procijanidin B2. Rezultati su prikazani u Tablici 10 i Grafu 5. Najveća ukupna koncentracija flavan-3-ola pronađena je u vinu kultivara Plavca malog (Graf 5), koji se isticao i s najvišim koncentracijama pojedinačnih flavan-3-ola katehina i procijanidina B1 (Tablica 10). Isti rezultat za procijanidin B1 dobili su i Lukić et al. u 2019. godini. Koncentracije flavan-3-ola su i u drugim prethodnim istraživanjima pokazale potencijal za diferencijaciju crnih vina različitih kultivara (Gómez Gallego et al., 2013; Pérez-Trujillo et al., 2011.)

Tablica 10: Koncentracija flavan-3-ola (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.

Flavan-3-oli	**Plavac mali**	**Teran**	**Merlot**	**Cabernet Sauvignon**
katehin + tirosol (kao katehin)	69,50 [a] ± 12,16	55,59 [b] ± 18,18	57,04 [ab] ± 11,88	55,81 [b] ± 21,60
epikatehin	19,78 ± 4,96	19,58 ± 10,46	20,61 ± 8,41	16,93 ± 9,36
procijanidin B1	43,70 [a] ± 10,79	34,91 [b] ± 14,55	31,64 [b] ± 6,99	27,05 [b] ± 8,99
procijanidin B2	15,87 ± 4,24	20,18 ± 10,10	19,41 ± 6,54	15,51 ± 5,73

Izvor: vlastiti

Graf 5: Koncentracija ukupnih flavan-3-ola (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.



Izvor: vlastiti

4.2.5. Flavonoli

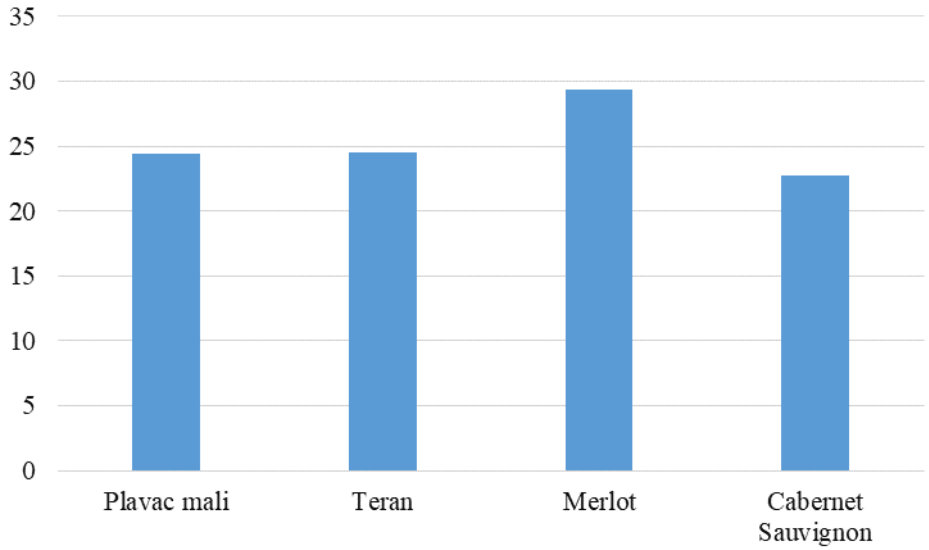
Rezultati analize flavonola prikazani su u Tablici 11 i Grafu 6. Vino kultivara Plavac mali isticalo se po najvišoj koncentraciji kvercetin-3-O-glukozid + kvercetin-3-O-glukuronida. Najvišu koncentraciju kvercetina imalo je vino Merlota, dok je u istraživanju Lukića i sur. iz 2019. godine u međusobnoj usporedbi vina istih kultivara iz berbe 2015. godine najvišu koncentraciju imalo vino Cabernet Sauvignon. U ovom istraživanju, najviša koncentracija kvercetina, kao i ukupnih flavonola, utvrđena je u vinu kultivara Merlot (Tablica 11, Graf 6). Granata je 2010. godine utvrdio da koncentracija kvercetina u vinima od kultivara Merlota i Cabernet sauvginona može varirati ovisno o vinogradarskom položaju, tj. državi podrijetla.

Tablica 11: Koncentracija flavonola (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.

Flavonoli	**Plavac mali**	**Teran**	**Merlot**	**Cabernet Sauvignon**
kvercetin-3-O-glukozid + kvercetin-3-O-glukuronid	$7,92^{a} \pm 2,05$	$4,17^{b} \pm 2,46$	$4,16^{b} \pm 2,85$	$3,59^{b} \pm 3,44$
kvercitrin + kaempferol-3-O-glukuronid	$1,84 \pm 0,52$	$2,20 \pm 0,73$	$2,06 \pm 0,81$	$2,13 \pm 0,75$
miricetin	$4,03 \pm 1,72$	$4,30 \pm 1,51$	$5,39 \pm 2,70$	$4,87 \pm 3,40$
kvercetin	$10,59^{b} \pm 5,66$	$13,84^{ab} \pm 5,22$	$17,76^{a} \pm 9,41$	$12,13^{b} \pm 6,79$

Izvor: vlastiti

Graf 6: Koncentracija ukupnih flavonola (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.



Izvor: vlastiti

4.2.6. Flavanonoli

Analizom je utvrđena najviša koncentracija jedinog identificiranog flavanonola taksifolina u vinu kultivara Plavca malog, zatim u vinu Merlota te najniža u vinima Terana i Cabernet Sauvignona (Tablica 12).

Tablica 12: Koncentracija flavanonola (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.

Flavanonoli	**Plavac mali**	**Teran**	**Merlot**	**Cabernet Sauvignon**
taksifolin	2,60 [a] ± 0,97	0,61 [c] ± 0,30	1,30 [b] ± 0,31	0,73 [c] ± 0,24

Izvor: vlastiti

Najviše taksifolina u vinu kultivara Plavac mali pronađeno je i u prethodno objavljenom istraživanju (Lukić et al., 2019.), što upućuje na vrlo vjerojatnu mogućnost da je visoka koncentracija taksifolina tipična karakteristika vina kultivara Plavac mali.

