

# Promjene polifenolnog sastava i arome vina Cabernet Sauvignon kutjevačkog vinogorja nakon odležavanja u različitim vinskim posudama

---

Čolak, Kristina

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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:109:900404>

Rights / Prava: [Attribution-ShareAlike 4.0 International/Imenovanje-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-02**

REPOZITORIJ

PTFS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

**Kristina Čolak**

**PROMJENE POLIFENOLONOG SASTAVA I AROME VINA  
CABERNET SAUVIGNON KUTJEVAČKOG VINOGRJA  
NAKON ODLEŽAVANJA U RAZLIČITIM VINSKIM POSUDAMA**

**DIPLOMSKI RAD**

**Osijek, rujan, 2022.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI  
RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Prehrambeno-tehnološki fakultet  
Osijek  
Zavod za prehrambene  
tehnologije  
Katedra za  
prehrambeno inženjerstvo Franje  
Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

### Diplomski sveučilišni studij Prehrambenog inženjerstva

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija  
**Nastavni predmet:** Tehnologija vina  
**Tema rada** je prihvaćena na VIII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2021./2022. održanoj 27. svibnja 2022.  
**Mentor:** izv. prof. dr. sc. *Anita Pichler*  
**Pomoć pri izradi:** *Ivana Ivić, dr.sc.*

### Promjene polifenolnog sastava i arome vina Cabernet Sauvignon kutjevačkog vinogorja nakon odležavanja u različitim vinskim posudama

*Kristina Čolak, 0113141426*

#### Sažetak:

Jedne od najznačajnijih karakteristika vina predstavljene su kroz polifenolni sastav i arome vina. Polifenolni

spojevi pridonose razvoju arome, boje, ali također utječu na gorčinu i trpkost vina. Osim toga njihova prisutnost je poželjna zbog pozitivnog učinka na zdravlje. Arome vina se dijela na primarne, sekundarne i terciarne, a nastaju kombinacijom različitih kemijskih spojeva. Razvoj terciarne arome proizlazi iz procesa odležavanja vina, gdje vinske posude igraju značajnu ulogu. U ovom radu se ispitivao utjecaj različitih vinskih posuda na polifenolni sastav i aromu vina Cabernet sauvignon. Uzorci vina su podvrgnuti jednogodišnjem odležavanju u posudama od nehrđajućeg čelika, te u hrastovim barrique bačvama slabog (LT), srednjeg (MT) i jakog (HAT) paljenja. U svim uzorcima utvrđeni su isti aromatski i polifenolni spojevi, no u različitim koncentracijama. Također je izvršeno ispitivanje elemenata u tragovima, antioksidacijske aktivnost te parametara boje.

**Ključne riječi:** Polifenoli, arome vina, vinske posude, Cabernet Sauvignon

**Rad sadrži:** 48 stranica  
10 slika  
6 tablica  
0 priloga  
68 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** Hrvatski

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

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

**Datum obrane:** 27. rujna 2022.

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

**BASIC DOCUMENTATION  
CARD**

**GRADUATE  
THESIS**

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

**Graduate program of Food Engineering**

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food technology

**Course title:** Wine Technology

**Thesis subject** was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VIII.  
held on May 27, 2022.

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

**Technical assistance:** *Ivana Ivić*, dr.sc.

**The Changes in the Polyphenolic Composition and Aroma of Cabernet Sauvignon Wine  
from Kutjevo Vineyards After Aging in Different Wine Vassels**

*Kristina Čolak, 0113141426*

**Summary:**

One of the most significant characteristics of the wine is presented through the polyphenolic composition and aromas of the wine. Polyphenolic compounds contribute to the development of wines aroma, color of wine, but also affect the bitterness and astringency of wine. In addition, their presence is beneficial because of the positive effect on health. Wine aromas are categorized into primary, secondary and tertiary, and they are created by a combination of different chemical compounds. The development of the tertiary aroma is a result of the wine aging process, where the wine vessels play a significant role. In this work, the influence of different wine containers on the polyphenolic composition and aroma of wine Cabernet sauvignon was investigated. The wine samples were aged for one year in stainless steel vessels, and in oak barrique barrels of weak (LT), medium (MT) and strong (HAT) combustion. The same aromatic and polyphenolic compounds were found in all samples, but in different concentrations. Trace elements, antioxidant activity and color parameters were also tested.

**Key words:** Polyphenols, wine aroma, wine vessels, Cabernet Sauvignon

**Thesis contains:** 48 pages  
10 figures  
6 tables  
0 supplements  
68 references

**Original in:** Croatian

**Defense committee:**

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

**Defense date:** September 27, 2022.

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

# Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1. VINOVA LOZA</b> .....	<b>4</b>
2.1.1. Morfologija vinove loze .....	4
<b>2.2. CABERNET SAUVIGNON</b> .....	<b>6</b>
<b>2.3. PROIZVODNJA CRNIH VINA</b> .....	<b>7</b>
<b>2.4. KEMIJSKI SASTAV VINA</b> .....	<b>10</b>
2.4.1. Alkoholi .....	10
2.4.2. Kiseline .....	10
2.4.3. Ugljikohidrati .....	11
2.4.4. Esteri .....	11
2.4.5. Aldehidi i ketoni .....	11
2.4.6. Terpeni .....	11
2.4.7. Elementi u tragovima .....	12
2.4.8. Polifenolni spojevi .....	12
2.4.9. Antioksidacijska aktivnost .....	12
2.4.10. Aroma vina .....	13
<b>2.5. VINSKE POSUDE</b> .....	<b>14</b>
2.5.1. Barrique bačve .....	14
2.5.2. Posude od nehrđajućeg čelika (inox) .....	15
<b>2.6. KROMATOGRFSKE METODE</b> .....	<b>16</b>
2.6.1. Plinska kromatografija (GC) .....	17
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>19</b>
<b>3.1. ZADATAK</b> .....	<b>20</b>
<b>3.2. MATERIJALI</b> .....	<b>20</b>
3.2.1. Vino Cabernet sauvignon .....	20
3.2.2. Kemikalije .....	20
<b>3.3. METODE</b> .....	<b>21</b>
3.3.1. Određivanje elemenata u tragovima .....	21
3.3.2. Određivanje aromatskog profila .....	22
3.3.3. Određivanje ukupnih polifenola .....	25
3.3.4. Određivanje ukupnih flavonoida .....	25
3.3.5. Određivanje monomernih antocijana .....	25
3.3.6. Određivanje polimerne boje .....	26
3.3.7. Određivanje antioksidacijske aktivnosti .....	27
3.3.8. Određivanje boje u CIELab sustavu .....	28
3.3.9. Statistička obrada podatak .....	29
<b>4. REZULTATI</b> .....	<b>31</b>
<b>4.1. TABLIČNI I GRAFIČKI PRIKAZ DOBIVENIH REZULTATA</b> .....	<b>31</b>
<b>5. RASPRAVA</b> .....	<b>36</b>
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>41</b>
<b>7. LITERATURA</b> .....	<b>43</b>

