Utjecaj dodatka modificiranih škrobova i skladištenja na polifenolne i aromatične spojeve u kremi od vina

Liška, Matea

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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:109:937926

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

Matea Liška

UTJECAJ DODATKA MODIFICIRANIH ŠKROBOVA I SKLADIŠTENJA NA POLIFENOLNE I AROMATIČNE SPOJEVE U KREMI OD VINA

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2019.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Juraja 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 IX. redovnoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2018/2019. održanoj 27. lipnja 2019.
Mentor: izv. prof. dr. sc. Anita Pichler
Pomoć pri izradi: Ivana Ivić, mag. ing., asistent

Utjecaj dodatka modificiranih škrobova i skladištenja na polifenolne i aromatične spojeve u kremi od vina

Matea Liška

Crno vino predstavlja bogat izvor polifenola te se smatra da njegova umjerena konzumacija ima povoljne učinke na ljudsko zdravlje. Iako se vino najčešće konzumira kao piće (svježe ili kuhano), vrlo često se koristi kao dodatak jelima. Visoka temperatura tijekom kuhanja može uzrokovati degradaciju tvari boje i arome u vinu. Iz tog razloga, cilj ovog rada je bio ispitati utjecaj dodatka modificiranih škrobova tijekom kuhanja vina i priprave vinske kreme te tijekom njihovog skladištenja na polifenolne spojeve i aromu vina. Za pripravu kreme od vina korišteni su modificirani škrobovi voštanog kukurza, tapioke i krumpira. Crno vino, Cabernet Sauvignon, kuhano je bez dodatka te s dodatkom pojedinog modificiranog škroba (5%), 10 minuta na 80 °C. Polifenoli, antocijani te antioksidacijska aktivnost određene su spektrofotometrijski, a tvari arome analizirane su na plinskom kromatografu s masenim detektorom. Dobiveni rezultati pokazali su da dodatak modificiranih škrobova utječe na zadržavanje spojeva arome i boje tijekom kuhanja i skladištenja kreme od vina. Kod zadržavanje tvari boje sva tri dodatka su se pokazala podjednako učinkovita, dok se kod zadržavanje tvari arome nešto bolji pokazao modificirani škrob tapioke, posebice što se tiče estera i viših alkohola.

Ključne riječi: krema od vina, modificirani škrob, polifenoli, tvari arome

Rad sadrži:	49 stranica 17 slika 2 tablice 41 literaturne reference
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: 26. rujna 2019.

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

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

Graduate program: Food Engineering
Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Wine technology
Thesis subject was approved by the Faculty Council of the Faculty od Food Technology Osijek at its regular session no. IX. held od June 27th, 2019.
Mentor: Anita Pichler, PhD, associate prof.
Technical assistance: Ivana Ivić, Master of Science

The influence of addition of modified starches and storage on polyphenolic and aroma compounds in wine cream filling

Matea Liška

Red wine is a rich source of polyphenols and its moderate consumption is considered to have beneficial effects on human health. Although wine is most commonly consumed as a drink (fresh or cooked), it is often used as a cooking supplement. High temperature during cooking can cause degradation of the colour and aroma compounds in wine. Therefore, the aim of this paper was to examine the effect of the addition of modified starches during wine cooking and wine cream filling preparation and during their storage on polyphenolic compounds and wine aroma. For wine cream fillling preparation modified starches of waxy maize, tapioca and potatoe were used. Red wine, Cabernet Sauvignon, was cooked without and with the addition of each modified starch (5%), for 10 minutes at 80 °C. Polyphenols, anthocyanins and antioxidant activity were determined spectrophotometrically and the aroma compounds were analyzed on a gas chromatograph with a mass detector. The results showed that the addition of modified starches affects the retention of aroma and colour compounds during cooking and storage of wine cream filling. All three additives proved to be equally effective for colour compounds retention, while the modified starch tapioca showed slightly better results at aroma retention, especially at retention of esters and higher alcohols.

Keywords: wine cream filling, modified starch, polyphenols, aroma compounds

Thesis contains:	49 pages 17 figures 2 tables 41 references
Original in:	Croatian

Defense committee:

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

Defense date: September 26, 2019

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

Veliko hvala mojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Aniti Pichler i asistentici mag. ing. asistent Ivani Ivić na uloženom trudu, strpljenju i pomoći tijekom izrade diplomskog rada. Bolju metoricu i asistenticu nisam mogla imati, i zato se osjećam iznimno sretno.
Također zahvaljujem svojoj obitelji koja mi je bila velika podrška tijekom čitavog obrazovanja i bodrila me u teškim trenutcima i veselila se sa mnom u onim lijepim.
I za kraj, zahvaljujem svojim prijateljima koji su uvijek bili tu za mene i učinili mi studiranje nezaboravnim iskustvom koje ću pamtiti zauvijek.

Sadržaj

1. UVOD 1

2. TEORIJSKI DIO 3

2.1. GROŽĐE 4
Podrijetlo i botanička svojstva vinove loze 4
Mehanički i kemijski sastav grozda 5

2.2. VINO 7
Definicija i podjela vina 7
Sorte grožđa za proizvodnju vina 8

2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA 10
Alkoholi. 10
Ugljikohidrati 11
Kiseline. 12
Aldehidi i ketoni 12
Esteri 12
Tvari arome 13
Enzimi 13
Fenolni spojevi 14
Mineralne tvari - pepeo 14
Ekstrakt vina 15
Dušične tvari 15
Koloidi vina 15
Proteini. 16

2.4. PROIZVODNJA CRNIH VINA 16
Muljanje i runjanje 17
Sumporenje masulja 17
Alkoholna fermentacija i maceracija 18
Odvajanje mošta od taloga ocijeđivanjem I prešanje masulja 18
Malolaktična fermentacija 18

2.5. ŠKROB 19
Amiloza 19

Amilopektin 20
Želatinizacija i retrogradacija škroba 21
Modifikacija škroba 22
2.6. ODREĐIVANJE SASTOJAKA AROME PLINSKOM KROMATOGRAFIJOM 23
Plinska kromatografija (GC) 23
Plin nositelj 24
Injektor. 25
Kromatografske kolone 25
Detektori 25
Spektrofotometrijska masa 26
SPME analiza 26
3. EKSPERIMENTALNI DIO 27
3.1. ZADATAK 28
3.2. MATERIJAL I METODE 28
Priprema kreme od vina 28
Određivanje sadržaja polifenolnih spojeva 29
Određivanje antocijana 29
Određivanje antioksidacijske aktivnosti 30
Analiza arome kreme od vina plinskom kromatografijom primjenom SPME analize 31
4. REZULTATI 33
5. RASPRAVA 40
6. ZAKLJUČCI 44
7. LITERATURA 46

Popis oznaka, kratica i simbola

SPME	Solid Phase Microextraction (mikroekstrakcija na čvrstoj fazi)
GC	Plinska kromatografija
GC/MS	Plinska kromatografija sa maseno-selektivnim detektorom
WMMS	Modificirani škrob voštanog kukuruza
TMS	Modificirani škrob tapioke
PMS	Modificiranin škrob krumpira

1. UVOD

Vinova loza jedna je od najstarijih kultiviranih biljnih vrsta koja pripada porodici Ampelideae. Vino se definira kao poljoprivredno prehrambeni proizvod, dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta, od svježeg i za preradu u vino pogodnog grožđa. Proizvodnja vina postoji od prije 6000 godina i danas je razvijena na svim kontinentima. Na kemijski sastav vina utječu razni čimbenici, od sorte i klimatskih uvjeta uzgoja grožđa do same proizvodnje i skladištenja (Soleas i sur., 1997). Proizvodnja bijelih vina razlikuje se u redoslijedu određenih operacija od proizvodnje crnih vina. Osnovna razlika proizvodnje je u procesu vrenja. Kod crnih vina provodi se vrenje masulja, dok se kod bijelih vina provodi vrenje mošta. Vrenje i maceracija masulja su dijelovi procesa proizvodnje crnih vina u kojima se mošt obogaćuje tvarima arome i polifenolnim spojevima. Proizvedeno vino potrebno je ispravno skladištiti jer, iako ne dolazi do velikih promjena kemijskog sastava vina, skladištenje ima utjecaj na tvari arome i boje. Upravo zbog ovih senzorskih svojstava je vrlo važno pratiti promjene parametara i vino skladištiti pravilno.

Škrob se danas široko koristi u proizvodnji hrane i u drugim industrijama kao ugušćivač, stabilizator koloidnih sustava, sredstvo za želiranje, vezanje arome i slično. Ipak nativni škrobovi imaju ograničenu primjenu u industriji radi nestabilnosti te se danas najčešće koriste modificirani škrobovi.

Predmet istraživanja u ovom radu bila je krema od vina, a zadatak je bio ispitati utjecaj dodatka modificiranih škrobova na aromatične i fenolne spojeve u kremi od vina te međusobna usporedba rezultata dobivenih prije i nakon skladištenja.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. GROŽĐE

Podrijetlo i botanička svojstva vinove loze

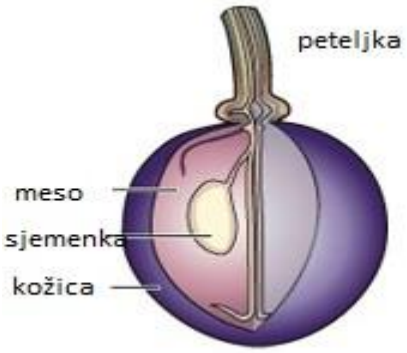
Vinova loza (*Vitis vinifera*) se smatra jednom od najstarijih biljnih kultura koja pripada porodici *Ampelideae.* Rod *Vitis* obuhvaća nekoliko desetaka vrsta. Većina vrsta pripada Sjevernoj Americi, dok se ostale vežu za istočnu Aziju. Predak vinove loze (*Vitis sylvestris*) divlja je euroazijska loza koja još uvijek postoji. *Vitis vinifera* jedini je prestavnik roda *Vitis* na području zapadne Azije i Europe, odakle joj i naziv euroazijska loza. Jedino pripadnici ove vrste mogu se nazivati vinova loza.

Prema foslinim otiscima listova, vinova loza se pojavila u vrijeme krede, no sa sigurnošću u tercijaru. Pošto se otisci listova kao dokazi lako mogu zamijeniti s nekim drugim vrstama i kao takvi nisu relevantni, kao pouzdaniji dokaz uzimaju se ostaci sjemenki. Prema njima je vidljivo da je do kraja tercijara vinova loza bila vrlo rasprostranjena na sjevernoj hemisferi. Na području mediterana kao dio vegetacije šuma rasla je *Vitis sylvestris* koja je služila kao hrana našim predcima (Maletić i sur., 2008.).

Vinova loza je poviješa vitkog stabla koja pri razvoju i rastu traži potporanj uz koji se oslanja i penje. Porodica *Ampelideae* ili *Vitacae* sadrži 10 rodova od kojih je rod *Vitis* najvažniji za znanost i vinogradarsku proizvodnju. Rod *Vitis* ima dva podroda *Muscadinia* i *Euvitis*. Podrod *Muscadinia* sadrži vrste *Vitis rotundifolia* i *Vitis munsoniana*, a podrod *Euvitis* ima 30 američkih, 40 azijskih vrsta i jednu euroazijsku vrstu (*Vitis vinifera*). Euroazijska vrsta *Vitis vinifera* dijeli se na *Vitis vinifera var. silvestris* (europska divlja loza) i *Vitis vinifera var. sativa* (europska kulturna loza). Američke vrste služe kao podloge za europske vinske loze. Najvažniji pripadnici tih vrsta su *Vitis riparia*, *Vitis rupestris* i *Vitis berlandieri*, a od ostalih su još tu i *Vitis aestivalis*, *Vitis solonis* i *Vitis cinerea*. Hibridne vrste vinove loze stvorenje su tijekom godina slobodnom oplodnjom loza i u laboratorijskim uvjetima cijepljenjem različitih sorti. One su otpornije na vremenske uvjete i bolesti kao što su peronospora, filoksera te pepelnica. Dijele se na američko-američke hibride, europsko-američke hibride i kompleksne hibride (Zoričić, 1996.).

Mehanički i kemijski sastav grozda

Pod mehaničkim sastavom grozda smatramo udjel pojedinih dijelova grozda (peteljke, sjemenke, potkožice i grožđani sok). Grozd je sastavljen od peteljkovine i grožđa koje čini osnovnu strukturu grozda. Grožđe se sastoji od peteljke, peteljčice i bobice. Bobicu čini sjemenka, meso i kožica (Paunović i Daničič, 1976.).



Slika 1 Osnovna struktura grožđa (Web 1)

Peteljkovina

Peteljkovina se sastoji od peteljke i peteljčica i značajno utječe na kakvoću vina. Njen udio u grozdu kreće se između 2-5%. Peteljkovina po kemijskom sastavu obiluje polifenolima te ukoliko se ne ukloni tijekom proizvodnje vina, ono će imati i do 25% više polifenola u odnosu na vino dobiveno preradom masulja bez peteljkovine. Osim toga, vino u čijoj prozvodnji nije uklonjena zelena peteljkovina ima gorak okus (Zorčić, 1996.).

Peteljka predstavlja skelet grozda. Na peteljci se nalaze peteljčice koje nose bobice. Vrlo je značajna jer pomoću nje se provode hranjive tvari iz lista i mladice u bobice. Udio peteljke ovisi o sorti i može utjecati na randman mošta i vina. Kod vinskih sorti udio peteljke se kreće od 2 do 8% ,a kod stolnih sorti je on nešto niži i iznosi oko 1,5% (Paunović i Daničić, 1976.). Osim polifenola, sadrži mineralne tvari (kalij), malu količinu šećera i tanine od kojih su najznačajniji prestavnici procijanidini odgovorni za gorčinu vina. Tijekom prerade grožđa treba pažljivo postupati s peteljkama te ih što manje oštetiti jer će u protivnom vina poprimiti gorki, zeleni i opori okus (Sokolić, 1976.).