4.2.7. Ukupni flavonoidi

Koncentracije ukupnih flavonoida prikazane su u Tablici 13. Najviša koncentracija pronađena je u vinima kultivara Plavac mali. Takav rezultat potvrdio je općeprihvaćeno mišljenje da je Plavac mali kultivar od kojeg se proizvode vina izraženije fenolne komponente (Mirošević, 2008.).

Tablica 13: Koncentracija ukupnih flavonoida (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.

	Plavac mali	**Teran**	**Merlot**	**Cabernet Sauvignon**
Ukupni flavonoidi	2322,47 ^{a} ± 513,48	1607,02 ^{b} ± 568,26	1616,82 ^{b} ± 404,55	1583,86 ^{b} ± 419,83

Izvor: vlastiti

4.2.8. Ukupni antocijani

Među istraživanim vinima, najnižu koncentraciju ukupnih antocijana imalo je vino kultivara Plavac mali (Tablica 14). Takav rezultat djelomično je bio u skladu s rezultatima koje su dobili Lukić i sur. (2019) s vinima istih kultivara iz berbe 2015., gdje je vino Plavca malog imalo najnižu koncentraciju zbroja slobodnih monomernih antocijana.

Tablica 14: Koncentracija ukupnih antocijana (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.

	Plavac mali	**Teran**	**Merlot**	**Cabernet Sauvignon**
Ukupni antocijani	257,29 ^{b} ± 47,13	362,24 ^{a} ± 109,22	362,66 ^{a} ± 90,72	318,58 ^{ab} ± 8819

Izvor: vlastiti

U vinu Plavca malog izmjerena je i najniža absorbancija na sve tri mjerene valne duljine koje predstavljaju žute, crvene i plave nijanse vidljivog spektra (Tablica 15), što je vjerojatno, između ostalog, bila i posljedica najniže koncentracije ukupnih antocijana. Intenzitet boje je također bio najniži kod Plavca malog. Ovakvi rezultati bili su u potpunosti u slaganju s rezultatima Lukića et al. iz 2019. godine s vinima istih kultivara. Potvrđeno je da je Plavac mali kultivar koji daje vina nešto nižih intenziteta obojenja (Božiković, 2016.).

Tablica 15: Absorbancija na 420, 520 i 620 nm te intenzitet i nijansa boje vina kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.

	Plavac mali	**Teran**	**Merlot**	**Cabernet Sauvignon**
A420	0,33 ^{b} ± 0,05	0,46 ^{a} ± 0,12	0,48 ^{a} ± 0,14	0,42 ^{a} ± 0,11
A520	0,47 ^{b} ± 0,87	0,77 ^{a} ± 0,26	0,83 ^{a} ± 0,25	0,67 ^{a} ± 0,29
A620	0,14 ^{b} ± 0,22	0,18 ^{a} ± 0,05	0,18 ^{a} ± 0,05	0,16 ^{ab} ± 0,04
intenzitet boje	0,94 ^{b} ± 0,15	1,41 ^{a} ± 0,42	1,49 ^{a} ± 0,46	1,25 ^{a} ± 0,42
nijansa boje	0,72 ^{a} ± 0,09	0,61 ^{b} ± 0,06	0,60 ^{b} ± 0,09	0,67 ^{ab} ± 0,12

Izvor: vlastiti

4.2.9. Ukupni fenoli

Među ispitanim vinima, najvišu koncentraciju ukupnih fenola imalo je vino kultivara Plavac mali (Tablica 16). Takav rezultat potvrdio je općeprihvaćeno stručno mišljenje da je Plavac mali kultivar od kojeg se proizvode vina izražene fenolne komponente (Mirošević, 2008.).

Tablica 16: Koncentracija ukupnih fenola (mg/L ekvivalenata galne kiseline) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.

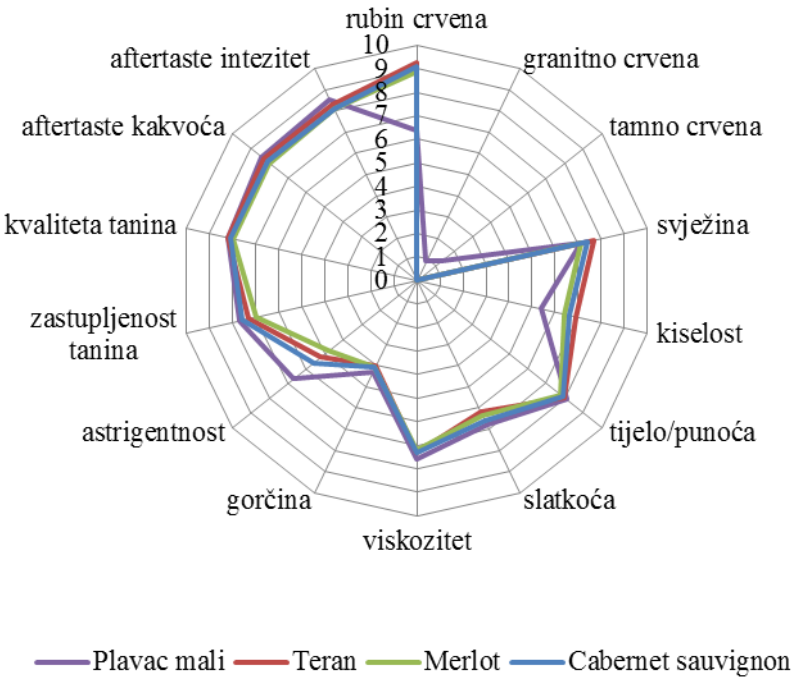
	Plavac mali	**Teran**	**Merlot**	**Cabernet Sauvignon**
Ukupni fenoli	2068,4 ^{b} ± 432,6	1507,4 ^{a} ± 487,0	1483,8 ^{a} ± 357,8	1557,1 ^{ab} ± 406,0

Izvor: vlastiti

4.3. Senzorska analiza

Kod senzorske analize za potrebe ovog istraživanja naglasak je bio na boji i okusu vina koji su pod utjecajem fenolnog sastava. Rezultati senzorske analize prikazani su u Grafu 7 i Tablicama 17 i 18.