## Popis oznaka, kratica i simbola

ABTS	2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin sulfonska kiselina)
CUPRAC	<i>eng. cupric-reducing antioxidant capacity</i>
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
FRAP	<i>eng. ferric-reducing(antioxidant power assay</i>
GC-MS	plinska kromatografija s masenom spektrometrijom ( <i>eng. gas chromatography – mass spectrometry</i> )
HAT	jako paljena bačva ( <i>eng. heavy toast</i> )
IAASTD	Međunarodna procjena poljoprivrednog znanja, nauke i tehnologije za razvoj ( <i>eng. International Assessment of Agricultural Scienc and Technology for Development</i> )
LT	lagano paljena bačva ( <i>eng. light toast</i> )
MT	srednje paljena bačva ( <i>eng. medium toast</i> )
SPME	mikroekstrakcija na čvrstoj fazi ( <i>eng. solid-phase microextraction</i> )

## **1. UVOD**

Vino predstavlja alkoholno piće duge i bogate povijesti, smatra se da je postojalo i prije pisanih zapisa, no najstariji arheološki dokazi vezani za proizvodnju vina pronađeni su u Kini, prije otprilike 7000 godina prije Krista. Zakon o vinu (NN 32/19) definira vino kao poljoprivredno prehrambeni proizvod, koji se dobiva potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta, prilikom čega se upotrebljava svježje i za preradu pogodno grožđe. Kompleksnog je sastava, a kao glavni sastojci se ističu: voda, etanol, šećeri, kiseline, viši alkoholi, hlapivi aromatski spojevi, bioaktivne komponente i mineralne tvari (Ivić i sur., 2021a).

Kvaliteta vina podrazumijeva niz faktora, odnosno elemenata, koji na određene načine doprinose formiranju temeljca, a zbroj njih rezultira vrhunskom kvalitetom vina. Čimbenici koji utječu na kvalitetu su prvenstveno prirodni faktori kao što su tlo, klima, reljef, nadmorska visina, geografska širina te blizina velikih vodenih površina, zatim sorta grožđa te na kraju ljudski faktor. Nutritivno siromašna i kamenita tla su poželjna u vinogradarstvu jer daju vinovu lozu bolje kakvoće u odnosu na plodna, duboka i vlažna tla. Sorta grožđa je ključna pri određivanju karaktera vina jer utječe na prinos grožđa, sadržaj šećera, sastav i sadržaj kiselina, fizikalno-kemijska i senzorska svojstva vina, aromu, sadržaj polifenola, boju i okus. Znanje vinogradara i enologa od velikog je značaja u procesima fermentacije, filtriranja, bistrenja, miješanja sorti te odabira vrste bačve za odležavanje. Odležavanje vina u hrastovim bačvama rezultira vinima sa taninima i aromom drveta, što doprinosi njihovoj kompleksnosti. Zrak ulazi kroz pore drveta i omogućuje ubrzano sazrijevanje, no nisu sva vina pogodna za ovaj način sazrijevanja. Primjerice, bijela vina ne posjeduju tanine, krhka su, te sazrijevaju u čeličnim posudama (Pichler, 2018).

Među najpoznatiju vinsku sortu crnog grožđa u svijetu ubraja se Cabernet sauvignon, nastala je križanjem grožđa sorti cabernet franca i sauvignona bijeloga. Spomenuta sorta uspijeva u cijelom svijetu zbog prilagodljivosti različitim tlima, te otpornosti na različite štetočine i bolesti. Karakteristike vina su crvena boja, bogatstvo taninima i sortnim aromama, a ovisno o berbi, arome mogu varirati od biljnih do aroma bobičastog voća, udio šećera se kreće od 20 - 24%, a ukupnih kiselina od 5 – 8 g/L (Stein i sur., 2018; Tao i sur., 2009).



Cilj rada je bio ispitati utjecaj različitih vinskih posuda na polifenolni sastav i aromu vina Cabernet sauvignon. U tu svrhu, nakon provedene alkoholne fermentacije vino Cabernet sauvignon je odležavalo u posudi od nehrđajućeg čelika, te u hrastovim barrique bačvama slabog (LT), srednjeg (MT) i jakog paljenja (HT) kroz dvanaest mjeseci. Po završetku jednogodišnjeg odležavanja, uzeti su uzorci vina u kojima je određivan polifenolni sastav i aroma te je izvršeno međusobno uspoređivanje. Polifenoli, antocijani i antioksidacijska aktivnost određeni su primjenom spektrofotometrije, a aromatski profil primjenom instrumentalne plinske kromatografije i mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME). U radu je korišten plinski kromatograf tvrtke Agilent 7890 B s maseno-selektivnim detektorom Agilent 5977.



## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. VINOVA LOZA

Vinova loza (*Vitis vinifera*) pripada porodici *Vitaceae* ili *Ampelideae*, rodu *Vitis*-u, koji se dijeli na dva podroda, *Muscadinia* i *Euvitis*. U podrod *Euvitis* se ubrajaju: sjevernoameričke (30 vrsta), istočnoazijske (40 vrsta) i euroazijske vrste. Sjevernoameričke se uglavnom koriste kao podloge, budući da su otporne na filkoseru i niske temperature, dok se istočnoazijske najčešće upotrebljavaju za ukrasne svrhe. Euroazijsku vrstu čini samo *Vitis vinifera*, a dijeli se na dvije podvrste: *Vitis vinifera L. subsp. Sylvestris* i *Vitis vinifera L. subsp. Vinifera* (Maletić i sur., 2008).