Bobica

Bobica zauzima od 92 do 97% grozda te je naznačajniji dio grozda koji ujedno obavlja i fotosintezu. Zelena boja bobica se tijekom prelaska u stadij pune zrelosti mijenja u zeleno žutu, crvenkastu ili tamno crvenu boju te bobica dostiže najveću vrijednost težine. Osim različite boje, bobice ovisno o sorti imaju i različitu veličinu, oblik, rastresitost ili zbijenost, krupnoću itd.

Po kemijskom sastavu bobica sadrži vodu (75 do 80%), šećere (18 do 25%), organske kiseline (0,5%), mineralne tvari (0,3 do 1%) i celulozu 0,6% (Zoričić, 1996.). Bobicu čini kožica, meso bobice sa grožđanim sokom i sjemenke.

Kožica bobice ima od šest do deset slojeva. Tijekom rasta bobice, kožica zbog svoje elastičnosti povećava volumen. Voštani sloj koji se nalazi na njenoj površini sadrži oleinsku kiselinu, aldehide i estere masne kiseline. Uloga mu je zaštita unutrašnjosti bobice od prodiranja vode i evaporacije. Kada je u fazi pune zrelosti postotak kožice iznosi 8 do 11% od ukupne težine bobice. Također, kožica obiluje žutim i crvenim pigmentima koji se stvaraju tijekom zrenja bobica, dok se ksantofil, klorofil i karotenoidi tijekom zrenja gube (Paunović i Daničić, 1976.).

Meso bobice se sastoji od velikih stanica ispunjenih grožđanim sokom, to jest moštom. Predstavlja glavni dio bobice i čini 75 do 85% ukupne težine bobice. Po strukturi i sastavu dijeli se na središnju, perifernu i međuzonu. Prema kemijskom sastavu sadrži vodu (75 do 80%), šećer (18 do 25%), mineralne tvari (0,3 do 1%), organske kiseline (0,5%) i celulozu (0,6%) (Zoričić, 1996.).

U mesu bobice nalaze se sjemenke koje sadrže masnu jezgru okruženu drvenom ljuskom. Broj sjemenki u bobici varira od 2 do 7, a optimalan broj sjemenki u bobici je 4. Postoje sorte koje nemaju sjemenke te se kao takve upotrebljavaju za sušenje. Sjemenka prema kemijskom sastavu sadrži najviše vode (25 do 50%), ugljikohidrata (30 do 35%), ulja (12 do 20%), mineralne tvari (2 do 5%) i tanine (3 do 6%). Upravo zbog tanina, tijekom prerade grožđa potrebno je obratiti pozornost na zaštitu sjemenki od oštećenja jer će se u protivnom dobiti gorka i opora vina (Zoričić, 1996.).

2.2. VINO

Definicija i podjela vina

Vino se prema Zakonu o vinu (NN 32/19) definira kao poljoprivredno prehrambeni proizvod, dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta, od svježeg i za preradu u vino pogodnog grožđa.

Masulj prema Pravilniku o proizvodnji vina (NN 2/2005) predstavlja zgnječeno grožđe s peteljkom ili bez nje, dok je mošt tekući proizvod koji je proizveden odgovarajućim postupcima tiješnjenja i ocjeđivanja cijelog grožđa ili masulja i sadrži minimalnu količinu šećera od 64 °Oe (133 g/L šećera).

Kvaliteta i organoleptička svojstva vina ovise o kvascima s kojima se provodi fermentacija, procesu fermentacije, skladištenju vina kao i o karakteristikama grožđa kao sirovine za proizvodnju vina (Lytra i sur., 2013.).

Osnovna podjela vina:

- vina u užem smislu riječi : mirna, pjenušava, biser i gazirana vina
- specijalna vina : desertna, aromatizirana i likerska.

Prema boji vina se dijele na:

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

Prema sadržaju neprevrelog šećera vina dijelimo na :

- mirna vina : suha, polusuha, poluslatka i slatka
- pjenušava, biser i gazirana vina : vrlo suha, suha, polusuha, poluslatka i slatka (Zakon o vinu, NN 32/19).

Podjela vina prema razlici u kakvoći vina :

- stolna vina
- stolna vina s oznakom kontroliranog podrijetla,
- kvalitetna vina s oznakom kontroliranog podrijetla,
- vrhunska vina oznakom kontroliranog podrijetla,
- predikatna vina,
- arhivska vina
- specijalna vina
- pjenušava vina.

Postoje i daljne podjele vina kao što su podjela prema organoleptičkim svojstvima, prirodu po hektaru, njezi, stupnju zrelosti grožđa, randmanu, količini prirodnog alkohola i ostalih sastojaka (Zakon o vinu, NN 32/19).

Sorte grožđa za proizvodnju vina

Vinske sorte:

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

Podjela vinskij sorti:

- preporučene sorte
- dopuštene sorte
- privremeno dopuštene sorte.

Najvažnije vinske sorte u Republici Hrvatskoj:

- KONTINENTALNA HRVATSKA

Bijela vina:

- Graševina bijela
- Rizling rajnski bijeli
- Chardonnay bijeli
- Traminac mirisavi
- Traminac crveni
- Pinot bijeli
- Sauvignon bijeli
- Plemenka bijela

Crna vina:

- Frankovka crna
- Cabernet Sauvignon crni
- Portugizac crni
- Pinot crni
- Zweigelt
- Merlot crni

- PRIMORSKA HRVATSKA

Bijela vina:

- Malvazija istarska bijela
- Pošip bijeli
- Grk bijeli

- Maraština bijela
- Žilavka bijela
- Kujunđuša bijela

Crna vina:

- Plavac mali
- Babić crni
- Merlot crni
- Teran crni
- Cabernet sauvignon crni
- Plavina crna
- Crljenak (Maletić i sur.,2008.).

2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA

Alkoholi

U vinu se nalazi velik broj različitih alkohola. Oni se dijele na alifatske i aromatske alkohole. Prema Pravilniku o vinu (1996.) najmanje dopušteni udio alkohola iznosi 8,5% vol. kod stolnih vina, a najviši 15% vol. kod kvalitetnih i vrhunskih vina, osim ako za pojedino vino nije drugačije odlučeno rješenjem za označavanje vina s oznakom kontroliranog podrijetla.

Metanol i etanol su glavni predstavnici alifatskih alkohola u vinu. Etanol (CH_3CH_2OH) je nakon vode najzastupljeniji sastojak vina koji znatno utječe na kakvoću istog. Nastaje kao glavni produkt tijekom alkoholne fermentacije prirodnih šećera iz grožđa, iako može nastati i iz saharoze ukoliko je dodana u mošt. Upravo o udjelu šećera u grožđu i moštu ovisi koliko će etanola nastati. U vinu je njegov sadržaj između 10% i 12% (Vrdoljak, 2009.).

Metanol (CH_3OH) se u vinu javlja kao nusprodukt nastao hidrolizom pektinskih tvari. Crna vina sadržavaju veću količinu metanola od bijelih zbog različitog načina proizvodnje. Hibridne sorte

i sorte grožđa bogate pektinom dat će vina koja imaju veći sadržaj mentanola. Oksidacijom prelazi u toksične produkte formaldehid i mravlju kiselinu (Vrdoljak, 2009.).

Viši alkoholi nastaju tijekom alkoholne fermentacije iz ugljikohidrata i aminokiselina. Najzastupljeniji su izoamilni, amilni i izobutilni alkoholi, a od aromatskih alkohola je to fenil-etanol koji ima utjecaj na bouqet vina. U vinima su zastupljeni u vrlo malim količinama (150-550 mg/l). Njihova koncentrancija ovisi o uvjetima prerade, kvascima i sorti grožđa. Zajedno sa kiselinama daju estere koji poboljšavaju aromu vina.

Glicerol kao najznačajniji predstavnik trovalentnih alkohola nastaje alkoholnom fermentacijom, te je nakon etanola drugi najzastupljeniji alkohol. Utječe na viskoznost, slatkoću i harmoničnost vina. Grožđa koja su napadnuta plemenitom plijesni daju vina koja sadrže veliku količinu glicerola (Ribereau-Gayon i sur., 2006.).

Ugljikohidrati

Ugljikohidrati su organski spojevi nastali fotosintezom u zelenim dijelovima vinove loze. Osnovni su sastojak grožđa, a opća formula im je $C_m(H_2O)_n$ (Čobanov, 2016.). U vinu se kod visokokvalitetnih sorti udio šećera kreće od 22 do 28% šećera, a kod kvalitetnih sorti od 18 do 22% (Vuković, 2000.).

Dijele se na: monosaharide, disaharide i polisaharide (Stričević i Sever, 2001.).

Glukoza i fruktoza su najzastupljeniji monosaharidi. Bobica na početku zrenja sadrži veću količinu glukoze u odnosu na fruktozu. Zrenjem bobica dolazi do porasta udjela fruktoze u odnosu na glukozu, te se konačno u stupnju tehnološke zrelosti taj odnos gotovo izjednačava.

Predstavnici oligosaharida u grožđu su saharoza, maltoza, laktoza, rafinoza i trehaloza od kojih samo saharoza ima bitnu ulogu u kakvoći vina. Polisaharidi kao što su škrob, pektini i glikogen svojim prisustvom u grožđu, a kasnije i u vinu otežavaju taloženje i bistrenje vina (Vrdoljak, 2009.).

Za određivanje količine ugljikohidrata u grožđu i moštu koriste se moštne vage (Oechslova i Baboova ili Klosterneuburška) i refraktometri (Horvat, 2010.).

Visokokvalitetne sorte mogu imati od 22 do 28% šećera, dok se kod kvalitetnih sorti količina šećera kreće od 18 do 22% (Vuković, 2000.).

Kiseline

Kiseline su poslije šećera najbitniji sastojak mošta. U vinu nalazimo anorganske, organske kiseline i soli različitih kiselina. Osim što su prisutne u vinu kao normalni sastojak, mogu biti i indikator kvarenja vina. Ukupna kiselost vina izražena kao vinska kiselina prema Pravilniku o proizvodnji vina (NN/2005) treba se kretati od 4 g/l do 14 g/l. Ukoliko vino ima malu koncentraciju kiseline, ono ima tupi okus.

Kiseline u vinu dijele se na ukupne kiseline (sadržaj svih kiselina u vinu koje se iskazuju kao vinska kiselina), hlapive i nehlapive kiseline. Organske kiseline prisutne u vinu mogu dolaze iz grožđa to jest mošta (vinska, jabučna, limunska, askorbinska, oksalna, glikolna, glukonska), alkoholne fermentacije (piruvična, mliječna, octena, sukcinska, oksalna i fumarna kiselina), malolaktičke fermentacije (mliječna kiselina nastala malolaktičkom fermentacijom iz jabučne kiseline) i metabolizma sive plijesni na grožđu. Organske kiseline u vinu znatno utječu na organoleptička svojstva vina (Horvat, 2010.).

Aldehidi i ketoni

Aldehidi su spojevi koji vezanjem sa sumporastom kiselinom daju lako topljive kiseline. Na taj načih ih se ujedno i inaktivira. Vrlo su značajni za organoleptička svojstva vina jer mu daju karakterističnu aromu i bouquet vina. Aldehidi ukoliko se nalaze u čistom obliku vinu daju oštar miris koji podsjeća na voće. Od ukupnih aldehida u vinu 90% čini acetaldehid koji nastaje kao međuproizvod alkoholnim vrenjem (Zoričić, 1996.).

Ketoni se u moštu i vinu nalaze u vrlo malim količinama. Većinom su to aceton, acetoin i diacetil. Imaju miris svježeg maslaca te ukoliko se nalaze u koncentraciji većoj od 1 mg/l vinu daju miris po užeglome (Vrdoljak, 2009.).

Esteri

Esteri nastaju esterifikacijom alkohola i kiselina. U vinu se za razliku od grožđa nalazi veća količinu estera. Hlapljivi esteri nastaju tijekom procesa fermentacije, dok nehlapivi nastaju

odležavanjem i starenjem vina. Kiseline koje se najviše esterificiraju su octena, jantarna i mliječna kiselina. Esteri octene kiseline koju vinu daju svježinu i ugodan miris su etil acetat, propil acetat, izopropil acetat, izobutil acetat i izoamil acetat (Vrdoljak, 2009.).

Tvari arome

Aroma vina formira se različitim kemijskim, biokemijskim i mikrobiološkim procesima te je samim time i vrlo kompleksna. Najviše aromatičnih tvari je sadržano u kožići bobice, a vrlo malo u mesu i sjemenkama grožđa. U stvaranju arome vina uključen je veliki broj hlapivih spojeva. Drugi naziv za aromu vina je bouquet.

U tvari arome se ubrajaju hlapljive karboksilne kiseline, alkoholi, esteri, aldehidi, ketoni, eterična ulja, više masne kiseline, terpeni i tvari slične smolama i voskovima.

Aroma vina se može podijeliti na:

- aromu iz grožđa (ovisi o sorti grožđa, klimatskim uvjetima i agrotehničkim mjerama uzgoja),
- aromu nastalu biokemijskim reakcijama (oksidacija, hidroliza),
- aromu nastalu tijekom alkoholne fermentacije te malolaktičke fermentacije i
- aromu nastalu tijekom dozrijevanja i starenja vina (Vrdoljak, 2009.).