Graf 7: Senzorska analiza vina kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.



Izvor: vlastiti

4.3.1. Boja i odsjaj

Parametri boje izučavanih vina prikazani u Tablici 17. mogli su se povezati s rezultatima analize antocijana za koje se zna da su među glavnim nositeljima boje crnih vina (Ribéreau-Gayon et al., 2000). Senzorska analiza pokazala je da je vino kultivara Plavac mali bilo karakterizirano nižim intenzitetom rubin crvene boje, što je potvrdilo ranija istraživanja

(Lukić et al., 2019.). Crveni odsjaj zamijećen je više kod vina Plavca malog i Merlota, a ljubičasti kod vina od Terana i Cabernet Sauvignona. Granitno crvena i tamno crvena boja te ciglasti odsjaj u manjoj su mjeri zamijećeni samo kod vina Plavca malog, a kod vina ostalih kultivara zanemarivo. Na osnovi prethodnog istraživanja (Lukić et al., 2019.) pretpostavljeno je da je karakteristična boja vina Plavca malog djelomično proizašla iz niže koncentracije ukupnih antocijana utvrđenih u ovom istraživanju (Tablica 16), ali i iz specifičnog profila antocijana koji u ovom istraživanju nije analiziran. Etanol u vinu smanjuje stabilnost antocijana oslabljujući intermolekularne hidrofobne veze (González-Manzano et al., 2008.), a intenzitet crvene boje niži je pri višoj vrijednosti pH (He i sur., 2012). Najviša razina alkohola i najviša pH vrijednost u vinu Plavca malog (Tablica 6) mogli su utjecati na razvoj i postojanost njegove tipične boje.

Tablica 17: Senzorna analiza boje i odsjaja u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.

Boja	**Plavac mali**	**Teran**	**Merlot**	**Cabernet Sauvignon**
rubin crvena	6,4 ^{b} ± 2,4	9,3 ^{a} ± 0,8	8,9 ^{a} ± 0,9	9,1 ^{a} ± 0,7
granitno crvena	0,9 ^{a} ± 2,4	0,00 ^{b}	0,00 ^{ab}	0,00 ^{b}
tamno crvena	1,3 ^{a} ± 0,4	0,00 ^{b}	0,00 ^{b}	0,00 ^{b}
Odsjaj				
crveni	8,0 ^{a} ± 0,5	5,3 ^{b} ± 0,5	7,9 ^{a} ± 0,6	5,7 ^{b} ± 0,8
ljubičasti	5,2 ^{b} ± 2,1	8,6 ^{a} ± 0,7	5,8 ^{b} ± 1,4	8,4 ^{a} ± 1,0
ciglasti	0,8 ^{a} ± 1,6	0,00 ^{b}	0,00 ^{b}	0,1 ^{b} ± 0,5

Izvor: vlastiti

4.3.2. Okus

Intenziteti analiziranih svojstava okusa prikazani su u Tablici 18. Najizraženiju svježinu imalo je vino kultivara Teran, nešto manje kultivara Cabernet Sauvignon, dok je nešto slabiji intenzitet svježine utvrđen za vina kultivara Plavac mali i Merlot. Pretpostavljeno

je da je takav odnos, posebno u slučaju vina Teran, većim dijelom bio izravna posljedica različitih koncentracija ukupnih kiselina, gdje je vino Terana također dominiralo (Tablica 6). Navedeno je još više došlo do izražaja po pitanju senzorskog svojstva kiselosti, gdje su vina s višim koncentracijama ukupne kiselosti opisana višim intenzitetima, a vino Plavca malog, koje je sadržavalo niže koncentracije ukupne kiselosti, s nižim intenzitetom tog senzorskog svojstva. Posljedica visoke kiselosti Terana vjerojatno je bio i nešto niži osjet slatkoće zabilježen za vino tog kultivara (Tablica 18). Dobiveni rezultati potvrdili su da je vino kultivara Teran uobičajeno nešto više, iako i te kako ugodne razine kiselosti (Šišović, 2016.). Pojačan intenzitet slatkoće vina kultivara Plavac mali mogao je potjecati od viših razina alkoholne jakosti utvrđenih u tom vinu (Tablica 6). Najviši intenzitet senzorskih svojstava gorčine i posebno astringencije utvrđen je za vino kultivara Plavac mali (Tablica 18). Navedeni rezultat bio je u izravnoj korelaciji s višim koncentracijama većine pojedinačnih fenola, ali i ukupnih flavonoida i ukupnih fenola (koji su obuhvaćali i tanine) pronađenih u vinu tog kultivara (Tablice 7 – 16, Grafovi 2 – 6), za koje se zna da su glavni nositelji gorčine i astringencije u crnim vinima. Vino Plavca malog također je ocijenjeno višim intenzitetom osjeta zastupljenosti tanina, iako ne u tolikoj mjeri višim nego vina ostalih kultivara. Tanini kao podskupina fenola nisu izravno analizirani u ovom istraživanju, ali su sigurno bili uvelike zaslužni za osjet taničnosti. Rezultati ovog dijela istraživanja potvrdili su rezultate ranijeg istraživanja (Lukić et al., 2019.), odnosno općeprihvaćeno mišljenje da je izraženija, ali ugodna astringencija, odnosno taničnost, karakteristika vina kultivara Plavac mali (Maletić et al., 2009.).

Tablica 18: Intenziteti parametara boje i odsjaja dobiveni deskriptivnom senzorskom analizom vina kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016.