Smatra se jednom od najstarijih uzgajanih biljaka. Prvotna staništa ove biljke zauzimaju područja oko Kaspijskog mora i Mezopotamije, otkud se uzgoj širi u tri pravca, istočno prema Indiji, južno prema Palestini i Egiptu, te zapadno prema Balkanskom poluotoku i Zapadnoj Europi. Zbog svoje prilagodljivosti, danas je prisutna na svim kontinentima osim na Antartici (Keser, 2019).

### 2.1.1. Morfologija vinove loze

Čokot ili trs je naziv za svaku pojedinu biljku vinove loze, a dijeli se na podzemni i nadzemni dio. U podzemni spada korijen, dok se u nadzemni ubrajaju: stablo s krakovima i ograncima, zapreci, rozgva, pupovi, cvjetovi, cvatovi, listovi, grozdovi i bobice. Svi navedeni organi imaju određene funkcije, uloga vegetativnih organa je opskrba vodom, hranjivima, također i njihovo skladištenje, te sinteza asimilata, dok su generativni organi zaduženi za razmnožavanje (Blesić i sur., 2013; Maletić i sur., 2008).

Uloga korijena je višestruka, osim što pruža čvrstoću i stabilnost stablu, također omogućuje prijenos vode i hranjivih tvari iz tla, te omogućuje njihovo skladištenje. Korijen razvijen iz sjemenke naziva se pravi, odnosno generativni korijen, te se ovaj način razmnožavanja koristi prilikom proizvodnje novih kultivara, ali također se može razviti i iz vegetativnih organa. Proljeće i jesen su doba kada korijen postiže svoj intenzivan rast, te mu je u navedenom razdoblju potrebno opskrbiti dovoljno hranjivih tvari i vode. Također, u ovom periodu srednja dnevna temperatura zraka ima bitnu ulogu (Keller, 2015; Maletić i suradnici., 2008; Keser, 2019).

Stablo se razvija iz zimskih pupova, vegetativnim putem, a uključuje dio od razine tla, pa sve

do mjesta grananja. Sadrži krakove i ogranke, a u periodu vegetacije, mladice i lišće. U stablu

se sadržani snopovi koji omogućuju transport hranjivih tvari i vode. Visina i debljina ovise o različitim čimbenicima (podlozi, načinu uzgoja i sl.) (Mirošević, 1996).

Iz pupova smještenih na trsu razvijaju se mladice. Mogu biti rodne ili nerodne. Rodne mladice sadrže cvatove koji se razvijaju u grozdove. Mladice se dijele na čvorove i internodije, a čvorovi sadrže važne organe poput lista, zimskih pupova, ljetnih pupova i grozda. Na početku vegetacije su zelene boje, a smeđa, narančasta i žuta boja označavaju kraj vegetacije. U periodu jeseni lišće opada s njih, te one postaju jednogodišnje drvo (Licul i Premužić, 1993).

Pupovi vinove loze dijele se na zimske, ljetne i spavajuće. U istoj godini se razvijaju i ljetni i zimski pupovi, ali s obzirom na to da ljetni nisu rodni, najčešće se odstranjuju. Zimski se formiraju u pazušcu lista prilikom vegetacije, pokriveni su sa dva lista, koja sadrže smolastu tvar te imaju ulogu zaštite od mogućih oštećenja i vlage. Spavajući pupovi su uklopljeni u drvo i u inaktivnom su obliku dok se ne stvore povoljni uvjeti za pupanje (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008).

Listovi po veličini mogu biti: mali (10-12 cm), srednji (17-20 cm) i veliki (> 20cm). Smješteni su na koljencu mladice, a sadrže peteljku i plojku, naličje im je zelene boje i prekrivno je dlačicama. Njihova uloga je od velikog značaja jer se u kloroplastima lista obavlja proces fotosinteze, odnosno proizvodnja ugljikohidrata iz vode, CO<sub>2</sub> i sunčeve energije, a također omogućuju procese disanja i transpiracije. Osim toga, pore preko koji se obavljaju navedene funkcije predstavljaju slabu točku jer je preko njih biljka izložena gljivičnim parazitima. Pomoću oblika lista loze vrši se sistematizacija na skupine i podskupine, svaka pojedinačna sorta ima specifičan oblik (Maletić i sur., 2008).

Cvat označava skup svjetova koji imaju oblik grozda, a formiraju se u zimskim ili ljetnim pupovima. Na jednom cvatu može se nalaziti od 100 do 1500 cvjetova u ovisnosti o kultivaru. Cvjetovi su sitni, pravilnog oblika i u većini slučajeva hermafroditi, sastoje se od čaška, vjenčića, prašnika, žlijezde nektarije i tučka (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008).

Budući da je vinova loza biljka penjačica, sadrži vitice koje omogućavaju pričvršćivanje uz žicu. Vitice se smatraju zakržljanim grozdovima, jer se kod nekih na vrhovima mogu pojaviti cvjetovi. Prilikom vegetacije dolazi do njihova odrvenjivanja i posmeđivanja (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008).

Nakon oplodnje iz cvata nastaje grozd koji je građen od bobica i peteljki. Prema

obliku ga

dijelimo na valjkasti, stožasti, valjkasto-stožasti, krilati i nepravilni, prema veličini na mali,

srednje velik, velik i vrlo veliki, te prema zbijenosti na vrlo zbijen, zbijen, rastresit i vrlo rastresit

(Mirošević, 1996).

Bobica je građena od kožeće, mesa i sjemenki. Oblik bobice može biti okrugao, plosnat, jajolik, ovalan, elipsoidan i sl., dok se po veličini dijeli na vrlo velike (> 24 mm), velike (18-24 mm), srednje (12-18 mm), male (6-12 mm) i vrlo male (<6 mm). Bobice mogu biti različite boje, a najčešće zastupljene boje su: tamnoplava, ljubičasta, zelena i žuta. Udio pojedinih dijelova bobice ovisi o sorti, a u principu najveći udio zauzima meso (75 - 85%). Rast započinje završetkom oplodnje, a traje do fiziološke zrelosti. Svaka bobica sadrži četiri sjemenke, međutim, ukoliko je oplodnja nepotpuna navedeni broj može varirati. Također, postoje i besjemene bobice i pretežno se koriste pri proizvodnji groždica (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008; Maletić i sur., 2008).