Razlikujemo pimarnu, sekundarnu i tercijarnu aromu vina. Najvažniji hlapljivi spojevi primarne arome iz grožđa su monoterpeni koji grožđu daju slatkasti, cvjetni miris, a sekundarne acetatni i etilni esteri. Tercijarna aroma (bouquet) se stvara odležavanjem vina u bačvama. Tvari arome se mogu određivati instrumentalnim metodama, analitičkim metodama i senzorskim ocjenjivanjem (Vrdoljak, 2009.).

Enzimi

Enzimi su biokatalizatori u moštu i vinu koji pokreću kemijske reakcije tijekom proizvodnje, starenja i njege vina. Uglavnom sudjeluju u reakcijama oksidacije i hidrolize. Enzimi su odgovorni za razvoj sekundarne arome vina. Vino sadrži mnogo enzima, a najvažniji su saharaza, tanaza, pektaza i katalaza.

Saharaza je enzim koji cijepa saharozu na glukozu i fruktozu. Tanaza u vino dospjeva iz pijesni trulog grožđa te katalizira stvaranje taninskih tvari u vinu. Pentaza ima značajnu ulogu u bistrenju vina tako što hidrolizira pektinske tvari na metanol i poligalakturonsku kiselinu. Katalaza smanjuje na minimun toksično djelovanje vodikovog peroksida i ostalih peroksidnih spojeva tako što ubrzava oslobađanje kisika iz istih (Prce, 2014.).

Fenolni spojevi

Fenoli su organski spojevi koji se ističu svojom velikom antioksidativnom aktivnošću. Osim toga, imaju ulogu u formiranju boje, trpkosti, gorčine i ostalih organoleptičkih svojstava vina. Nalaze se u kožici, sjemenkama, peteljkama i soku grožđa. Postupkom vinifikacije ekstrahira se do 60% fenola. Zbog samog postupka proizvodnje, crna vina sadrže veće koncentracije fenolnih spojeva od bijelih vina. Koncetrancija fenola u grožđu varira ovisno klimatskim, agrotehničkim uvjetima i kultivaru. Dozrijevanjem grožđa dolazi do polimerizacije fenola čime njihov okus postaje manje trpki i mekši (Moreno i Peinado, 2012).

S obzirom na broj hidroksilnih skupina fenoli se dijele na monofenole, difenole, trifenole i polifenole. Najznačajniji fenolni spojevi u vinu su fenolne kiseline i njihovi derivati, flavonoidi, tanini i antocijani (Osrečak i sur., 2011.).

Mineralne tvari - pepeo

Mineralne tvari su anorganske tvari vina, a dobivaju se isparavanjem vode te potpunim spaljivanjem suhe tvari. Sadrže kalcijevih, kalijevih i magnezijevih soli sumporne, fosfatne i karbonatne kiseline i tragove fluora, bakra, željeza, mangana i ostalih elemenata. Također, ona vina koja imaju veću količinu mikroelemenata (Fe, Mn, Zn, Co, Ni) imaju bolju aromu i bouquet.

Većina pepela u vinu potječe sa vinove loze. Njegova količina u vinu ovisi o sorti vinove loze, kakvoći i zrelosti grožđa, sastavu tla, mikro i makroklimatskim uvjetima i tehnologiji prerade grožđa u vino. Crna vina imaju veće količine pepela jer se tijekom fermentacije masulja ekstrahiraju veće količine mineralnih tvari iz čvrstih dijelova grožđa (Vrdoljak, 2009.).

Ekstrakt vina

Ekstrakt vina sastoji se od ugljikohidrata, nehlapivih kiselina (vinska, mliječna, jabučna), mineralnih tvari, glicerola, butilena, glikola, tanina i tvari boje.

U vinu ekstrakt može biti:

- ukupni suhi ekstrakt koji predstavlja skup svih organskih i mineralnih tvari sadržanih u vinu koje nisu hlapljive pod specifičnim fizikalnim uvjetima,
- nereducirani ekstrakt bez šećera (dobije se kada se od ukupnog suhog ekstrakta oduzme sadržaj ukupnih šećera u vinu) i
- 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) (Vrdoljak, 2009.).

Njegov sadržaj u vinu ovisi o vrsti vina, sorti grožđa, tehnologiji prerade i klimatskim uvjetima. Za razliku od stolnih sorti, vrhunska i kvalitetna daju vina s više ekstrakta. Također, sunčaniji krajevi za razliku od krajeva sa manje sunčanih razoblja daju grožđe i vina sa više ekstrakta (Vrdoljak, 2009.).

Dušične tvari

Dušične tvari iako se nalaze u maloj količini u vinu utječu na aromu, boju i bistroću. Porastom njihove koncentracije u vinu dolazi do zamućenja, a u krajnjem slučaju i kvarenja vina. Najveća je količina dušičnih spojeva sadržana u peteljkovini, čvrstom dijelu grožđa, kožici i sjemenkama. Koliko će ih biti u grožđu, moštu i vinu ovisi o tlu, gnojidbi, zrelosti, zdravstvenom stanju grožđa pošto zdravije grožđe sadrži višedušičnih spojeva i o načinu prešanja (Vrdoljak, 2009.).

U vinu razlikujemo organske i anorganske dušične spojeve, a to su proteini, polipeptidi, amini, amidi, heksozamini, nukleinski dušik i biološki amini (Zoričić, 1996.).

Koloidi vina

Koloidne tvari su sluzave tvari građene od pektinskih tvari i proteina. Imaju negativan učinak na organoleptička svojstva vina jer uzrokuju zamućenja vina, povećanje viskoznosti, opalesciranja i pojave kataforeze. Dijele se na lipofilne tvari koje povećavaju kiselost vina i

liofolne koje su osjetljive na elektrolite i koaguliraju pri malim oscilacijama pH. Čestice kolidnih tvari su veličine od 1 do 100 μm (Prce, 2014.).

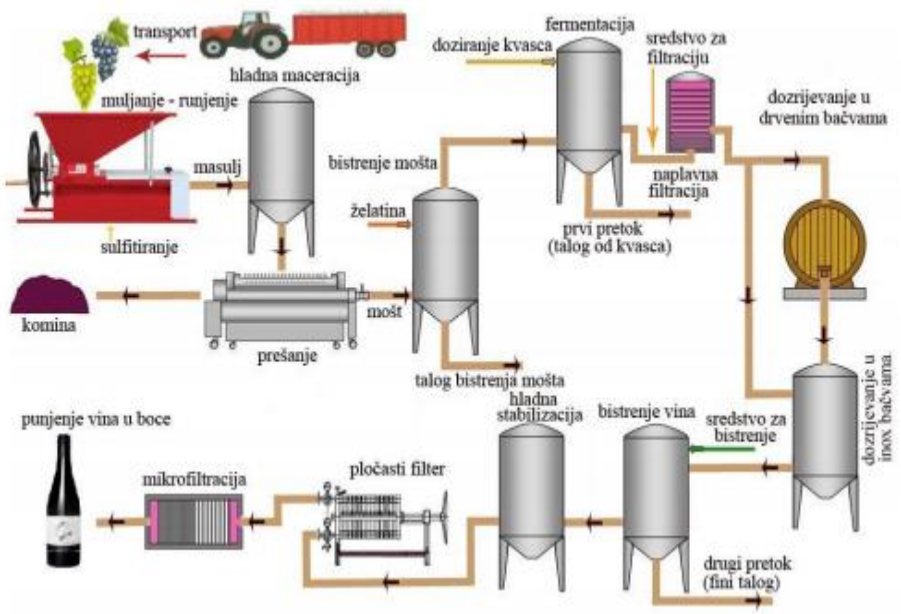
Proteini

Proteini su makromolekule građene od aminokiselina povezanih peptidnom vezom. Proteini koji se nalaze u vinu potječu iz grožđa i kvasaca. Nestabilni su spojevi koji se talože sa taninima. U vinu se ponašaju kao koloidi s pozitivnim (+) električnim nabojem, a koagulacijom postaju negativno (-) nabijene čestice. Zbog sposobnosti taloženja s taninima, ne prestavljaju problem u crnim vinima pošto ona sadrže veću količinu tanina od bijelih vina. Zato u mladim bijelim vinima u kojima se nalaze u većoj količini negativno utječu na stabilnost i vrlo sporo se talože (Vrdoljak, 2009.).

2.4. PROIZVODNJA CRNIH VINA

Proces vinifikacije crnih vina provodi se u nekoliko osnovnih faza:

- muljanje i runjanje grožđa,
- sumporenje masulja
- maceracija i alkoholna fermentacija,
- odvajanje mošta od taloga ocjeđivanjem i prešanje masulja,
- završna alkoholna i malolaktična fermentacija (Kontrec, 2017).



Slika 2 Vinifikacija crnih vina (Web 2)

Muljanje i runjanje

Runjenje i muljanje su početne operacije u preradi grožđa. Runjanjem se bobica odvaja od peteljki koje sadrže tanine i vinu daju gorak i trpki okus. Nakon runjanja slijedi muljanje kojim se bobice gnječe čime se oslobađa groždani sok. Ti procesi odvijaju se na runjačama-muljačama gdje kao konačni proizvodi dobijemo smjesu soka i krutih dijelova bobice koja se zvanu masulj (Law, 2006).

Sumporenje masulja

Sumporenjem mošta i masulja se sprječava oksidacija, djelovanje štetnih mikroorganizama, ubrzava se koagulacija bjelančevina i taloženje mošta. Osim toga, sumpor selekcionira kvasce tako da ostaju najotporniji koji provedu vrenje do kraja. Sumporenje se najčešće provodi sa metabisulfitom (vinobranom), a o tome koliko će ga se dodati ovisi zdravstvena ispravnost i zrelost grožđa, vremenu u trenutku berbe (pri toplom vremenu se više sumpori), trajanju i načinu stiskanja i temperaturi masulja (Jakobi, 2015.).

Alkoholna fermentacija i maceracija

Ovaj korak je jedan od najvažnijih u proizvodnji vina koji se odvija uz prisustvo kvasaca. Prva faza fermentacije je aerobna gdje kvasci koriste kisik iz zraka i razlažu šećer do CO_2. U drugoj fazi koja je anaerobna šećeri se razlažu do etanola i CO_2. Iako je fermentacija anaeroban proces, uz povremeno provjetravanje se postiže bolje iskorištenje šećera (Vrdoljak, 2009.).

Na temperature od 25 °C fermentacija započinje nakon 12 sati, kod 17-18 °C nakon 24 sata, kod 15 °C fermentacija započinje tek nakon 5-6 dana, a kod 10 °C gotovo se ni ne odvija.

Maceracija je poseban postupak kod proizvodnje crnih vina gdje ekstrahirani sastojci kao što su fenolni spojevi, tanini, tvari bolje i drugi, iz čvrtih dijelova grožđa prelaze u vino. Idealna temperature za uspješno provođenje maceracije je između 20 i 25 °C (Kontrec, 2017.).

Odvajanje mošta od taloga ocijeđivanjem I prešanje masulja

Ocjeđivanje odnosno otakanje je operacija gdje se vino odvaja od dropa. Posude u koje se otače u konačnici moraju biti pune i zatvorene. Nakon otakanja, preostali ocijeđeni masulj se preša da bi se izdvojilo vino. Prešanje se provodi u što kraćem vremenskom roku kako ne bi došlo do oksidacije masulja i mošta i prevelike ekstrakcije tanina (Zoričić, 1996.).

Malolaktična fermentacija

Malolaktična fermentacija predstavlja proces pretvorbe jabučne kiseline koja vinu daje gorak okus, u mliječnu kiselinu mekšeg, blažeg i finijeg okusa. Isto kao i alkoholna fermentacija, ovaj proces mora biti kontroliran i usmjeren. Može krenuti spontano ili biti induciran starter kulturama (Zoričić, 1996.).

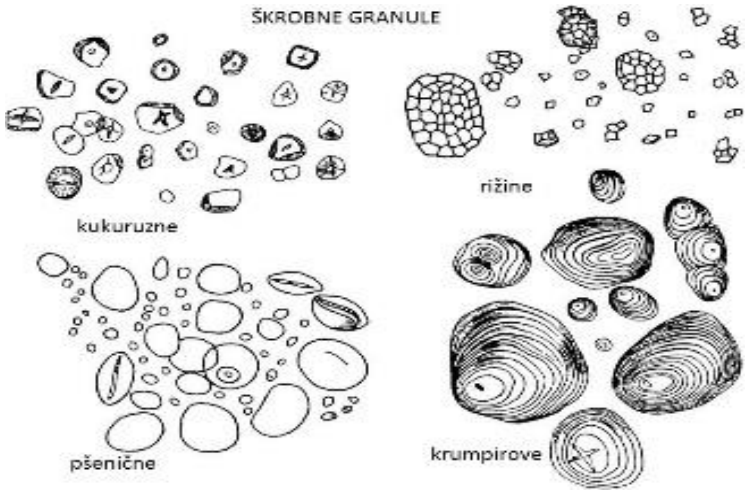
Nakon ove faze slijedi faza stabilizacije, njege i čuvanja vina te punjenje u boce.

2.5. ŠKROB

Škrob je polisaharid opće formule $(C_6H_{10}O_5)_n$ koji nastaje asimilacijom u listovima zelenih biljaka. To je ugljikohidrat građen od ugljika, vodika i kisika. Pohranjuje se u sjemenkama, plodovima i gomoljima biljaka u obliku škrobnih granula. Osnovne sirovine od kojih se dobiva škrob su kukuruz, tapioka, pšenica, krumpir i riža. Na tržištu se nalazi kao prah bijele boje koji ima okus brašna, neutralan miris te se ne otapa u hladnoj vodi.