Svojstvo okusa	**Plavac mali**	**Teran**	**Merlot**	**Cabernet Sauvignon**
svježina	7,1 ^{c} ± 0,2	7,7 ^{a} ± 0,3	7,1 ^{c} ± 0,2	7,4 ^{b} ± 0,5
kiselost	5,4 ^{c} ± 0,4	6,9 ^{a} ± 0,4	6,4 ^{b} ± 0,4	6,6 ^{ab} ± 0,6
tijelo/punoća	8,1 ± 0,7	8,0 ± 0,7	7,8 ± 0,7	7,9 ± 0,7
slatkoća	6,8 ^{a} ± 0,9	6,2 ^{b} ± 0,8	6,4 ^{ab} ± 0,9	6,6 ^{ab} ± 0,8
viskozitet	7,6 ± 0,7	7,3 ± 0,6	7,2 ± 0,7	7,3 ± 0,6
gorčina	4,3 ^{a} ± 0,3	4,0 ^{b} ± 0,3	4,1 ^{ab} ± 0,4	4,1 ^{ab} ± 0,3
astringencija	6,7 ^{a} ± 0,4	5,2 ^{bc} ± 0,6	4,8 ^{c} ± 0,5	5,6 ^{b} ± 1,0
zastupljenost tanina	7,7 ^{a} ± 0,5	7,3 ^{ab} ± 0,6	7,0 ^{b} ± 0,6	7,6 ^{a} ± 0,7
kvaliteta (zreli/meki) tanina	8,2 ± 1,2	8,2 ± 0,8	8,0 ± 0,9	8,1 ± 1,0
aftertaste kakvoća	8,4 ± 1,0	8,3 ± 0,9	8,0 ± 1,0	8,1 ± 1,1
aftertaste intezitet	8,5 ± 1,0	8,3 ± 0,8	8,1 ± 0,9	8,1 ± 1,0

Izvor: vlastiti

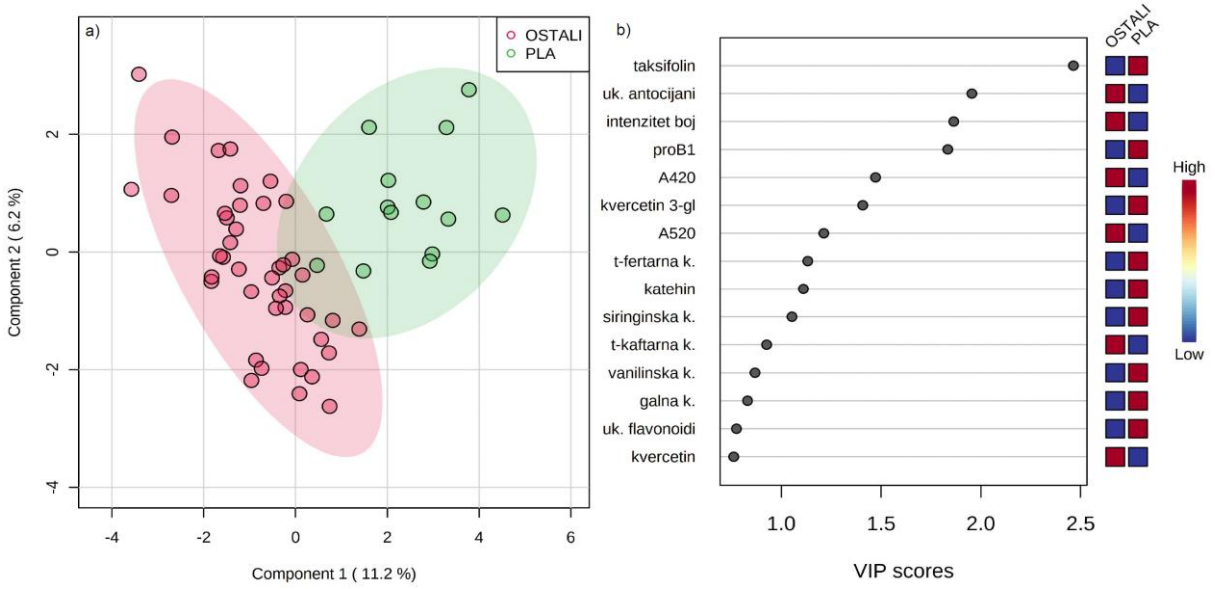
4.4. Diskriminacijska analiza parcijalnih najmanjih kvadrata

Diskriminacijska analiza parcijalnih najmanjih kvadrata provedena je da bi se pojedini fenolni spojevi ili ostale karakteristike potvrdili kao korisni markeri za karakterizaciju i diferencijaciju vina različitih kultivara. U ovom istraživanju uspoređivano je vino svakog pojedinačnog kultivara s ostalima grupiranim u jedinstvenu grupu da bi se bolje izdvojili markeri tipičnosti vina pojedinih kultivara.

Na Grafu 8a prikazana je diferencijacija uzoraka vina kultivara Plavac mali od grupe vina ostalih istraživanih kultivara iz berbe 2016. pomoću diskriminacijske analize parcijalnih najmanjih kvadrata na osnovi koncentracija fenolnih spojeva i ostalih vezanih parametara. Utvrđeno je relativno dobro razdvajanje vina Plavca malog od ostalih, iako ne potpuno. Kao glavni markeri tipični za vino Plavca potvrđene su prvenstveno više koncentracije taksifolina (VIP broj oko 2,5), a zatim i procijanidina B1, kvercetin-3-O-glukozid + kvercetin-3-O-

glukuronida, galne i vanilinske kiseline te ukupnih flavonoida (crveni kvadrati vezani uz Plavac mali) (Graf 8b). Ostali markeri (plavi kvadrati vezani uz Plavac mali) označavali su fenolne spojeve i parametre koji su u vinu Plavca malog pronađeni u nižim koncentracijama ili vrijednostima u odnosu na ostala vina. Od njih vrijedi istaknuti koncentraciju ukupnih antocijana i parametre boje.