## 2.2. CABERNET SAUVIGNON

Cabernet sauvignon (**Slika 2**) ističe se kao jedna od najpoznatijih svjetskih sorti grožđa za proizvodnju crnog vina. Njezini korijeni potječu iz Francuske, točnije regije Bordeaux, gdje se uzgaja još od 17. stoljeća. Nastala je križanjem dvije bordoške sorte, cabernet franc i sauvignon blanc (Bowers i Meredith, 1997). U Republici Hrvatskoj se uzgaja u mnogobrojnim podregijama: Moslavini, Podunavlju, Slavoniji, Plešivici, Prigorju i Primorskoj Hrvatskoj. Neke od karakteristika sorte su:

- Snažan rast;
- Zaobljeni listovi (rubovi listova karakteristične crvene boje);
- Dvospolni cvjetovi;
- Grozd je cilindrično-koničnog oblika, dužine 15 cm i širine 8 cm;
- Tamnoplava boja bobica, okrugao oblik, promjer 12 -15 mm, sočnost i slatki okus, miris  
ribizle;
- Otpornost na bolesti;
- Dobar urod.

Vino dobiveno preradom ove sorte obiluje aromama, kiselinama, alkoholima i bioaktivnim spojevima. Note koje karakteriziraju ovo vino su: crni ribiz, borovnica, višnja, tamna čokolada i džem od šljiva (Mirošević i Turković, 2003).



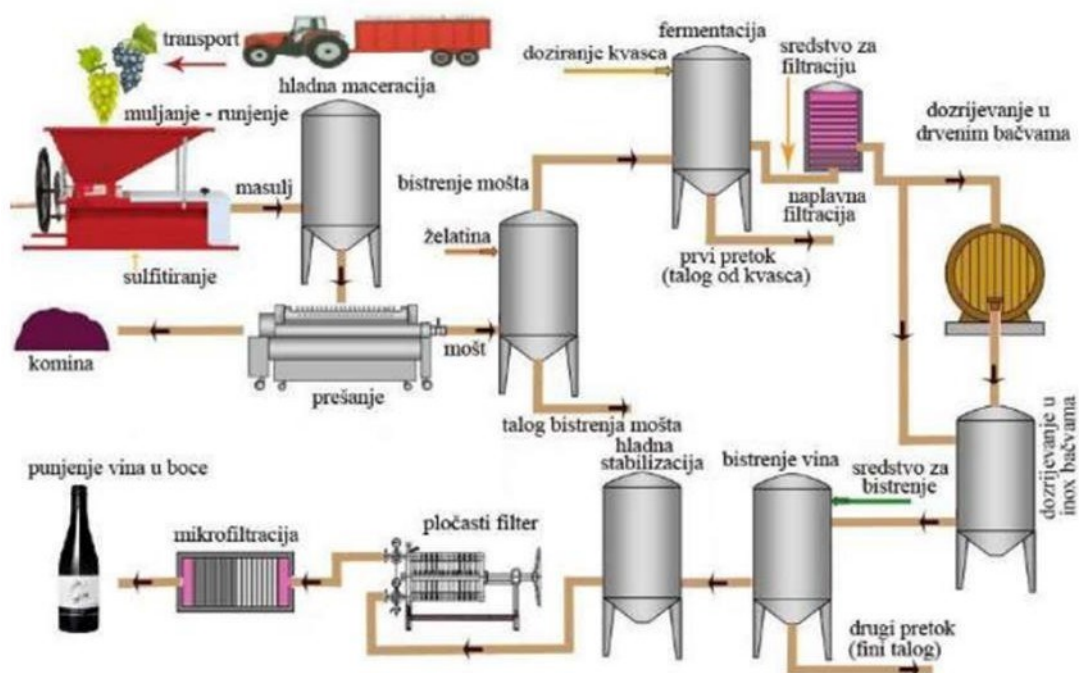
**Slika 1** Grozd sorte cabernet sauvignon (Web 1)

### 2.3. PROIZVODNJA CRNIH VINA

Tehnološki proces proizvodnje crnih vina prikazan je **Slikom 2**, a sastoji se od sljedećih procesa:

- Muljanje- runjenje grožđa;
- Maceracija masulja;
- Sumporenje;
- Dodavanje selekcioniranih kvasaca;
- Alkoholne fermentacije masulja;
- Prešanja masulja i otakanja mošta;
- Završne alkoholne fermentacije i eventualno malolaktična;
- Otakanja mladog vina s taloga;
- Bistrenja;
- Odležavanja (Ivić, 2022).





**Slika 2** Shematski prikaz procesa proizvodnje vina (Ivić, 2022)

Peteljke obiluju taninima i svojom prisutnošću pridonose gorčini mošta, stoga se provodi runjenje, odnosno proces odvajanja peteljki od bobica. Prilikom ovog procesa bitno je da se sjemenke, peteljke i pokožica ne zdrobe, jer oni predstavljaju nosioce tanina (Mirić, 2015).

Muljanjem se provodi gnječenje grožđa, a cilj je razdvajanje čvrste i tekuće faze. Po završetku se dobiva groždani sok (masulj) koji u svom sastavu sadrži i čvrste dijelove bobica, nakon muljanja bitno je provesti sumporenje. Zadaća sumporenja je sprečavanje kvarenja, oksidacijskih reakcija, nekontroliranog vrenja, ali i ubrzavanje procesa taloženja. Količina sumpora koji se dodaje prvenstveno ovisi o zdravstvenom stanju grožđa, zatim o zrelosti, sastavu i temperaturi mošta (Tomas i Kolovrat, 2011; Grainger i Tattersall, 2005).