Postoje različiti oblici škroba koji se koriste u proizvodnji hrane. Nativni i modificirani škrobovi su najčešće primjenjivani zbog sposobnosti povezivanja raznih sastojaka, želiranja, stabilizacije pjene, zgrušavanja, stvaranja filma i drugih, kao i zbog prihvatljive cijene (Denyer i sur., 2001.; Wischmann i sur., 2002.).

Kako je već spomenuto, škrob se u prirodi nalazi u obliku granula (zrnaca) koje mogu biti okruglog, ovalnog ili poligonalnog oblika. Njihova veličina kreće se od 1 do 100 μm. Škrobna granula građena je od amiloze i amilopektina, a njihov udio ovisi o botaničkom podrijetlu škroba (Babić, 2007.).

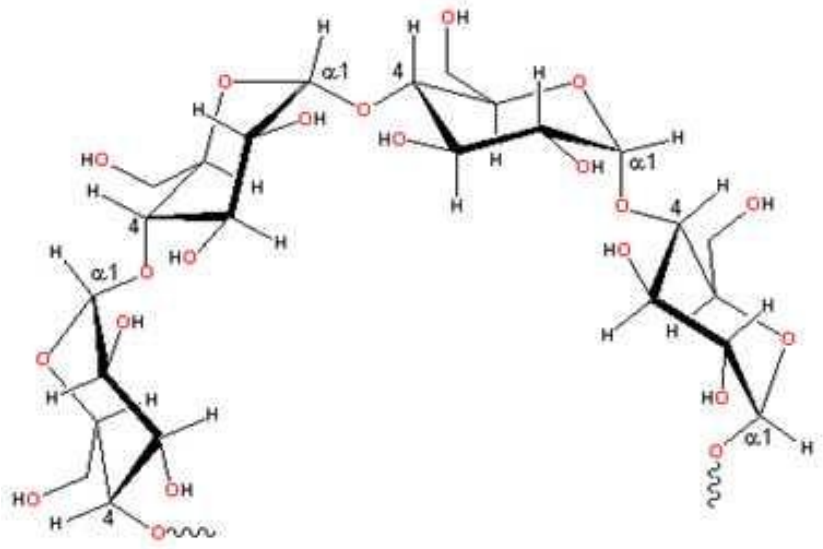


Slika 3 Prikaz raznih oblika škrobnih granula (web 3)

Amiloza

Amiloza je linearna molekula građena od jedinica α-D-glukoze povezanih α-1,4 glikozidnim vezama. Manje je zastupljena u škrobu od amilopektina. Stupanj njezinog granjanja ovisi o molekulskoj masi. S porastom molekulske mase rast će i stupanj granjanja. Amilozu je moguće

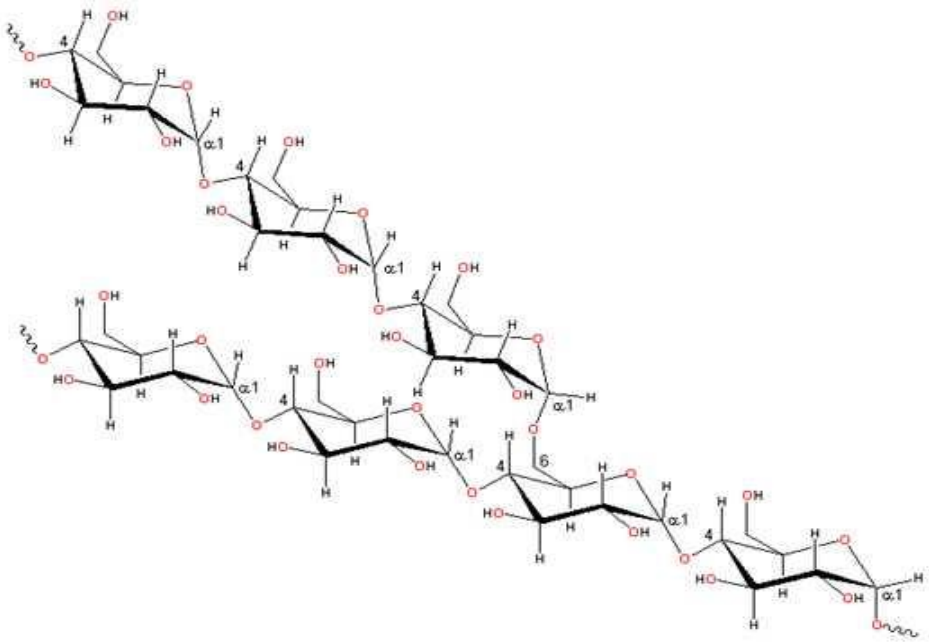
hidrolizirati do 95% pomoću β-amilaze. Za određivanje količine amiloze u škrobu upotrebljava se jod koji stvara komplekse amiloza-jod plavog obojenja (Tester i sur., 2004.).



Slika 4 Struktura amiloze (web 4)

Amilopektin

Amilopektin je razgranata molekula građena od α-D-glukoze. Molekule glukoze povezane su u ravne lance α-1,4-glikozidnim veza, a na mjestima grananja nakon svakih 25 glukoznih jedinica α-1,6 vezama. Jedna je od najvećih molekula u prirodi. Enzimi koji hidroliziraju amilopektin su polulunaza i izoamilaza. Zbog razgranate strukture i kratkih bočnih lanaca ne može sa jodom formirati stabilne komplekse. Kompleks amilopektin-jod daje crvenkasto obojenje (Tester i sur., 2004.).



Slika 5 Struktura amilopektina (web 4)

Želatinizacija i retrogradacija škroba

Želatinizacija je proces u kojem dolazi do otapanja škrobnih granula uslijed povišene temperature škrobne suspenzije. Započinje na temperature od 45 °C kada škrobne granule počinju apsorbirati određenu količinu vode i bubriti. Daljnjim zagrijavanjem dolazi do dodatnog bubrenja i u konačnici ekplodiranja granula (Singh i sur., 2003.).

Želatinizacijom raste viskoznost škrobne suspenzije koja na kraju procesa prijeđe u pastu. Pastu čine amiloza, amilopektin i neotopljeni dijelovi granule. Hlađenjem iste povećava se viskozitet i nastaje gel (Denyer i sur,2001.).

Retrogradacija je proces povezivanja otopljenih molekula škroba vodikovim vezama uslijed hlađenja škrobne suspenzije i smanjene energije sustava (Hoover, 2001.). Škrob na taj način prelazi u netopivo kristalinično stanje. Zbog slabe kristaličnosti imaju nižu temperaturu i entalpiju želatinizacije. Na retrogradaciju škroba utječe podrijetlo škroba, temperatura, pH, koncentracija škroba u suspenziji. Količina i vrsta lipida, šećera i drugih tvari. Retrogradacija može uzrokovati porast viskoznosti, pojavu mutnoće, taloženje netopljivih škrobnih dijelova, stvaranje gela, sinerezu (izlučivanje vode iz paste), povećanje čvrstoće proizvoda (pekarski proizvodi) i formiranje rezistentnog škroba.

Modifikacija škroba

Nativni (prirodni) škrob predstavlja glavnu sirovinu za proizvodnju modificiranog škroba. Modificirani škrob sadrži izmjenjenu kemijsku strukturu nekih D-glukozidnih jedinica u molekuli. Izmjena strukture postiže se kemijskim, fizikalnim i enzimskim postupcima i njihovom kombinacijom čime se dobivaju škrobovi različitih funkcionalnih svojstava. Kemijskom modifikacijom koja je ujedno i najkorištenija, dobivaju se škrobovi pojačanih svojstava tako što se OH skupine podvrgavaju reakciji s različitih kemijskim reagensima te na taj način dolazi do uvođenja novih kemijskih supstituirajućih skupina (Bertolini, 2010.). Fizikalni postupci modifikacije škrobova uključuju želatinizaciju i sušenje škroba kako bi se na kraju dobio preželatiniziran škrob topiv pri znatno nižim temperaturama od nativnog škroba (Beltz i sur., 2009.). Enzimska modifikacija provodi se u cilju hidrolize škroba na dekstrine i maltodekstrine pomoću amilolitičkih enzima i dobivanja škroba otpornog na djelovanje vode i škroba sa termoplastičnim svojstvima (Beltz i sur., 2009.).

Svojstva modificiranih škrobova ovise o sirovini, postupku modifikacije, omjeru amiloze i amilopektina, stupnju polimerizacije, prirodi supstituirane grupe, stupnju supstitucije, fizikalnom obliku i prisutnosti stranih komponenti. Najkorištenije sirovine za proizvodnju modificiranih škrobova su kukuruz, voštani kukuruz, tapioka i krumpir (Babić, 2007.).

U ovom istraživanju upotrebljeni su modificirani škrobovi voštanog kukuruza, tapioke i krumpira.

Škrob tapioke potječe iz korijena biljke. Hidroksipropilirani škrob tapioke (HPŠ) dobiva se tako što se u makromolekulu škroba uvedu funkcionalne skupne. HPŠ ima visoku topivost i stabilnost tijekom kuhanja i skladištenja te nižu temperaturu želatinizacije. Paste za koje je korišten HPŠ imaju manju tendenciju ka retrogradaciji, sinerezi i zamućivanju pri niskim temperaturama. Na tržištu se nalazi pod nazivom Textra u bež i bijeloj boji. Otapa se pri temperaturi od 65 °C do 67 °C i lako se raspršuje u vodi (Lebell, 1995.).

Modificirani voštani kukuruzni škrob sadrži 0% amiloze i 100% amilopektina. Hidroksipropil di-škrob fosfat voštanog kukuruza (HPDŠF) je dvostruko modificirani škrob. U prvom koraku se provodi esterifikacija uvođenjem hidroksipropilne skupine, a potom umrežavanje pomoću

natrijeva tripropilfosfata. Paste izrađene s dodatkom HPDŠF-a su stabilne i vrlo viskozne pri višim temperaturama ili niskom pH (Pichler, 2011).

Krumpirov škrob po prirodi ima veliki viskozitet zbog čega proizvođači voćnih prerađevina mogu smanjiti doziranje za 10-15% u usporedbi sa ostalima. Neutralnog je okusa i mirisa. U ovom radu korišten je Swely gel 700. To je modificirani krumpirov škrob dobiven hladnom želatinizacijom.

2.6. ODREĐIVANJE SASTOJAKA AROME PLINSKOM KROMATOGRAFIJOM

Plinska kromatografija (GC)

Kromatografija je fizikalna metoda separacije u kojoj se sastojci raspoređuju između dvije faze. Jedna faza je nepokretna (stacionarna), a druga se kreće u određenom smjeru (pokretna faza ili mobilna faza). Glavni zadatak kromatografije je odjeljivanje, identifikacija i kvantitativno određivanje kemijskih sastojaka prisutnih u smjesama. U pokretnoj se fazi nalazi uzorak koji se kreće uzduž nepokretne faze koja se može nalaziti u koloni ili na ravnoj plohi u formi gela ili tekućine. Pokretne faze mogu biti tekućina, plin ili fluid u superkritičnim uvjetima (Primorac, 2007.).

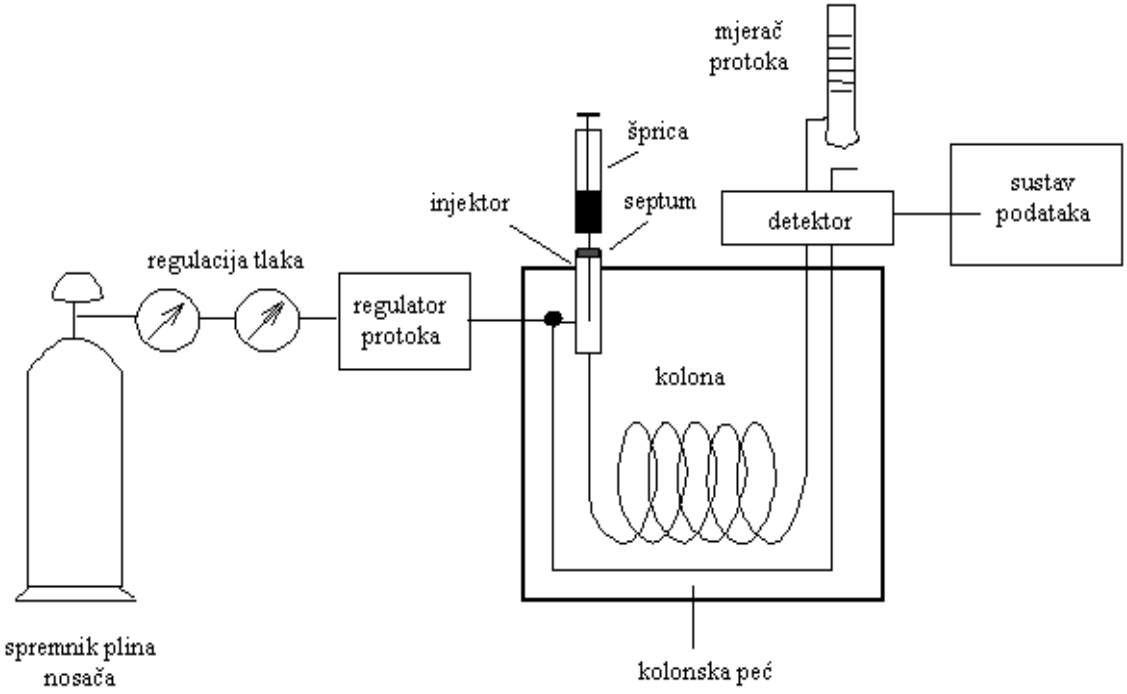
Razlikujemo plinsku (GC), tekućinsku (HPLC) i tekućinsku u superktitičnim uvjetima.