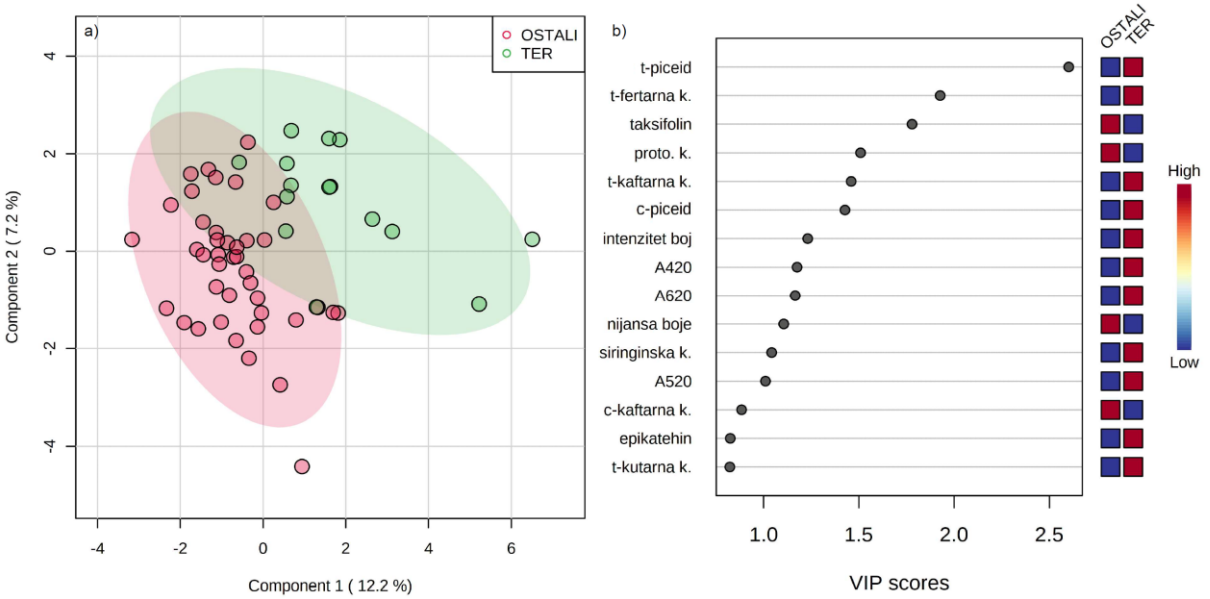
Graf 8: a) Razdvajanje vina kultivara Plavac mali od grupe vina ostalih kultivara (Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon) iz berbe 2016. pomoću diskriminacijske analize parcijalnih najmanjih kvadrata na osnovi koncentracija fenolnih spojeva i ostalih vezanih para



Izvor: vlastiti

Na Grafu 9a prikazana je diferencijacija uzoraka vina kultivara Teran od grupe vina ostalih istraživanih kultivara. Utvrđeno je relativno dobro razdvajanje, iako ne potpuno. Kao glavni markeri tipični za vino kultivara Teran potvrđene su visoke koncentracije piceida (posebno *trans* izomera s VIP brojem većim od 2,5), *trans*-fertarne i *trans*-kaftarne kiseline, parametara boje (osim nijanse) te nešto manje siringinske i *trans*-kutarne kiseline i epikatehina (crveni kvadrati vezani uz Teran) (Graf 9b). Ostali markeri (plavi kvadrati vezani uz Teran) označavali su fenolne spojeve koji su u vinu Terana pronađeni u nižim koncentracijama ili vrijednostima u odnosu na ostala vina: taksifolin, protokatehinska i *cis*-kaftarna kiselina te nijansa boje.

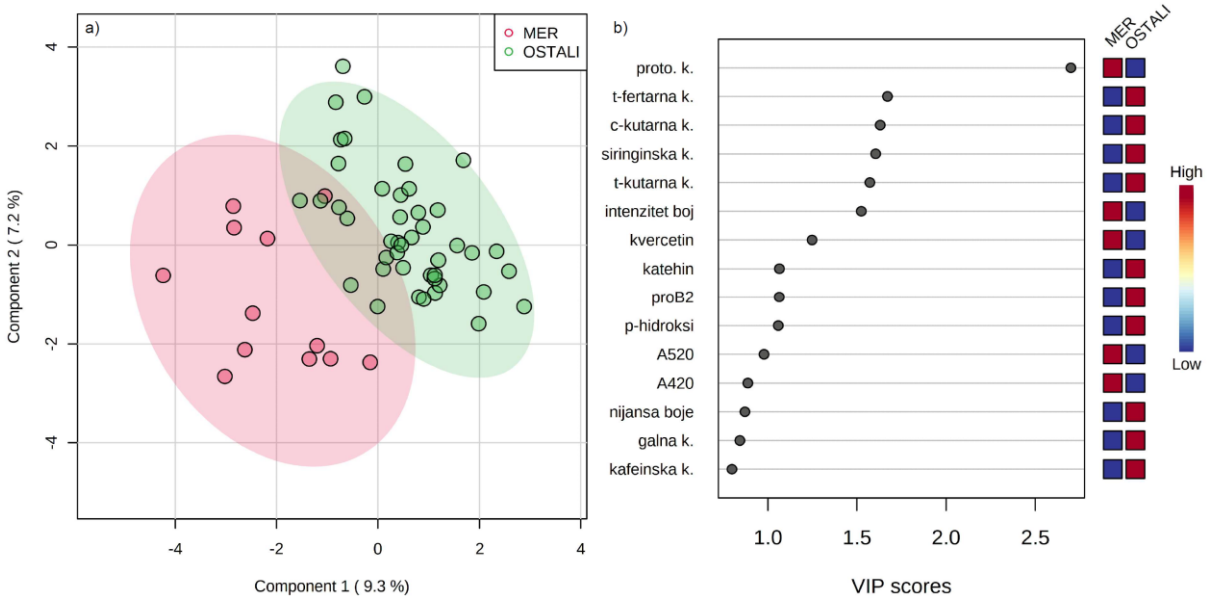
Graf 9: a) Razdvajanje vina kultivara Teran od grupe vina ostalih kultivara (Plavac mali, Merlot i Cabernet Sauvignon) iz berbe 2016. pomoću diskriminacijske analize parcijalnih najmanjih kvadrata na osnovi koncentracija fenolnih spojeva i ostalih vezanih para



Izvor: vlastiti

Na Grafu 10a prikazana je diferencijacija uzoraka vina kultivara Merlot od grupe vina ostalih istraživanih kultivara. Utvrđeno je relativno dobro razdvajanje, iako ne potpuno. Kao glavni marker tipičan za vino kultivara Merlot potvrđena je visoka koncentracija protokatehinske kiseline (VIP broj veći od 2,5), dok su nešto manje istaknuti bili intenzitet boje, koncentracija kvercetina i pojedini parametri boje (crveni kvadrati vezani uz Merlot) (Graf 10b). Istaknutiji markeri pronađeni u nižim koncentracijama ili vrijednostima u vinu Merlot u odnosu na ostala vina bili su *trans*-fertarna, *cis*-kutarna, siringinska i *trans*-kutarna kiselina (plavi kvadrati vezani uz Merlot).