Maceracija se provodi u svrhu ekstrakcije tanina, aromatskih i fenolnih spojeva, te mineralnih tvari koje se nalaze u čvrstim dijelovima bobica, osim toga ovim postupkom se dobiva željena boja vina. Temperatura predstavlja vrlo važan faktor u ovom procesu, viša temperatura pospješuje ekstrakciju, a u praksi se najčešće upotrebljavaju temperature od 20 – 25 °C (Claus, 2019; Romero-Cascales i sur., 2005; Tomas i Kolovrat, 2011).

Prvobitna uloga selekcioniranih kvasaca je fermentiranje glukoze, odnosno pospješivanje alkoholne fermentacije. Također, pojedini sojevi mogu izlučivati hidrolitičke i pektolitičke enzime koji u konačnici utječu na aromu vina. Uglavnom se koriste kvasci iz roda *Saccharomyces cerevisiae*, a neke od prednosti spomenutog kvasca su podnošenje visokih koncentracija alkohola (do 18 vol%) i brzo taloženje (Banović, 2020; Divol i Bauer, 2010).

Alkoholna fermentacija označava ključni proces u proizvodnji vina, odvija se bez prisustva kisika, a cilj je pretvorba šećera u etanol i ugljikov dioksid uz pomoć kvasca. Osim glavnih produkata, etanola i CO<sub>2</sub>, također nastaju i sporedni produkti poput glicerola, viših alkohola, acetaldehidi, esteri, organske kiseline i dr. Ključnu ulogu ima temperatura jer upravo o njoj ovisi tijek fermentacije. Idealna temperatura kreće se od 18 – 25 °C, kod nižih temperatura (< 12 °C) neće doći do degradacije, dok pri višim temperaturama (> 30 °C) dolazi do naglog stvaranja CO<sub>2</sub>, što dovodi do gubitka aromatičnih tvari i alkohola (Krušelj, 2014).

Po završetku alkoholne fermentacije, nužno je obaviti pretakanje mošta kako bi vino zadržalo svježinu, boju, okus i zadovoljavajuću kiselost. Prilikom pretoka koriste se isključivo čiste bačve, te se pretok obavlja u dezinficiranim podrumskim prostorijama. Dezinfekcija se provodi paljenjem sumpornih traka ili praškastog sumpora. Ovisno o stanju vina, pretok se može obaviti bez prisustva zraka ili uz lagano, srednje i jače zračenje. Vina sklona posmeđivanju prije pretakanja se podvrgavaju sumporenju (10 - 15 g kalijeva metabisulfita na 100 L vina), osim toga preporuka je dodavanje 2 – 5 g askorbinske kiseline koja ima ulogu antioksidansa.

Nakon pretakanja slijedi tiho vrenje i, ukoliko je potrebna, malolaktična fermentacija. Tihim vrenjem preostala količina neprevrelog šećera se prevodi u etanol i uslijed smanjene aktivnosti kvašćevih stanica, koja dovodi do autolize, dušični spojevi prelaze u vino. Malolaktična fermentacija je neophodna u godinama kad mlado vino sadrži veliku količinu ukupnih kiselina, zbog čega vino ima grub i neharmoničan okus. Malolaktičnom fermentacijom jabučna kiselina prelazi u mliječnu, vina postaju pitkija, a aroma složenija. Provode ju bakterije iz rodova *Lactobacillus* i *Leuconostoc*, proces se provodi pod nadzorom (Jakobi, 2015; Grainger i Tattersall, 2005).

Mlado vino nakon prvog pretoka se podvrgava bistrenju, jer je uglavnom mutno zbog koloidnih čestica. Obzirom na vrstu mutnoće vrši se odabir sredstava za bistrenje, a najčešće se upotrebljavaju: bentonit, želatina i tanin. Moguće je provesti i filtriranje u

svrhu bistrenja (Jakobi, 2015).

Za kraj vino se puni u bačve od drveta (barrique bačve) ili inox posude, gdje slijedi faza odležavanja kako bi vino razvilo određene arome i ostvarilo svoj puni potencijal. Zadnji korak je punjenje u određeni ambalažni materijal (stakle, plastične boce, tetrapake i sl.)(Tao i sur., 2014).

## **2.4. KEMIJSKI SASTAV VINA**

### **2.4.1. Alkoholi**

Sukladno Pravilniku o proizvodnji vina (NN 2/05), alkoholna jakost vina kreće se u rasponu od 8,5 - 14 vol. %. Najzastupljeniji alkohol u vinu je etanol, slijede ga metanol i glicerol te viši alkoholi. Etanol je produkt alkoholne fermentacije, ima organoleptičku ulogu, a zahvaljujući njemu vina su trpka, viskozna, punog okusa, voćne arome i slatkasta. Metanol nastaje iz pektinskih spojeva, koji se nalaze u bobicama, a najviše su zastupljeni u kožici. Budući da je otrovan i može dovesti do smrtnog ishoda, koncentracija ovog alkohola je pod pojačanim nadzorom. Uloga glicerola je povećanje viskoznosti, kvalitete, punoće i slatkoće okusa. Koncentracija ovisi o upotrijebljenom soju vinskog kvasca i količini šećera u moštu, a smanjuje se odležavanjem vina. Viši alkoholi su zastupljeni u jako malim količinama (do 400 mg/L), poboljšavaju aromu vina, a neki od njih su: izoamil, izobutil, heksan-1-ol, propan-1-ol i dr. (Hodson i sur., 2017; Moreno i Peinado, 2012; Yue i sur., 2014; Jackson, 2008).

### **2.4.2. Kiseline**

Količina kiselina prema Pravilniku o proizvodnji vina (NN 2/05) iznosi od 4-14 g/L. Kiseline zastupljene u vinu se dijele na hlapljive i nehlapljive, te se njihova koncentracija mijenja kroz proces proizvodnje. Predstavnicima hlapljivih kiselina u moštu su: vinska, jabučna, limunska i jantarna. Vinska kiselina se izdvaja kao najznačajnija kiselina, udio iznosi od 0,5 - 2 g/L. U hlapljive kiseline ubrajamo: octenu, propionsku, maslačnu i karboksilne kiseline. Doprinosu razvoju mirisa vina prilikom hlapljenja na sobnoj temperaturi. Prisutnost određenih kiselina može ukazivati na kvarenje vina, primjerice octena kiselina u većim koncentracijama (> 0,9 g/L) dovodi do octikavosti (Alpeza, 2008; Francesco, 2017; Lin i sur., 2019).