Plinska kromatografija (GC) se koristi za razdvajanje sustava sa više komponenti uz pomoć kapilarne kolone koja se nalazi na određenoj temperaturi. Metoda se provodi tako da se na početku kromatografske kolone injektira uzorak koji zatim isparava bez raspada, a eluiranje se provodi pomoću protoka inertnog plina kao mobilne faze. Uvjet za provođenje GC-a je različita hlapivost komponenata u uzorku te intertnost plina nositelja prema istima (Vrdoljak, 2009.).

Plinski kromatograf je uređaj plinsku kromatografiju a sastoji se od:

- izvora stalne struje plina nosioca (boca ili generator),
- uređaja za unošenje uzorka (injektor),
- kromatografske kolone smještene u termostatiranom prostoru,

- uređaja za registriranje izeluiranog sastojka u struji plina nosioca kao funkcije vremena (detektor) i
- sustava za ispis podataka (Primorac, 2007.).



Slika 6 Shematski prikaz plinskog kromatografa (Deur-Šiftar, 1973.)

Plin nositelj

Plin nositelj treba biti kemijski inertan, suh i pročišćen plin sa reguliranim tlakom i protokom koji ne smije sadržavati ugljikohidrate. Najčešće su upotrebljivani helij, argon, dušik, ugljikov dioksid i vodik, a izbor plina ovisi o vrsti primijenjenog detektora, mogućnosti nabave, cijeni, sigurnosnim mjerama, brzini i efikasnosti (Tomljanović, 2000.). Također, plin nositelj ne smije uzorak nositi prebrzo niti presporo. Ukoliko ga prebrzo prenosi kroz kolonu postoji mogućnost da se komponente smjese neće odvojiti, dok presporim prenošenjem dolazi do difuzije molekula plina i uzoraka u različitim smjerovima te komponete izlaze u širokom vremenskom periodu (Deur-Šiftar, 1973.).

Injektor

Injektor je uređaj pomoću kojeg se unosi uzorak u kolonu. Uzorak je potrebno brzo unijeti u maloj količini u zagrijani uređaj na vrhu kolone kroz gumenu ili silikonsku membranu. Da bi se ostvarilo potpuno isparavanje uzorka temperatura prostora gdje dolazi do rasprskavanja i isparavanja uzorka mora biti za 50 °C viša od temperature vrelišta najslabije hlapive komponente u uzorku (Primorac, 2007.). Uzorci u plinovitom stanju najbolje se unose u kolonu pomoću doznih ventila, a čvrsti se unose nakon otapanja (Pichler, 2011.).

Kromatografske kolone

Kromatografska kolona je smještena u termostatiranoj peći radi zagrijavanja i kontrole temperature. Temperatura može biti konstantna tijekom cijelog procesa ili se može mijenjati. Materijali koji se upotrebljavaju za kolone su metal, plastične mase, staklo i kvarc. Dužine su od 2 do više od 50 mentara. Kolone se s obzirom na veličinu promjera dijele na preparativne i analitičke. Promjer kod preparativnih kolona je 10 mm ili više. Analitičke kolone se dijele na punjene sa promjerom od 2 do 5 mm, mikropunjene promjera 1 mm i na kapilarne kod kojih je promjer od 0.1 do 0.5 mm. Osnovni uvjet pri izboru kolone je dobra selektivnost koja ovisi o izboru krutog nosača, punjenju kolone i količini i vrsti selektivne tekućine (Vrdoljak, 2009.; Skoog i sur., 2014.).

Detektori

Detektor je uređaj s kojim se mjere promjene u sastavu eluata kao što su toplinska vodljivost, radioaktivna i plamena ionizacija, kemijske reakcije, infracrvena i UV spektrometrija, spektrometrija masa, nuklearno-magnetska rezonancija i druge. Bitno je da detektor pokazuje brz odziv na male promjene koncentracije sastojaka (Cerjan-Stefanović i sur., 1999.).

Prema selektivnosti detektore dijelimo na univerzalne koji daju odziv za svaki sastojak u eluatu osim za čistu mobilnu fazu i selektivne koji daju odziv samo na određene grupe komponenata u eluatu (Primorac, 2007.). Detektori koji imaju osjetljivost prema velikom broju odjeljivanih sastojaka, brzu reakciju, primjenu pri raznim temperaturama i široko područje linearnog odgovora su u prednosti pred ostalima.

Spektrofotometrijska masa

Spektrometrijske metode temelje se na proučavanju emitirane ili apsorbirane energije elektromagnetskog zračenja. Za razliku od tvari koja apsorbira energiju i prelazi iz osnovnog u pobuđeno stanje, tvar koja emitira energiju iz pobuđenog se vraća u prvobitno stanje.

Uređaji koju daju podatke o molekularnoj strukturi nazivaju se spektrometri. Spektrometri masa imaju sustav za uvođenje uzorka, ionskog izvora, masenog analizatora i detekcijskog sustava. U njemu se molekule bombardiraju snopom elektrona bogatih energijom. Na taj način dolazi do ioniziranja i cijepanja molekula na puno fragmenata od kojih su neki pozitivno nabijeni ioni. Odnos mase i naboja (m/e) je karakterističan za svaku vrstu iona. Nakon izvršene analize iona dobije se signal za svaku vrijednost m/e koja je prisutna. Pri tome intezitet svakog signala pokazuje relativnu količinu iona koja daje taj signal. Intezitet najvišeg signala se označava sa 100 i on predstavlja osnovni signal.

Spektar masa predstavlja dijagram koji pokazuje relativne intenzitete signala za različite vrijednosti mase i naboja. SIuži za dokazivanje identičnosti dvaju spojeva i kao pomoć pri određivanju strukture novog spoja.

Kada kombiniramo plinski kromatograf i maseni spektrometar, plinski kromatograf služi za odvajanje sastojaka, a maseni spektrometar služi kao detektor (Vrdoljak, 2009.).

SPME analiza

SPME ili mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (engl. solid phase microextraction) je metoda koja se sastoji od dvije faze, a to su adsorpcija prlikom koje analit zaostaje na stacionarnoj fazi, i desorpcija. Obje faze moraju biti optimizirane ukoliko se postupak želi uspješno provesti. Desorpcija ovisi o temperaturi i vremenu iste, a na ektraciju utječe tip uzorka, vrijeme ekstrakcije, ionska jakost, pH uzorka, temperatura ekstrakcije i mućkanje uzorka.

SPME se koristi za analizu širokog spektra hrane jer zahtijeva manju manipulaciju i ekonomski je prihvatljiva. Sve više nalazi primjenu u pripremi čvrstih i tekućih uzoraka poput vina, piva, voća, meda i ulja (Vrdoljak, 2009.; Zhang i sur., 1993.).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog rada je ispitati utjecaj dodataka modificiranih škrobova na aromatične i fenolne spojeve u kremi od vina. U tu svrhu uzorak crnog vina Cabernet Sauvignon kuhan je bez dodataka i s dodatkom modificiranih škrobova tapioke, voštanog kukuruza ili krumpira. Zatim je određen sadržaj polifenolnih i aromatičnih spojeva u uzorcima koji se se kasnije skladištili na temperaturi od 25 °C kroz tri mjeseca. Analize su ponovljene i nakon skaldištenja. Spektrofotometrijski su određeni polifenoli, antocijani i antioksidacijska aktivnost, a određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka provedeno je pomoću plinske kromatografije i mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME). Za analizu spojeva arome korišten je plinski kromatograf tvrtke Agilent 5890 B s maseno-selektivnim detektorom Agilent 5971A.

3.2. MATERIJAL I METODE

Priprema kreme od vina

Za pripremu kreme od vina korištena je crna sorta vina Cabernet Sauvignon. To je francusko vino intezivne rubin-crvene boje sa prijelazom na ljubičastu. Uzgoj ove sorte najbolji je u toplijim krajevima na šljunkovitom terenu. U mladom vinu javljaju se note crnog bobičastog voća, trešnje i višnje, a starenjem vina razvijaju se arome duhana i zemlje te su se poboljšava kvaliteta.



Slika 7 Cabernet sauvignon (web 5)

Za pripremu uzoraka odvagano je 200 g vina u 4 posude. U prvu posudu dodano je 5% modificiranog škroba tapioke, u drugu 5% modificiranog škroba voštanog kukuruza, u treću posudu 5% modificiranog škroba krumpira, a četvrta posuda je bila bez dodatka modificiranog škroba. Dobivene smjese su se zagrijavale na 80°C u trajanju od 10 minuta uz konstantno miješanje, a zatim punile u staklene posude, zatvorile i hladile na sobnu temperaturu.

Za potrebe određivanja polifenolnih spojeva, antocijana, antioksidacijske aktivnosti i polimerne boje uzorci su ekstrahirani s metanolom zakiseljenim s klorovodičnom kiselinom (1%). Ekstrakt je izdvojen u centrifugi na 4000 okretaja kroz 15 min.

Određivanje sadržaja polifenolnih spojeva

Koncentracija ukupnih fenola se određuje Folin-Ciocalteuovim postupkom. Folin-Ciocalteu metoda zasniva se na kolornoj reakciji fenola s Folin-Ciocalteu reagensom, i mjerenjem nastalog intenziteta obojenja (apsorbance) pri valnoj duljini od 765 nm (Ough i Amerine, 1988). Folin-Ciocalteu reagens predstavlja smjesu fosfowolframove i fosfomolibden kiseline. Oksidacijom fenolnih tvari ove kiseline se reduciraju u wolframov oksid i molibdenov oksid plavog obojenja. Folin-Ciocalteu reagens (1:10) pripremi se tako da se pipetira 3,3 ml Folin-Ciocalteu reagensa u odmjernu tikvicu od 100 ml te dopuni do oznake s destiliranom vodom. Otpipetirano je 0,2 ml pripremljenog uzorka te dodano 1,8 ml destilirane vode, 10 ml Folin-Ciocalteu reagensa te nakon stajanja 30 sekundi do 8 minuta dodano 8 ml 7,5 % Na_2CO_3. Za pripremu slijepe probe otpipetira se 2 ml destilirane vode u epruvetu, te doda 10 ml Folin-Ciocalteu reagensa i 8 ml 7,5 % Na_2CO_3. Nakon toga, ostavi se 2-20 sati u mračnom prostoru kako bi se razvila boja, te se mjeri apsorbanca na spektrofotometru pri valnoj duljini od 765 nm. Sadržaj polifenolnih spojeva je interpoliran kalibracijskom krivuljom galne kiseline i izražen u mg galne kiseline/L uzorka.

Određivanje antocijana

Metoda za određivanje antocijana naziva se pH-diferencijalna metoda, a zasniva se na strukturnoj transformaciji kromofora antocijana ovisno o promjeni pH. Antocijani podliježu reverzibilnoj strukturnoj transformaciji s promjenom pH koja se očituje promjenom spektra

absorbancije. Metodom se brzo i točno mjere ukupni antocijani, bez obzira na prisutnost polimeriziranih, degradiranih pigmenata i drugih tvari koje bi mogle smetati.

Antocijani su određivani metodom prema Giusti i Wrolstadu (2001.) s malom izmjenom Otpipetirano je 0,2 mL pripremljenog uzorka u dvije kivete. U jednu je dodano 1 mL pufera pH 1, a u drugu 1 mL pufera pH 4,5. Nakon što su uzorci stajali 15 min pomoću spektrofotometra mjerena je absorbanca pri valnim duljinama od 508 nm i 700 nm. Sadržaj antocijana je izračunat prema formuli:

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

gdje je:

A-absorbancija uzorka, a izračunava se prema izrazu:

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

M - 449,2

FR - faktor razrjeđenja

ε - molarna absorptivnost; 26 900

l - duljina kivete; 1 cm

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

Određivanje antioksidacijske aktivnosti

Metode za određivanje antioksidacijske aktivnosti na osnovi uklanjanja sintetskih radikala pri sobnoj temperaturi u polarnom organskom otapalu kao što je metanol, najčešće koriste 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) i 2, 2'-azinobis (3- etilbenztiazolin-sulfonska kiselina) (ABTS) radikale.

Antioksidacijska aktivnost u ovom radu određena je primjenom DPPH reagensa. Uklanjanje DPPH radikala praćeno je smanjenjem absorbancije na 515 nm, do koje dolazi zbog smanjenja količine antioksidansa (AH) ili reakcije s radikalima ($R^{\cdot}$). Prva reakcija s DPPH radikalima odvija se s nekom od fenolnih tvari, ali zbog spore sekundarne reakcija može doći do progresivnog smanjenja absorbance, te se ravnotežno stanje ne može postići nekoliko sati.

$DPPH^{\cdot} + AH \rightarrow DPPH\text{-}H + A^{\cdot}$

$DPPH^{\cdot} + R^{\cdot} \rightarrow DPPH\text{-}R.$

Za određivanje antioksidativne aktivnosti korištena je metoda po Shimadu i sur. (1992.) s malim modifikacijama. U kivetu je otpipetirano 0,2 mL uzorka, 2 mL metanola i 1 mL otopine DPPH. Nakon što je pripremljena smjesa stajala 15 min, izmjerena je absorbancija na spektrofotometru pri valnoj duljini od 517 nm. Za slijepu probu je korišten metanol umjesto uzorka.