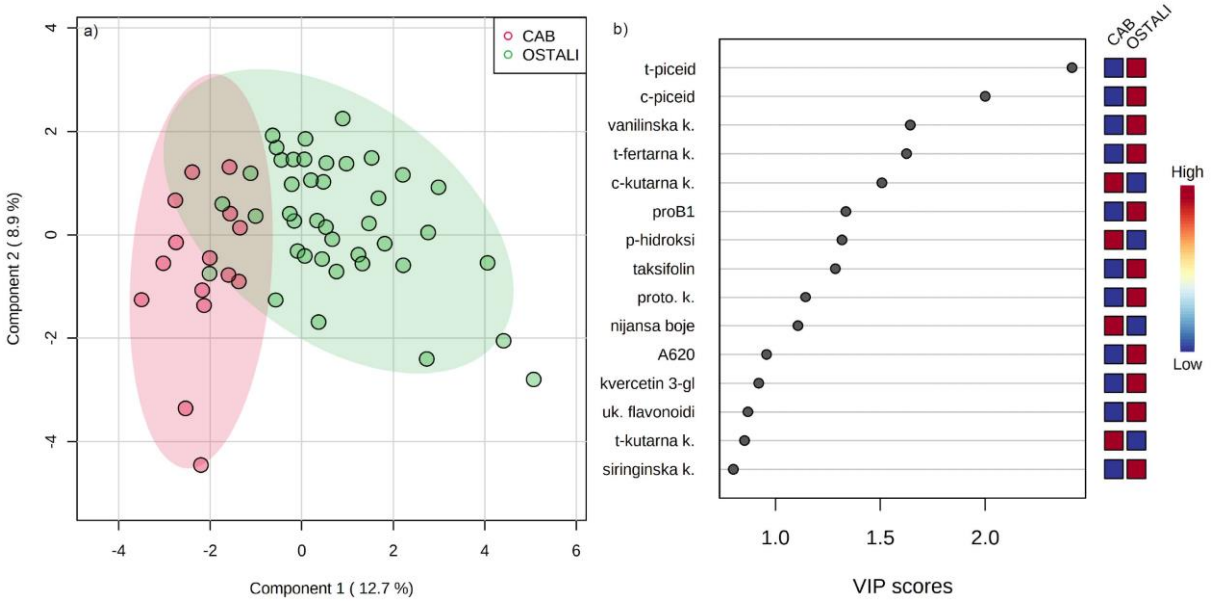
Graf 10: a) Razdvajanje vina kultivara Merlot od grupe vina ostalih kultivara (Plavac mali, Teran i Cabernet Sauvignon) iz berbe 2016. pomoću diskriminacijske analize parcijalnih najmanjih kvadrata na osnovi koncentracija fenolnih spojeva i ostalih vezanih para



Izvor: vlastiti

Na Grafu 11a prikazana je diferencijacija uzoraka vina kultivara Cabernet Sauvignon od grupe vina ostalih istraživanih kultivara. Utvrđeno je relativno dobro razdvajanje vina tog kultivara od ostalih, iako ne potpuno. Za razliku od vina drugih kultivara, u slučaju Cabernet Sauvignona kao markeri istaknuli su se fenolni spojevi koji su pronađeni u značajno nižim koncentracijama nego u vinima ostalih kultivara (plavi kvadrati uz Cabernet Sauvignon), kao što su oba izomera piceida, vanilinska i *trans*-fertarna kiselina, procijanidin B1, taksifolin te drugi, manje značajni markeri za diferencijaciju (Graf 11b). Od markera pronađenih u višim koncentracijama u vinu kultivara Cabernet Sauvignon (crveni kvadrati) vrijedi istaknuti *cis*-kutarnu i *p*-hidroksibenzojevu kiselinu.

Graf 11: a) Razdvajanje vina kultivara Cabernet Sauvignon od grupe vina ostalih kultivara (Plavac mali, Teran i Merlot) iz berbe 2016. pomoću diskriminacijske analize parcijalnih najmanjih kvadrata na osnovi koncentracija fenolnih spojeva i ostalih vezanih para