### 2.4.3. Ugljikohidrati

U ugljikohidrate koje pronalazimo u vinu i moštu ubrajamo šećere, pektine i polisaharide. Šećeri nastaju fotosintezom, a njihov udio ovisi o sorti i zrelosti grožđa, klimi, temperaturi i sl. Najznačajniji su glukoza i fruktoza, predstavljaju fermentirajuće šećere, alkoholnom fermentacijom se prevode u etanol i CO<sub>2</sub>, međutim nekad se ne prevede sva količina, što doprinosi slatkastom okusu vina. Strogo je zabranjeno naknadno dodavanje šećera, dok su izuzetak neka specijalna vina. Pektine najviše pronalazimo u kožici, oni tijekom procesa maceracije prelaze u mošt, a zatim u vino. Udio šećera kod kvalitetnih sorti iznosi od 18 – 22%, a kod visokokvalitetnih od 22 - 28 % (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008; Alpeza, 2008; Prce, 2014).

### 2.4.4. Esteri

Esteri koje pronalazimo u vinu dijelimo na dvije skupine, na one koji nastaju tijekom fermentacije i one koji nastaju u procesima dozrijevanja. Prilikom fermentacije nastaju kao produkti metabolizma kvasca, a u njih ubrajamo estere viših alkohola i etil estere masnih kiselina. Odgovorni su za voćnu aromu i svježinu vina. Tijekom odležavanja njihova se koncentracija smanjuje zbog svojstva hlapljenja. Najzastupljeniji su: etil-acetat, etil oktanoat, dietil-sukcinati dr. (Alpeza, 2008).

### 2.4.5. Aldehidi i ketoni

Aldehyde i ketone ubrajamo u karbonilne spojeve, a u vinu su značajni zbog utjecaja na aromu. Metional je aldehyd koji svojom aromom podsjeća na kuhani krumpir, heksan daje aromu citrusne jabuke, dok fenilacetaldehyd i heksicinamaldehyd doprinose sa cvjetnim aromama. Kao najzastupljeniji se izdvaja acetaldehyd. Što se tiče ketona, u vinu su zastupljeni u znatno manjim koncentracijama, a najprisutniji su: diacetil, aceton i acetoin. Njihova prisutnost u vinu u nižim koncentracijama daje aromu svježeg maslaca, dok prisutnost u većim količinama stvara aromu užeglosti (Jackson, 2008; Moreno i Peinado, 2012).

### 2.4.6. Terpeni

Terpene u vinu pronalazimo u dva oblika, kao slobodne (hlapljive) i vezane (bez mirisa). U vinu su prisutni u relativno malim koncentracijama, a predstavljaju nositelje primarne arome.

Uglavnom ih pronalazimo u vezanom obliku, koji prvobitno ne utječe na miris vina. Međutim, starenjem vina dolazi do kidanja veza i oslobađanja terpena, što rezultira stvaranjem arome. Također, nevezani terpeni mogu stupiti u reakcije, što dovodi do gubitka specifične arome koja podsjeća na cvijeće i voće (Alpeza, 2008).

### **2.4.7. Elementi u tragovima**

Dva su moguća načina dospijevanja elemenata u tragovima u grožđe, odnosno vino, a to su, putem tla, te kontaktom proizvoda s metalnim predmetima. Količina koja dospijeva putem tla ponajprije ovisi o vrsti tla, količini kemikalija koja je dodavana u svrhu zaštite od različitih bolesti, sorti i sličnim čimbenicima. Neki od elemenata su: aluminij, elementarni sumpor, olovo, željezo, živa, kadmij, bakar, kalij, natrij i dr. Neki od navedenih su poželjni, dok većina predstavlja opasnost (Jackson, 2008; Tariba, 2011).

### **2.4.8. Polifenolni spojevi**

Polifenoli su spojevi koji nastaju metabolizmom biljaka, utječu na okus i boju prehrambenih proizvoda, a najčešće se spominju zbog svoje antioksidacijske aktivnosti. Glavne karakteristike ovih spojeva su hidroksilne skupine vezane na cikličke aromatske prstenove. Dijelimo ih na flavonoide i neflavonoide. U vinu su prisutniji kod crnih sorti, nego kod bijelih. U flavonoide ubrajamo flavanole, katehine i antocijane. Flavanoli su zaslužni za žute pigmente, dok antocijani pridonose crvenim, plavim i ljubičastim obojenjima. Kod neflavonoida se ističu stilbeni, antocijanidini, proantocijanidini, hidroksibenzojeva kiselina i hidroksicimetne kiseline. Njihova uloga u vinu je vezanje za obojene flavonoide, odnosno povećanje njihove stabilnosti te antioksidacijski utjecaj (Ivić, 2022).

### **2.4.9. Antioksidacijska aktivnost**

Poznato je da antioksidansi vežu slobodne radikale, čime sprečavaju oksidacijske procese u organizmu i onemogućavaju razvoj različitih bolesti. Slobodni radikali predstavljaju molekule sa nesparenim elektronima zbog čega su jako reaktivni. Zahvaljujući redukcijskoj moći antioksidansa, odnosno sposobnosti darivanja elektrona dolazi do neutralizacije slobodnih radikala i inhibiranja njihove aktivnosti. Antioksidacijska aktivnost u vinu proporcionalna je udjelu polifenola, fenolnih spojeva, također ovisi o njihovim interakcijama. (Cedilak, 2016).

Kod crnih i bijelih vina koncentracija i sastav polifenola se drastično razlikuje, **Tablicom 1** su prikazane razlike.