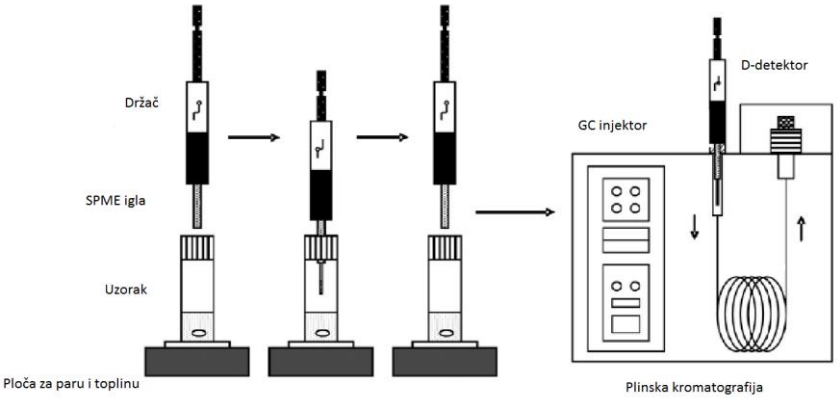
Rezultati su izraženi preko baždarne krivulje troloxa (μmol TE/100 mL).

Analiza arome kreme od vina plinskom kromatografijom primjenom SPME analize

Tijekom pripreme uzorka korištena je tehnika mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME) za koju je potrebna SPME aparatura. Osnova SPME aparature je igla unutar koje se na polimernu stacionarnu fazu (vlakno) adsorbiraju aromatični sastojci. Za pripremu uzoraka korišteno je punilo od polidimetilsiloksana-divinilbenzena (polimerna stacionarna faza).

U bočicu od 10 mL se odvaže 5 g uzorka kreme od vina. Potom se doda 1 g NaCl-a radi bolje adsorpcije aromatičnih sastojaka. Nakon toga se u bočiću stavi magnet i hermetički se zatvori teflonskim čepom. Bočica se stavi u vodenu kupelj. Konstantnim miješanjem uzorka magnetskom miješalicom, aromatični sastojci hlape i popunjavaju prazan prostor u bočici. Prije nego što se igla ispusti u nadprostor uzorka, uzorak se 10 minuta miješa na vodenoj kupelji kako bi došlo do zasićenja nadprostora i što bolje adsorpcije aromatičnih sastojaka. Kada se igla s vlaknom spusti u nadprostor uzorka, aromatični sastojci se kroz određeno vrijeme adsorbiraju na polimernu stacionarnu fazu vlakna. Nakon adsorpcije igla se stavlja u injektor plinskog kromatografa te slijedi njihova toplinska desorpcija.

Za određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka kreme od vina primjenila se instrumentalna plinska kromatografija. Upotrebljeni plinski kromatograf je iz tvrtke Agilent 5890 B s maseno-selektivnim detektorom Agilent 5971A.



Slika 8 Korištenje SPME držača za uzorkovanje i analizu

Uvjeti rada plinskog kromatografa:

Parametri ekstrakcije:

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

GC-MS analitički uvjeti:

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

- početna temperatura*:* 40 °C (10 min)
- temperaturni gradijent*:* 3°C/min do 120 °C
- temperaturni gradijent: 10 °C/min do 250 °C

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

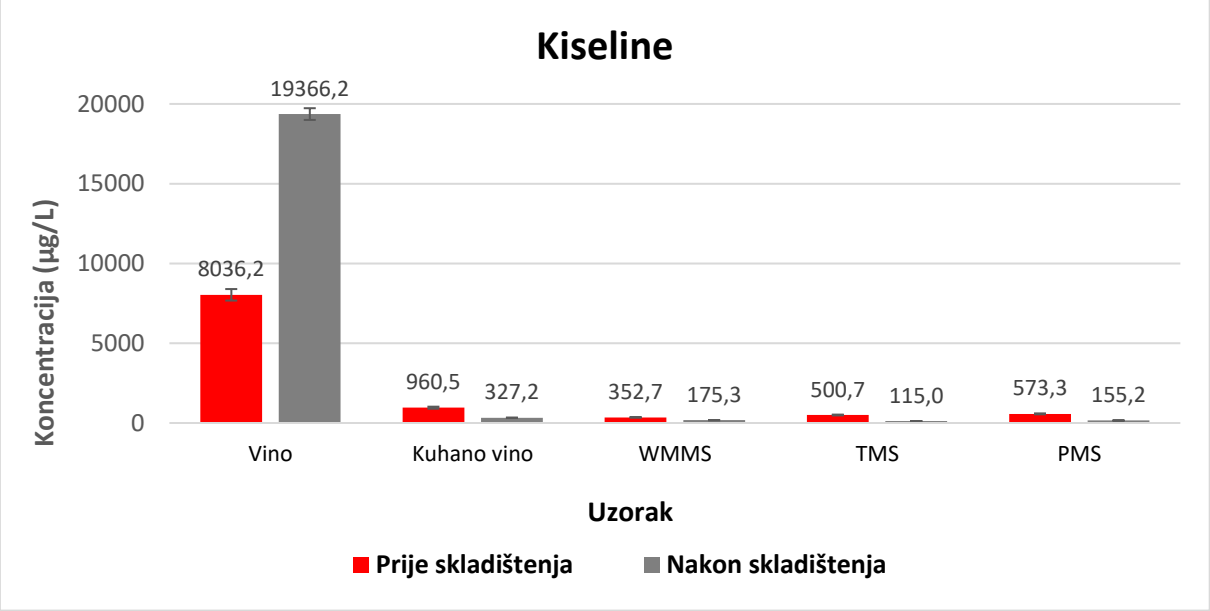
- temperatura injektora: 250 °C
- temperatura detektora: 280 °C
- desorpcija uzorka u injektor: 7 min

4. REZULTATI

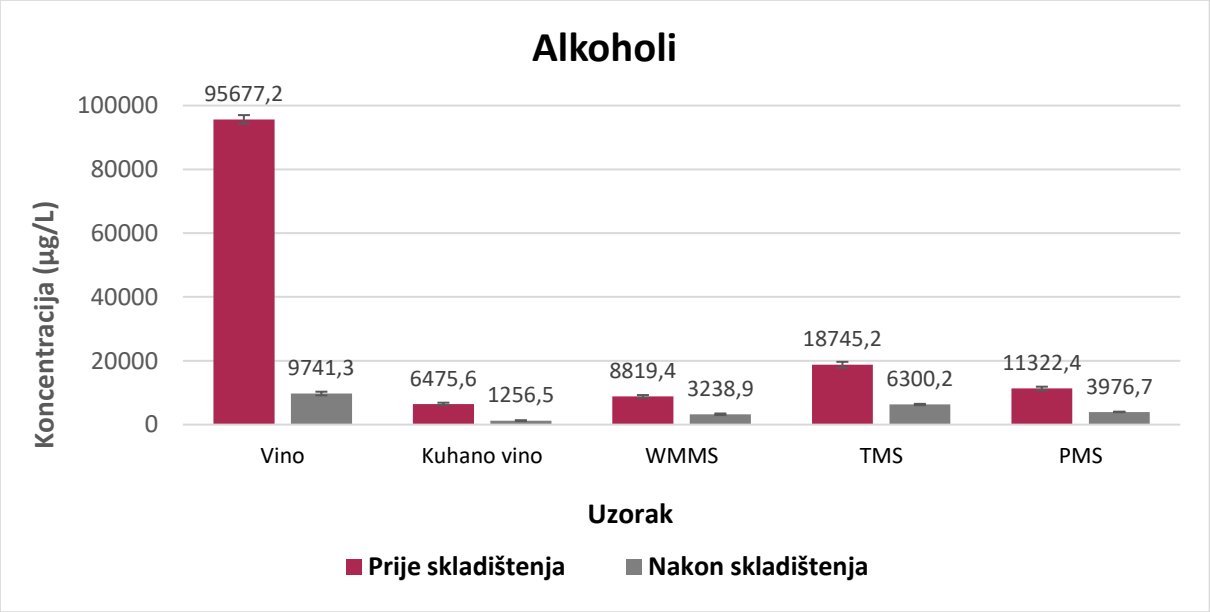
Tablični prikaz rezultata

Tablica 1 Aromatični sastojci identificirani u analiziranom vinu i kremama od vina

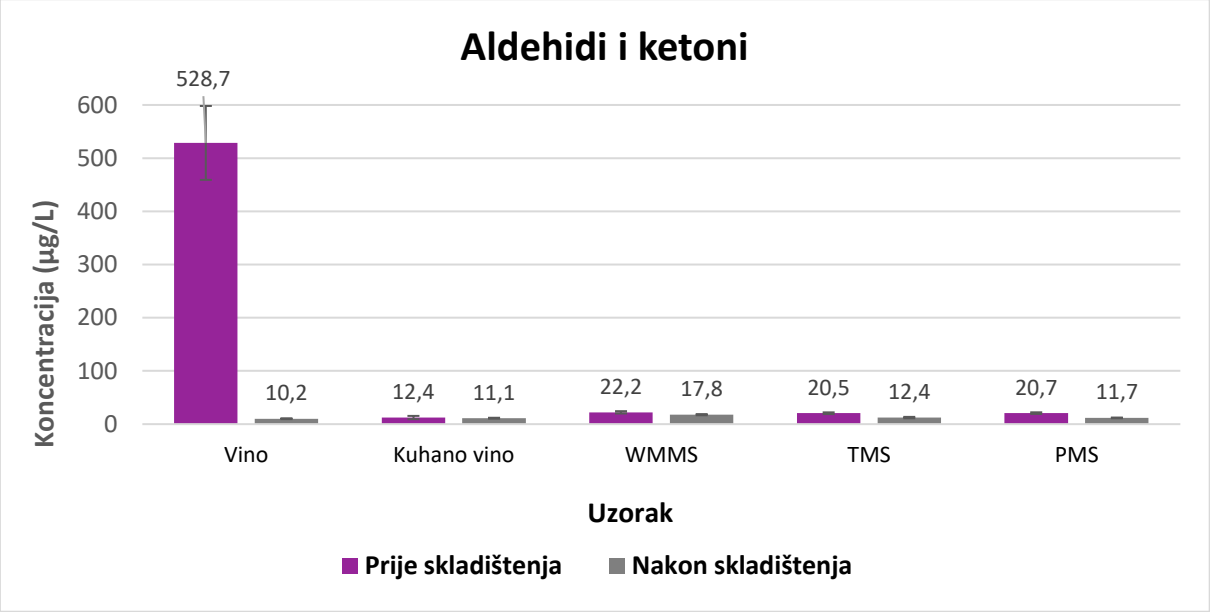
Komponenta	RT (retencijsko vrijeme)	RI (retencijski indeks)	Komponenta	RT (retencijsko vrijeme)	RI (retencijski indeks)
Kiseline			**Esteri**		
Octena kiselina	2,5326	622	Etil heksanoat	17,9828	997
Dekanska kiselina	37,4621	1376	Etil 4-hidroksibutanoat	21,6301	1059
Laurinska kiselina	41,8000	1558	Etil heptanoat	23,9208	1094
Miristanska kiselina	44,5048	1749	Dietil sukcinat	28,4535	1179
Palmitinska kiselina	47,3562	2008	Etil octanoat	29,1684	1192
Alkoholi			Fenetil acetat	31,3860	1250
Izoamilni alkohol	3,5886	734	Etil nonanoat	33,9204	1290
1-butanol	3,9787	752	Etil dekanoat	38,1038	1391
2,3-butandiol	5,3838	804	Benzil izovalerat	38,5670	1404
1-heksanol	8,7062	868	Etil izopentil sukinat	39,0542	1425
1-oktanol	9,1450	875	Etil vanilat	42,1818	1580
Metionol	16,5856	981	Etil laureat	42,2547	1584
Benzil alkohol	20,2818	1037	Metil dihidrojasmonat	43,1320	1644
Fenetil alkohol	24,5300	1105	Heksil salicilat	43,4326	1667
Dodekanol	40,0890	1469	Etil miristat	44,9029	1782
Aldehidi i ketoni			Izopropil miristat	45,2846	1814
Geranil aceton	39,5903	1448	Diizobutil ftalat	45,7964	1859
Heksil cinamal	44,3667	1737	Dibutil ftalat	46,7955	1953
Terpeni			Etil palmitat	47,0555	1978
β-citronelol	30,6793	1223	Etil linoleat	48,6802	2146
β-damascenon	37,6182	1377	Etill oleat	48,7290	2152
α-farnesen	40,5166	1487	Ethil stearat	48,9565	2176
α-kalakoren	41,4180	1535	**Drugo**		
Nerolidol	41,7756	1556	2,4-di-T-butilfenol	40,8900	1504
Fluoren	42,0110	1570			