Izvor: vlastiti

5. ZAKLJUČAK

- Fenolni sastav grožđa i vina široko je područje istraživanja, nedovoljno istraživano posebno u slučaju vina (hrvatskih) autohtonih kultivara. Fenoli su spojevi odgovorni za senzorska svojstva vina, a njihov sastav može sadržavati i informacije koje mogu pridonijeti identifikaciji kultivara upotrijebljenih u proizvodnji, određivanju geografskog podrijetla, načina vinifikacije i sl.
- Koncentracije određenih pojedinačnih fenola, pojedinih grupa fenola i ukupnih fenola te vrijednosti određenih drugih svojstava vezanih uz fenole (boja i senzorska svojstva) pokazali su se karakterističnim za vina određenih kultivara te su bili korisni za njihovu karakterizaciju i međusobno razlikovanje, odnosno diferencijaciju. Povezanost koncentracija pojedinih i grupa fenolnih spojeva s određenim senzorskim svojstvima istraživanih vina dodatno je potvrdila određene manje ili više poznate karakteristike vina pojedinih kultivara.
- Vino Plavca malog isticalo se višim koncentracijama taksifolina, procijanidina B1, kvercetin-3-O-glukozid + kvercetin-3-O-glukuronida, ukupnih flavonoida te ukupnih fenola. Općenito visok sadržaj fenola najvjerojatnije je bio razlog višim intenzitetima gorčine i posebno astringencije zamijećenim tijekom senzorske analize u vinu Plavca malog u odnosu na ostala vina. S druge strane, niže koncentracije antocijana također su se potvrdile karakterističnim za vino ovog kultivara, što je bilo popraćeno nižim intenzitetima obojenja izmjerenim i kemijskom i senzorskom analizom. Osim po sastavu fenolnih spojeva, vino kultivara Plavac mali razlikovalo se od ostalih i na osnovi više alkoholne jakosti i ukupnog suhog ekstrakta, niže koncentracije ukupnih kiselina te više pH vrijednosti. Rezultati ovog rada potvrdili su općeprihvaćeno stručno i javno mišljenje o izraženijoj fenolnoj komponenti i ekstraktivnosti te nešto nižoj kiselosti i manjem intenzitetu boje vina Plavca malog u odnosu na vina nekih drugih kultivara. Moguće je da je osim samog kultivara na razvoj specifičnog fenolnog sastava grožđa i vina Plavca malog utjecala i toplija klima u Dalmaciji.
- Za vino kultivara Teran najviše su se pokazale karakterističnim više koncentracije posebno *trans*-piceida a zatim i *cis*-piceida te niža koncentracija taksifolina i

protokatehinske kiseline. Osim po sastavu fenolnih spojeva, vino kultivara Teran razlikovalo se od ostalih i na osnovi više koncentracije ukupnih kiselina, što je potvrđeno i senzornom analizom. Jači intenzitet rubin crvene boje s ljubičastim odsjajem potvrdio se kao karakteristika vina Terana što se podudaralo s većim sadržajem antocijana u tom vinu. Rezultati ovog rada potvrdili su da Teran pripada skupini vina s izraženijim obojenjem, što su potkrijepili i rezultati kemijske i senzorske analize.

- Ovo je istraživanje također pokazalo kako su vina autohtonih kultivara Plavac mali i Teran skloniji „rubnim“ rezultatima s najnižim ili najvišim vrijednostima u odnosu na Cabernet Sauvignon i Merlot. Veće i specifične razlike primijećene su između Terana i Plavca malog gdje je vino kultivara Teran ocijenjeno svježijim, s višom razinom kiselina i nižom pH vrijednosti, a s manje ukupnih flavonoida i fenola te manjim osjetom gorčine i astringencije, a vino kultivara Plavac mali upravo suprotno.
- Vino kultivara Merlot bilo je karakteristično po visokoj koncentraciji protokatehinske kiseline te je sadržavalo nešto niže koncentracije *trans*-fertarne, *cis*-kutarne, siringinske i *trans*-kutarne kiseline. Vino kultivara Cabernet Sauvignon ponajviše se razlikovalo od ostalih na osnovi najviše koncentracije *cis*-kutarne kiseline i najnižih koncentracija oba izomera piceida i vanilinske kiseline te niskih koncentracija *trans*-fertarne kiseline, procijanidina B1 i taksifolina.
- Fiziološke razlike između kožice bobica grožđa kultivara Merlot i Cabernet Sauvignon gdje je boja kožice Merlota redovito nižeg intenziteta obojenja nisu potkrijepljene rezultatima ovog istraživanja.
- Rezultati o fenolnom sastavu i vezanim svojstvima dobiveni u ovom radu mogli bi biti upotrijebljeni za usmjeravanje postupaka u proizvodnji za bolje isticanje pozitivnih tipičnih karakteristika vina istraživanih kultivara i poboljšanje njihove kvalitete. Također, bolje poznavanje tipičnih karakteristika autohtonih hrvatskih kultivara može se upotrijebiti i u marketinške svrhe i za njihovo bolje pozicioniranje na tržištu.

POPIS LITERATURE

Knjige

1. Andersen O. M., Markham K. R., Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications, CRC Press Taylor and Francis Group, 2006.
2. Clarke, Oz, Encyclopedia of Grapes, Harcourt Books, UK, 2001
3. Iland J., Dry P., Proffitt T., Tyerman S., The grapevine from the sciece to the practice of growing vines for wine,, UK, 2011.
4. Jackson, R. S., Wine Science, Principles, Practice, Academic Press, San Diego, California, SAD, 2000.
5. Margalit, Y., Winery technology & operations, A handbook for Small Wineries, San Francisco, SAD, 2005.
6. Maletić, E., Pejić, I., Karoglan Kontić J., Plavac mali – Hrvatska sorta za velika vina, Grozd Plavac mali d.o.o., 2009.
7. Mirošebić, N., Vinogradarstvo, Nakladni zavod Globus, Zagreb, 2008,
8. Mirošević, N., Turković Z., Ampelografski atlas, Golden marketing, Tehnička knjiga, Zagreb, 2003.
9. Mršćić, A., Utjecaj ektomikorize na mehanički i kemijski sastav grožđa cv. Cabernet Sauvignon (Vitis vinifera L.), Diplomski rad, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatsk, 2016.
10. OIV, Compendium of international methods of wine and must analysis, Volume 1. OIV - International Organisation of Vine and Wine, Paris, 2019.
11. OIV, World Vitiviniculture Situation, OIV Statistical Report on World Vitiviniculture, Paris, 2015.

Časopisi

12. Di Stefano, R., Cravero, M. C., Gentilini, N., Methods for the study of wine polyphenols. L'Enotecnico 5: 83 - 89, 1989.