**Tablica 1** Razlike u koncentracijama fenolnih spojeva kod crnih i bijelih vina (De Beer i sur., 2002)

Fenolni spojevi	Koncentracija ( mg/L)	
	Crvena vina	Bijela vina
Vina		
Neflavonoidi	240 – 500	160 - 260
Hidroksibenzojeva kiselina	0 – 260	0 - 100
Hidroksicinamatna kiselina	143,1 (74,1 - 226)	130 - 154
Reseveratrol	1,2 (0,09 - 3,2)	0,04 (0 - 0,1)
Flavonoidi	750 – 1060	25 - 30
Flavanoli	127,8 (65,3 - 238,3)	U tragovima
Katehini	208,8 (27,3 - 557)	11,5 (2 - 29)
Antocijani	270,9 (39,4 - 469)	0
Ukupno	1686.4 (700 - 4059)	177,6 (96 - 331)

#### 2.4.10. Aroma vina

Arome u vinu se dijele na primarne, sekundarne i tercijarne, a nastaju kombinacijom različitih kemijskih spojeva (aldehida, ketona, estera, terpena i dr.). U početnoj sirovini, grožđu, su sadržane jedne arome, a tehnološkim postupkom prerade se razvijaju sasvim druge arome, koje pronalazimo u konačnom produktu, vinu. U primarne arome grožđa ubrajamo aromatske spojeve zastupljene u grožđu pomoću kojih razlikujemo sorte. Nastaju u procesima zrenja, a najviše su zastupljeni u pokožici, te procesom maceracije završavaju u moštu. Sekundarne arome se formiraju u procesima fermentacije, radom kvasaca i bakterija mliječno kiselog vrenja. Njihovim metabolizmom se stvaraju mnogobrojni sekundarni produkti koji utječu na aromu vina (viši alkoholi, etil esteri, aldehidi, monoterpenski alkoholi i dr.)

Odležavanjem vina



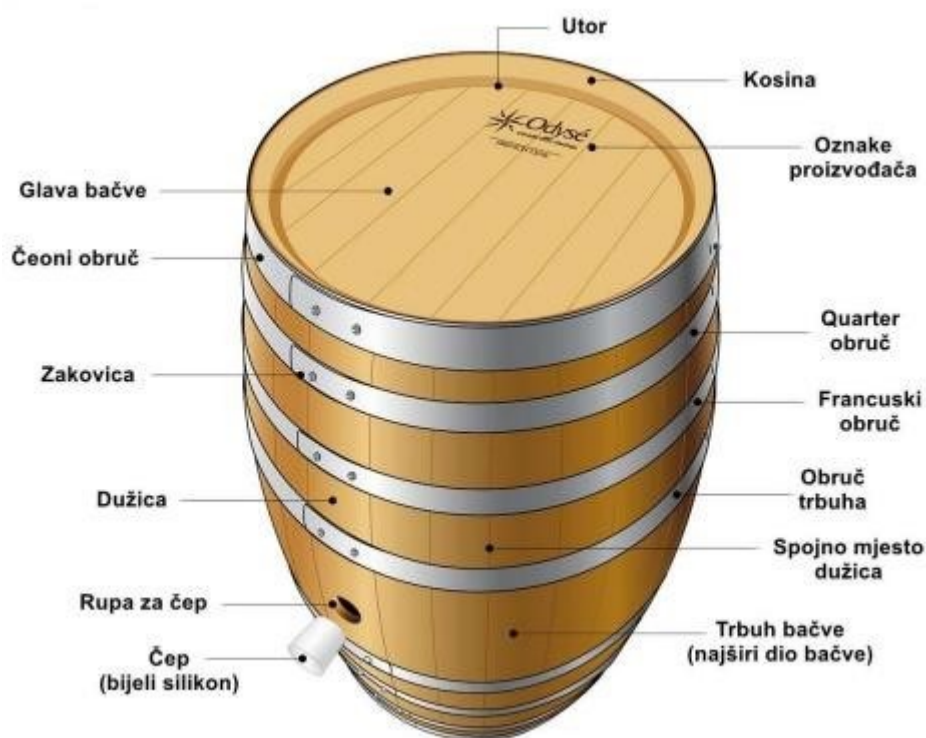
u drvenim bačvama dolazi do razvoja tercijarne arome. Višebrojn timeri kemijkim mehanizmima se razvijaju novi spojevi koji pridonose aromi vina (Ivić, 2022).

## 2.5. VINSKE POSUDE

### 2.5.1. Barrique bačve

Jedan od najstarijih načina dozrijevanja vina je u drvenim bačvama (**Slika 3**). Bačve se proizvode od hrastovog drveta, pri čemu značajnu ulogu igraju vrsta i podrijetlo hrasta. Uglavnom se koristi bijeli hrast (*Quercus alba*), podrijetlom iz Sjeverne Amerike, te hrast lužnjak (*Quercus robur*) i hrast kitnjak (*Quercus petraea*) iz Francuske. Karakteristike hrasta iz Amerike je povećana koncentracija cis-laktona, odgovornog za kokosovu i drvnu aromu, dok su bačve izrađene od francuskog hrasta dosta poroznije što rezultira većom propusnosti kisika (Tao i sur., 2014; Crump, 2015). Nedostatak svojstva poroznosti je sposobnost drveta da upija vino i hlapljenja vina kroz pore. Stoga se mora provoditi proces nadopunjavanje bačvi. Gubitak vina ovisi o uvjetima u podrumu, a smatra se da su gubitci otprilike 2 – 6 % tijekom godine (Margalit, 2012). Također procesi zrenja i tostiranja, odnosno paljenja bačvi od velikog su značaja. Dolazi do smanjenja vlažnosti drveta, uklanja se gorčina i trpkost, te razvija aroma drveta. Paljenje bačvi se može provesti na 3 načina, a to su: lagano paljenje (LT), srednje paljenje (MT) i jako paljenje (HAT). O načinu paljenja ovise karakteristike vina, pa tako vino koje dozrijeva u lagano paljenim bačvama siromašno je aromama, a bogato taninima. Kod srednje paljenih bačvi u vinima se razvija aroma vanilije, a kod jako paljenih aroma dima i pikantnost (Tao i sur., 2014). Za nastanak arome vanilije odgovoran je proces karamelizacije celuloze i furana koji se odvija pri točno određenoj temperaturi i u kratkom vremenu (Clark i sur., 2004). Reakcijama kondenzacije i polimerizacije između tanina i antocijanina povećava se stabilnost, poboljšava okus i struktura vina, vino poprima stabilniju boju i manje je trpko. Značajni hlapljivi spojevi koji u procesima dozrijevanja prelaze iz bačve na vino i pridonose aromi vina su: furfurali (aroma na badem), gvajakol (aroma na dim/zapaljeno), eugenol (aroma na začine) i već spomenuta aroma na vaniliju proizlazi iz vanilina (Gambut i sur., 2012; Crump, 2015). Iako se ovim načinom dozrijevanja dobiva visoko kvalitetan i specifičan proizvod, postoje i određeni nedostaci. Dugotrajnost procesa je jedan od većih nedostataka, neka vina dozrijevaju od 3-5 mjeseci, dok neka zahtijevaju dozrijevanje od 3-5 godina, a nekad i duže. Osim toga bačve zauzimaju velik prostor, prilično su skupe, zahtijevaju određenu njegu i imaju rok trajanja.