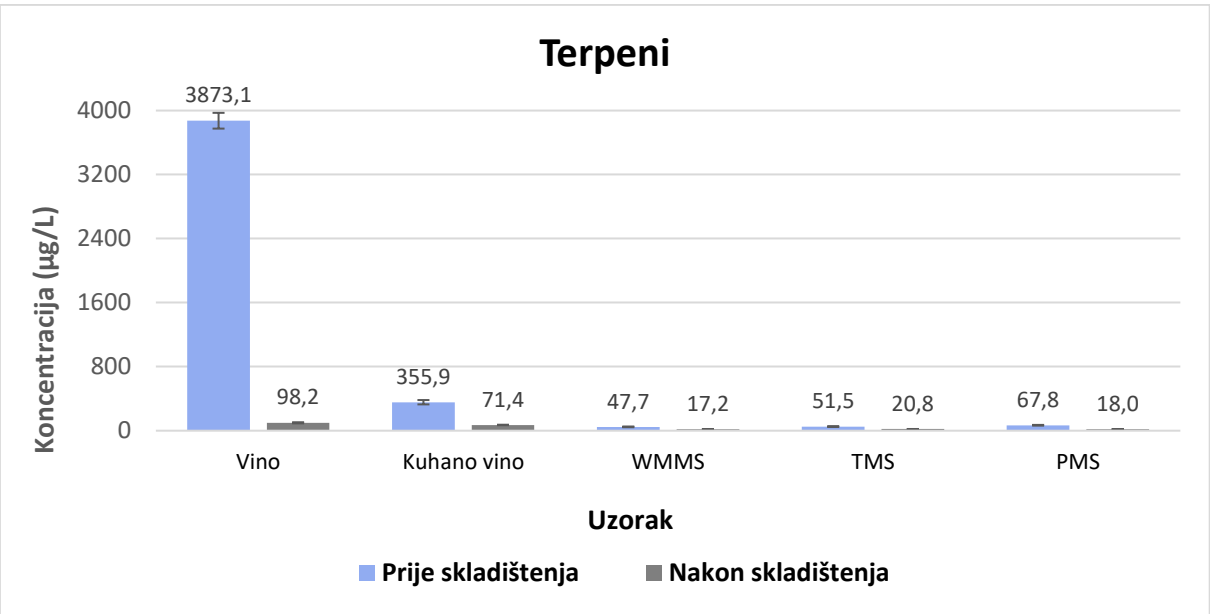
Slika 9 Sadržaj kiselina u početnom vinu, kuhanom vinu i kremama od vina s dodatkom modificiranih škrobova kukuruza (WMMS), tapioke (TMS) i krumpira (PMS) prije i nakon tromjesečnog skladištenja



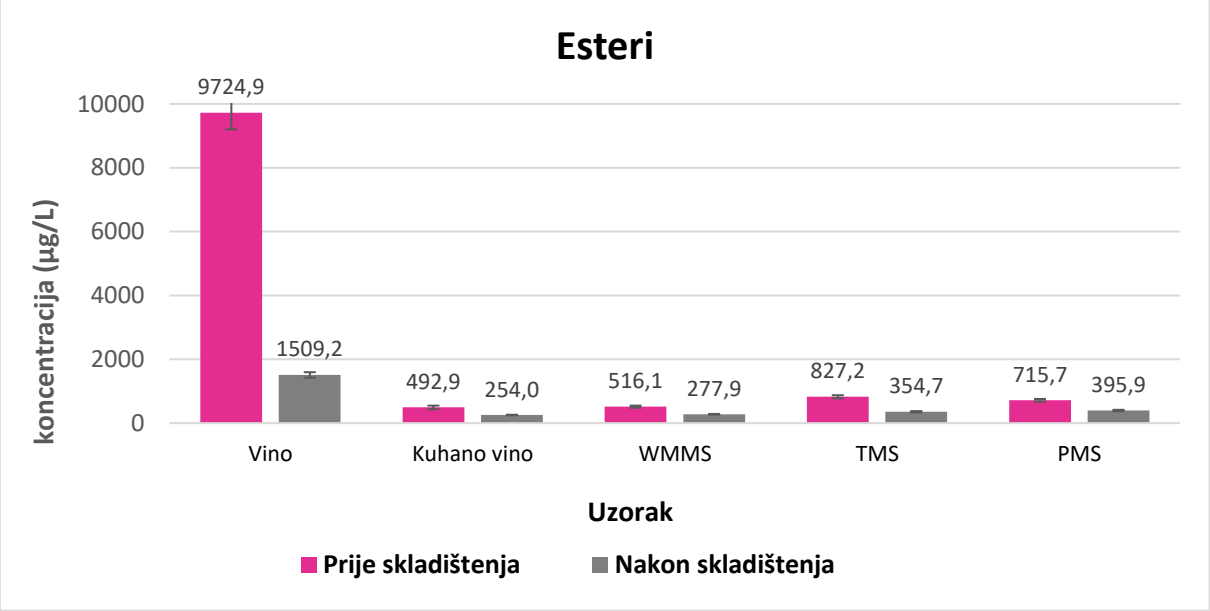
Slika 10 Sadržaj viših alkohola u početnom vinu, kuhanom vinu i kremama od vina s dodatkom modificiranih škrobova kukuruza (WMMS), tapioke (TMS) i krumpira (PMS) prije i nakon tromjesečnog skladištenja



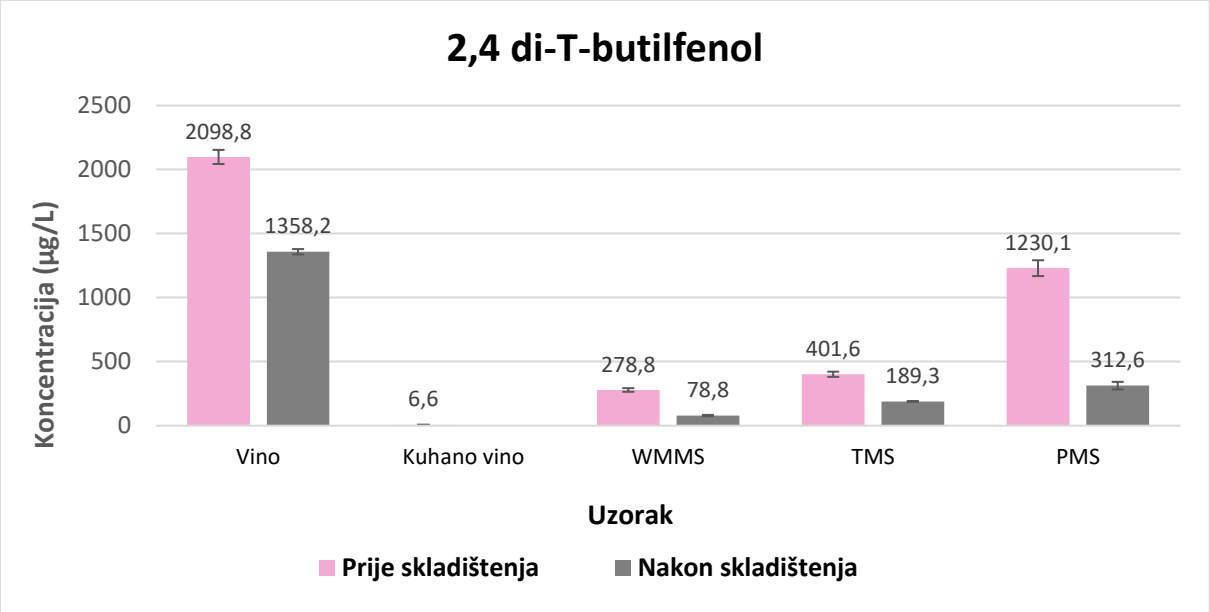
Slika 11 Sadržaj aldehida i ketona u početnom vinu, kuhanom vinu i kremama od vina s dodatkom modificiranih škrobova kukuruza (WMMS), tapioke (TMS) i krumpira (PMS) prije i nakon tromjesečnog skladištenja



Slika 12 Sadržaj terpena u početnom vinu, kuhanom vinu i kremama od vina s dodatkom modificiranih škrobova kukuruza (WMMS), tapioke (TMS) i krumpira (PMS) prije i nakon tromjesečnog skladištenja



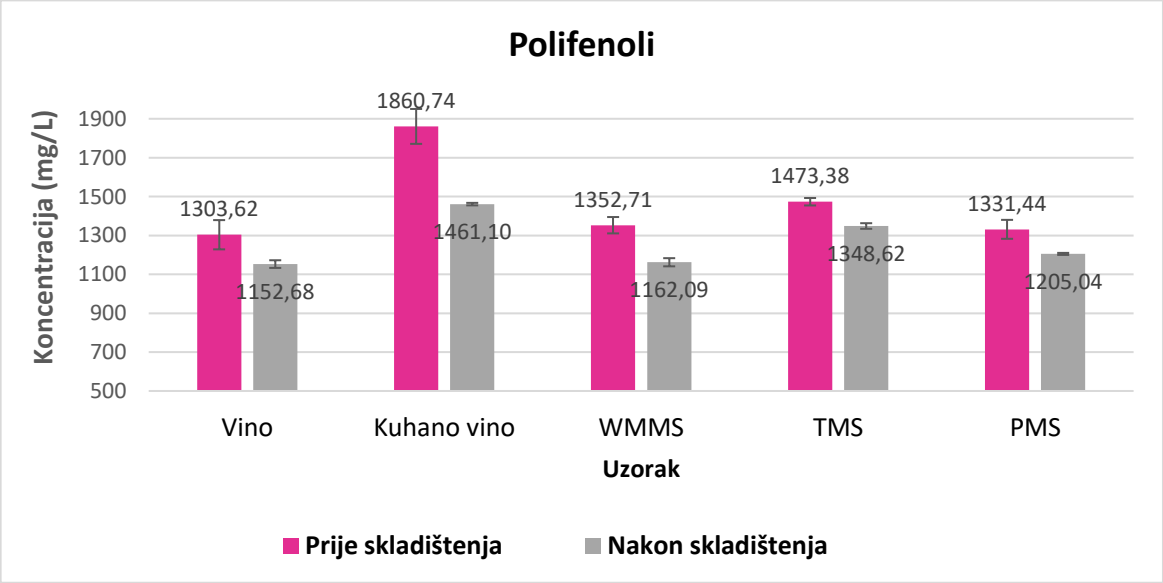
Slika 13 Sadržaj estera u početnom vinu, kuhanom vinu i kremama od vina s dodatkom modificiranih škrobova kukuruza (WMMS), tapioke (TMS) i krumpira (PMS) prije i nakon tromjesečnog skladištenja



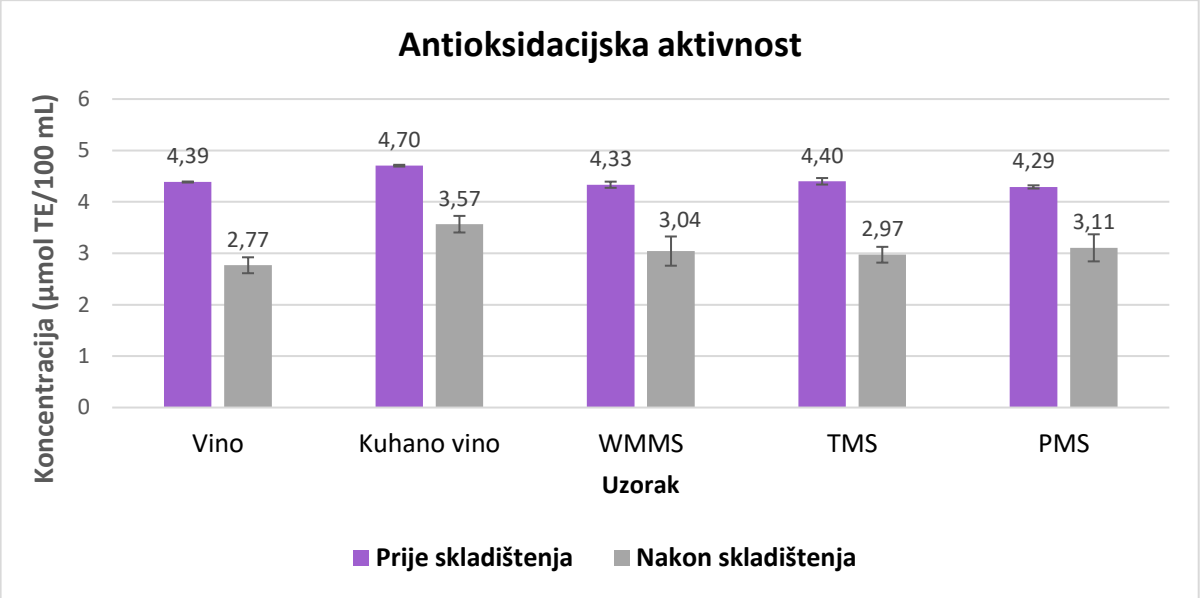
Slika 14 Sadržaj 2,4 di-T-butilfenola u početnom vinu, kuhanom vinu i kremama od vina s dodatkom modificiranih škrobova kukuruza (WMMS), tapioke (TMS) i krumpira (PMS) prije i nakon tromjesečnog skladištenja

Tablica 2 Suha tvar u početnom vinu, kuhanom vinu i kremama od vina s dodatkom modificiranih škrobova kukuruza (WMMS), tapioke (TMS) i krumpira (PMS) prije i nakon tromjesečnog skladištenja