13. Garrido J., Borges F., Wine and grape polyphenols – A chemical perspective, Food Research International 54: 1844 - 1858, 2013.
14. Gómez Gallego, M. A. et al., Polyphenolic composition of Spanish red wines made from Spanish *Vitis vinifera* L. red grape varieties in danger of extinction, European Food Research and Technology, 236: 647 – 658, 2013.
15. ISO 3591:1977, Sensory analysis - Apparatus - Wine-tasting glass.
16. Lukić, I. et al., Targeted UPLC-QqQ-MS/MS profiling of phenolic compounds for differentiation of monovarietal wines and corroboration of particular varietal typicity concepts, Food Chemistry 300, 2019.
17. Pati, S. et al., HPLC-DAD–MS/MS characterization of phenolic compounds in white wine stored without added sulfite, Food Res. Int. 66: 207–215, 2014.
18. Perez – Trujillo J. P. et al., Characteristic Phenolic Composition of Single-Cultivar Red Wines of the Canary Islands (Spain), Journal of agricultural and food chemistry 59: 6150 – 6164, 2011.
19. Robinson, J. et al., The Oxford Companinon to Wine 3: 119 – 121, Oxford University Press, 2006.
20. Robinskon, J. et al., Wine grapes – A complete guide to 1 368 vine varieties, including their origins and flavours, Alle Lane, UK, 2012.
21. Singleton, V. L., Rossi, J. A., Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. Am. J. Enol. Vitic. 16: 144 – 158, 1965.
22. Villano, C. et al., Wine varietal authentication based on phenolics, volatiles and DNA markers: State of the art, perspectives and drawbacks, Food Control 80: 1 – 10, 2017.
23. Xia, J.G. et al., MetaboAnalyst 3.0-making metabolomics more meaningful. Nucleic Acids Research, 43: W251 - W257, 2015.

Web stranice

24. http://www.vinistra.com/Stranica.aspx?sid=52
25. http://vinacroatia.hr/hrvatska-vina/sorte/plavac-mali/
26. http://vinopedia.hr/

27. http://www.istrapedia.hr/hr/natuknice/1163/teran

Ostalo

28. Božiković Š., Utjecaj maceracije na sastav polifenola vina Plavac mali i Babić, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb, 2016.
29. DZS Priopćenje, Bazno istraživanje o strukturi vinograda u 2015., Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske, Zagreb, 2016.

POPIS TABLICA

Tablica 1: Struktura i kemijska formula hidroksibenzojevih kiselina 4

Tablica 2: Struktura i kemijska formula hidroksicimetnih kiselina 5

Tablica 3: Struktura antocijanidina u grožđu 10

Tablica 4: Program eluiranja u metodi na osnovi tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti primijenjene za analizu fenolnih spojeva 24

Tablica 5: Popis kemijskih standarda (s pripadajućim CAS brojem, čistoćom i proizvođačem) korištenih za kvantitativno određivanje fenolnih spojeva u uzorcima vina 25

Tablica 6: Rezultati fizikalno - kemijske analize vina kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 27

Tablica 7: Koncentracija hidroksibenzojevih kiselina (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 28

Tablica 8: Koncentracija hidroksicimtnih kiselina (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 30

Tablica 9: Koncentracija stilbena (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 32

Tablica 10: Koncentracija flavan-3-ola (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 34

Tablica 11: Koncentracija flavonola (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 35

Tablica 12: Koncentracija flavanonola (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 36

Tablica 13: Koncentracija ukupnih flavonoida (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 37

Tablica 14: Koncentracija ukupnih antocijana (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 38

Tablica 15: Absorbancija na 420, 520 i 620 nm te intenzitet i nijansa boje vina kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 38

Tablica 16: Koncentracija ukupnih fenola (mg/L ekvivalenata galne kiseline) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 39

Tablica 17: Senzorna analiza boje i odsjaja u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 41

Tablica 18: Intenziteti parametara boje i odsjaja dobiveni deskriptivnom senzorskom analizom vina kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 43

POPIS GRAFOVA

Graf 1: Distribucija fenolnih spojeva unutar bobice grožđa kod bijelih (A) i crnih (B) sorata grožđa 14

Graf 2: Koncentracija ukupnih hidroksibenzojevih kiselina (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 29

Graf 3: Koncentracija ukupnih hidroksicimetnih kiselina (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 31

Graf 4: Koncentracija ukupnih stilbena (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 33

Graf 5: Koncentracija ukupnih flavan-3-ola (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 34

Graf 6: Koncentracija ukupnih flavonola (mg/L) u vinima kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 36

Graf 7: Senzorska analiza vina kultivara Plavac mali, Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon iz berbe 2016. 40

Graf 8: a) Razdvajanje vina kultivara Plavac mali od grupe vina ostalih kultivara (Teran, Merlot i Cabernet Sauvignon) iz berbe 2016. pomoću diskriminacijske analize parcijalnih najmanjih kvadrata na osnovi koncentracija fenolnih spojeva i ostalih vezanih para 44

Graf 9: a) Razdvajanje vina kultivara Teran od grupe vina ostalih kultivara (Plavac mali, Merlot i Cabernet Sauvignon) iz berbe 2016. pomoću diskriminacijske analize parcijalnih najmanjih kvadrata na osnovi koncentracija fenolnih spojeva i ostalih vezanih para 45

Graf 10: a) Razdvajanje vina kultivara Merlot od grupe vina ostalih kultivara (Plavac mali, Teran i Cabernet Sauvignon) iz berbe 2016. pomoću diskriminacijske analize parcijalnih najmanjih kvadrata na osnovi koncentracija fenolnih spojeva i ostalih vezanih para 46

Graf 11: a) Razdvajanje vina kultivara Cabernet Sauvignon od grupe vina ostalih kultivara (Plavac mali, Teran i Merlot) iz berbe 2016. pomoću diskriminacijske analize parcijalnih najmanjih kvadrata na osnovi koncentracija fenolnih spojeva i ostalih vezanih para 47

POPIS SLIKA

Slika 1: Primjer osnovne strukture neflavanoida - hidroksibenzojeve kiseline 3

Slika 2: Struktura *trans*-resveratrola 6

Slika 3: Struktura *cis*-resveratrola 6

Slika 4: Osnovna struktura flavonoida sa A, B i C prstenima 7
Slika 5: Struktura malvidina, aglikona 8
Slika 6: Struktura malvidin-2-glukozida 9
Slika 7: Kvercetin-3-O-glukozid 11
Slika 9: Plavac mali 16
Slika 8: Teran 17
Slika 10: Cabernet Sauvignon 19
Slika 11: Grozd Merlota sa sugrozdićem 20
Slika 12: Merlot 21