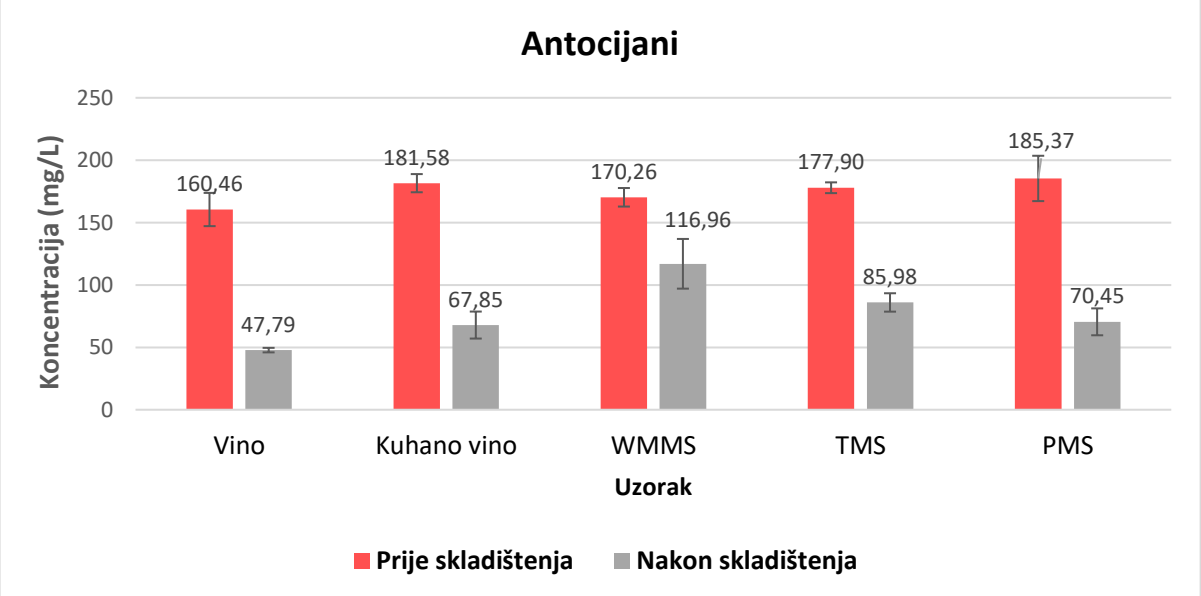
	Suha tvar prije skladištenja (%)	Suha tvar nakon skladištenja (%)
Vino	9,9	9,9
Kuhano vino	8,5	8,5
WMMS	9,8	9,8
TMS	13,1	13,1
PMS	11,9	11,9



Slika 15 Sadržaj ukupnih polifenola u početnom vinu, kuhanom vinu i kremama od vina s dodatkom modificiranih škrobova kukuruza (WMMS), tapioke (TMS) i krumpira (PMS) prije i nakon tromjesečnog skladištenja



Slika 16 Antioksidacijska aktivnost u početnom vinu, kuhanom vinu i kremama od vina s dodatkom modificiranih škrobova kukuruza (WMMS), tapioke (TMS) i krumpira (PMS) prije i nakon tromjesečnog skladištenja



Slika 17 Sadržaj antocijana u početnom vinu, kuhanom vinu i kremama od vina s dodatkom modificiranih škrobova kukuruza (WMMS), tapioke (TMS) i krumpira (PMS) prije i nakon tromjesečnog skladištenja

5. RASPRAVA

Rezultati istraživanja dodataka modificiranih škrobova (modificirani škrob tapioke, modificirani škrob voštanog kukuruza i modificirani škrob krumpira) na zadržavanje fenolnih i pojedinih aromatičnih sastojaka u kremi od vina prije i nakon skladištenja prikazani su u Tablicama 1 - 2 te na Slikama 9-17.

Aroma

Ukupna aroma vina predstavlja kombinaciju sortne arome (primarna aroma), arome koja nastaje alkoholnom fermentacijom (sekundarna aroma) te tercijane arome ili „bouqueta“, nastale tijekom odležavanja i skladištenja vina. U **Tablici 1** prikazano je 45 identificiranih aromatičnih sastojaka u u kremi od vina. Identificirani sastojci su radi boljeg prikaza podijeljeni u 6 skupina. To su kiseline, alkoholi, aldehidi i ketoni, terpeni, esteri i drugi (2,4 di-T-butilfenol).

Kiseline potječu ili iz sirovine ili nastaju tijekom alkoholne fermentacije. U **Tablici 1** vidi se da su u kremama od vina identificirane octena, dekanska, laurinska, miristanska i pamitinska kiselina. Sadržaj kiselina u kremama od vina s dodatkom modificiranih škroba manji je nego u netretiranom i kuhanom vinu. Usporedbom rezultata prije i nakon skladištenja, uočeno je kako se količina kiselina u netretiranom vinu povećala, dok se u kuhanom vinu i kremama od vina smanjila (**Slika 9**).

Viši alkoholi nastaju kao sekundarni produkti metabolizma kvasca. Jedan od najvažnijih je fenetil alkohol koji doprinosi slatkastoj aromi ruže. Pored njega, u analiziranom vinu i kremi od vina identificirani su izoamilni alkohol, 1-butanol, 2,3-butandiol, 1-heksanol, 1-oktanol, metionol, benzil alkohol i dodekanol (**Tablica 1**). Početni uzorak vina imao je najveću koncentraciju viših alkohola u odnosu na kuhano vino te vino s dodatkom bilo kojeg modificiranog škroba. Krema od vina s dodatkom modificiranog škroba tapioke (TMS) imala je najveću koncentraciju viših alkohola u ukupnoj aromi kreme od vina. Najmanji utjecaj na koncentraciju viših alkohola u kremi od vina ima dodatak modificiranog škroba voštanog kukuruza (WMMS). Skladištenjem se koncentracija viših alkohola u svim uzorcima smanjila. Najveću koncentraciju zadržanih alkohola nakon tromjesečnog skladištenja na 25°C imao je uzorak s dodatkom modificiranog škroba tapioke (**Slika 10**).

Aldehidi i ketoni se u vinima nalaze u vrlo malim količinama, ali su esencijalni za sintezu aminokiselina. **Tablica 1** pokazuje da su od aldehida i ketona u kremi od vina pronađeni geranil aceton i heksil cinamal koji vinu daju cvjetne i voćne arome. Najveću koncentraciju ima netretirano vino prije kuhanja, dok se u kuhanom vinu s i bez dodatka modificiranih škrobova koncentracija aldehida i ketona smanjuje. Nakon skladištenja, koncentracija aldehida i ketona u netretiranom vinu se značajno smanjila. Niti jedan dodatak modificiranog škroba nije uspio umanjiti gubitak aldehida i ketona u kremi od vina (**Slika 11**).

Terpeni su skupina spojeva koja je karakteristična za svaku sortu grožđa. Dijele se na slobodne terpene (odgovorni za aromu grožđa i mošta) i vezane terpene (vezani su najčešće za šećere te se oslobađaju tijekom procesa proizvodnje vina). Terpeni identificirani u uzorcima su β-citronelol, β-damascenon, α-farnesen, α-kalakoren, nerolidol i fluoren. Vinu najčešće daju citrusnu, svježu, slatku i cvjetnu aromu. Od ukupno šest identificiranih terpena, jedino α-farnesen nije pronađen u kremi od vina s dodatkom modificiranog šećera krumpira (PMS). Netretirano vino sadrži najveću koncentraciju terpena, dok je najmanja zabilježena u kremi od vina s dodatkom modificiranog škroba voštanog kukuruza. Tijekom skladištenja uzoraka došlo je do velikog gubitka u koncentraciji terpena (**Slika 12**).

Tablica 1 pokazuje da su u kremi od vina nađena 22 različita estera. Oni predstavljaju najveću skupinu hlapljivih spojeva arome i doprinose voćnoj aromi vina. Nastaju reakcijom acetil-CoA s višim alkoholima. Netretirano vino prije skladištenja sadrži najveću koncentraciju estera. Dodatak modificiranog škroba tapioke imao je najveći utjecaj na očuvanje estera u kremi od vina u odnosu na ostale modificirane škrobove. Netretirano vino je i nakon skladištenja imalo najveću koncentraciju estera, a dodatak modificiranih škrobova nije uspio očuvati estere u većoj koncentraciji u kremi od vina (**Slika 13**).

Od ostalih spojeva, u kremama od vina zadržan je 2,4 di-T-butilfenol koji djeluje kao antioksidans. U najvećoj koncentraciji prije skladištenja bio je u netretiranom vinu i kremi od vina s dodatkom modificiranog škroba krumpira. Nakon skladištenja došlo je do velikog gubitka navedenog spoja u kremama od vina (**Slika 14**).

Tvari boje

Fenolne tvari dospijevaju u vino iz tvrdih dijelova grozda tijekom maceracije kod proizvodnje crnih vina. Daju vinu karakterističnu boju, okus i trpkost, te imaju povoljne učinke na ljudsko zdravlje, jer blokiraju rad slobodnih radikala. Iz rezultata prikazanih na **Slici 15** vidi se da najveću koncentraciju polifenola ima kuhano vino, a najmanju netretirano vino. Nakon skladištenja koncentracija polifenola se smanjila u svim ispitivanim uzorcima.

Na **Slici 17** prikazane su i koncentracije antocijana u kremi od vina. Najveću koncentraciju antocijana prije skladištenja ima krema od vina s modificiranim škrobom krumpira, a najmanju netretirano vino. Nakon skladištenja, krema od vina s dodatkom modificiranog škroba voštanog kukuruza (WMMS) imala je najveće zadržavanje antocijana, a najmanje netretirano vino.

Antioksidacijska aktivnost u analiziranim uzorcima prikazana je na **Slici 16**. Sa slike se vidi da najveću vrijednost antioksidacijske aktivnosti prije i nakon skladištenja ima kuhano vino, a najmanju netretirano vino. Tijekom skladištenja došlo je do smanjenja antioksidacijske aktivnosti u svim uzorcima kreme od vina (**Slika 16**).

6.ZAKLJUČCI

Na osnovu rezultata dobivenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Dodatak modificiranih škrobova nije imao utjecaj na zadržavanje kiselina, terpena te aldehida i ketona u kremi od vina.

- Na očuvanje viših alkohola u kremi od vina najviše je utjecao dodatak modificiranog škroba tapioke prije i nakon skladištenja.

- Dodatak modificiranog škroba tapioke najviše je utjecao i na zadržavanje estera u kremi od vina.

- Na zadržavanje tvari boje utječu podjednako sva tri dodana modificirana škroba.

- Na temelju rezultata istraživanja dobiven je dublji uvid u mehanizam djelovanja različitih modificiranih škrobova kao dodataka koji omogućavaju bolje zadržavanje i očuvanje aromatičnih sastojaka tijekom priprave vinskih krema.

7. LITERATURA

Babić J: Utjecaj acetiliranja i dodataka na reološka i termofizikalna svojstva škroba kukuruza i tapioke. *Doktorski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2007.

Beltz H-D, Grosch W i Schieberle P: *Food* Chemistry. Springer, Berlin, 2009.

Bertolini AC: Starches: *Characterization, Properties, and Applications*. CRC Press, Boca Ration, London, New York, 2010.

Cerjan – Štefanović C, Drevenkar V, Jurišić B, Medić- Šarić M, Petrović M, Šegudović N, Švob V i Turina S: *Kromatografsko nazivlje*. HINUS i sekcija za kromatografiju HDKI, Zagreb, 1999.

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

Denyer K, Johnson P, Zeeman S i Smith AM: The control of amylose synthesis. *Journal of Plant Physiology*, 158:479-487, 2001.

Deur-Šiftar Đ: Chomatography. U *Nouvels Research Domine Composes of Macromolekulars*, Ceausecsu E (aut.), USA, 1973.

Hoover R: Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A review. *Carbohydrate Polymers* 45:253-267, 2001.

Horvat B: Od berbe do mladog vina. *Gospodarski list*; prilog prema knjizi Zoričić M: Domaće vino. Novinarsko nakladničko i trgovačko d.d., Zagreb, 15. rujan 2010.

Jakobi I: Proizvodnja crnih vina. *Diplomski rad*. Poljoprivredni fakultet Osijek, 2015.

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

Law J: *Od vinograda do vina.* Veble commerce, Zagreb, 2006.

Lebell F: Prepared food - New modified tapioca starch improve sauces and marinades. USA, 1995.

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 chemistry* 61:8504-8513, 2013.

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

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

MPS, Ministarstvo poljoprivrede RH: Pravilnik o fizikalno-kemijskim metodama analize mošta, vina, drugih proizvoda od grožđa i vina te voćnih vina. Narodne novine 106/04, 2004.

MPS, Ministarstvo poljoprivrede RH: *Pravilnik o označavanju vina oznakom sorte vinove loze*. Narodne novine 79/17, 2017.

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

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

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, Regata d.o.o. Zagreb, 2011.

Ough CS i Amerine MA: Phenolic Compounds. Methods for Analysis of Musts and Wines (2nd ed.). John Wiley & Sons Inc., New York, 1988.

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

Pichler A: Utjecaj dodataka i skladištenja na kvalitetu, reološka i termofizikalna svojstva paste od maline. *Doktorski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2011.

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

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

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

Singh N, Singh J, Kur L, Sing Sodhi N i Singh Gill B: Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry* 81:219-231, 2003.

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

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

Tester RF, Karkalas J i Qi X: Starch structure and digestibility enzyme-substrate relationship. *World's Poultry Science Journal* 60:186-195, 2004.

Tomljanović M: *Instrumentalne kemijske metode I. dio*. U.G HIJATUS, Zenica, 2000.

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

Vuković M: Utjecaj membranske filtracije na organoleptička svojstva vina sorte graševina. *Diplomski rad*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2000.

Zhang Z i Pawliszyn J: Headspace solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry* 64:1843-1852, 1993.

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

Web 1

http://www.courreges-wines.com/old/images/raisin-bordeaux-ev.jpg [30.08.2019.]

Web 2

http://studenti.ptfos.hr/Diplomski_studij/Tehnologija_vina/Tehnologija_vina/Tehnologija_vina/proizvodnja%20crnih%20vina.pdf [31.08.2019.]

Web 3

http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=59713 [01.09.2019.]

Web 4

https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/skrob 1.9 [02.09.2019.]

Web 5

http://www.rasadnik-jankovic.hr/loza/cabernet_sauvignon.html [03.09.2019.]