Preporuka je da se bačve koriste do 3 godine, a nikako duže od 5 godina. Sa starosti bačve raste rizik od kontaminacije s nepoželjnim mikroorganizama, primjerice mikroorganizam *Brettanomyces* proizvodi velike količine etilfenola koji daje miris po konjskom znoju. Također, starenjem se smanjuju pore odgovorne za difuziju kisika (Gómez-Plaza i Cano-López, 2011; Tao i sur., 2014).



**Slika 3** Barrique bačva za dozrijevanje vina (Kalogjera, 2020)

### 2.5.2. Posude od nehrđajućeg čelika (inox)

Današnja proizvodnja vina bila bi gotovo nezamisliva bez inox posuda. Najčešće se izrađuju od nehrđajućeg ili običnog čelika, te aluminiija. Unutrašnja strana nehrđajućeg čelika se posebno obrađuje kako ne bi došlo do interakcija sa vinom. Kako bi se izbjeglo nakupljanje vinskog kamena provodi se poliranje i završna obrada limova, što ujedno olakšava i čišćenje. Neke od prednosti u odnosu na drvene bačve su: ekonomičnost, jednostavno održavanje, neograničen rok trajanja, prilagodljivost oblika te otpornost na kiseline iz vina. Spremnici mogu biti različitih oblika, a po konstrukcijskoj izvedbi otvorenog i zatvorenog tipa. Čišćenje je vrlo jednostavno, većina vinarija vrši ispiranje spremnika sa vrelom vodom, no također se mogu koristiti blaga neutralna kemijska sredstva, ukoliko je to potrebno. Nakon čišćenja obavlja se sterilizacija

vodenom parom. Neki od najčešće korištenih spremnika su: zatvoreni (**Slika 4**), izolirano zatvoreni, tlačni i otvoreni spremnik. Prilikom procesa fermentacije i čuvanja vina koristi se zatvoreni spremnik, za fermentaciju mošta i čuvanje vina izolirani spremnik, a ukoliko se želi provesti hladna stabilizacija vina u izolirani spremnik se ugrađuje duplikator za hlađenje. Otvoreni spremnici mogu imati zračni ili plivajući poklopac, a uglavnom se upotrebljavaju za čuvanje vina za prodaju, kako se vino istače, tako se poklopac spušta na dno spremnika. Tlačni spremnici su svoju primjenu našli u proizvodnji pjenušavih vina, no mogu se koristiti i u drugim operacijama proizvodnje vina (Jakobović, 2013; Šafranjević, 2018).



**Slika 4** Zatvoreni spremnik (Jakobović, 2013)

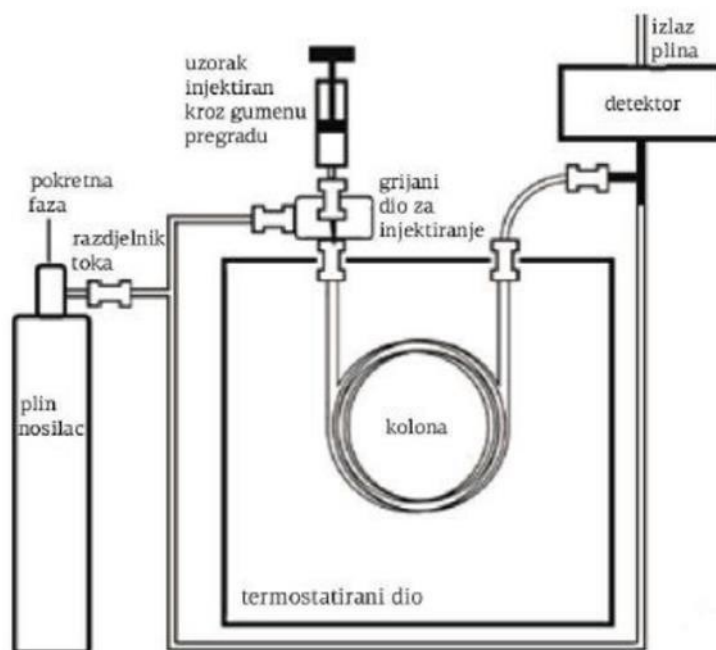
### 2.6. KROMATOGRFSKE METODE

Kromatografske metode ubrajamo u analitičke metode pomoću kojih utvrđujemo sastav smjese. Princip rada se temelji na razdvajanju smjese na komponente, nakon čega slijedi kvantitativno određivanje željenih analita. Do razdvajanja dolazi zbog interakcije analita sa različitim kemijskim i fizičkim svojstvima između stacionarne faze (kolone) i mobilne faze (eluenta). Stacionarna faza može biti u tekućem ili čvrstom stanju, a mobilna tekućina ili plin.

U prehrambenoj industriji najviše se upotrebljavaju tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti, te plinska kromatografija (Rouessac i Rouessac, 2013).

### 2.6.1. Plinska kromatografija (GC)

Plinska kromatografija (eng. *Gas Chromatography*) je analitička tehnika koja omogućuje separaciju hlapljivih tvari u plinovitoj fazi. Prvi korak je otapanje komponenti uzorka u otapalu, slijedi njihovo isparavanje i odvajanje analita raspodjelom između stacionarne i mobilne faze. Mobilna faza je kemijski inertan plin koji ima funkciju prijenosa molekula analita kroz zagrijanu kolonu, a najčešće se upotrebljavaju vodik, helij, dušik i argon. Stacionarna faza nalazi se u koloni, može biti tekuća ili čvrsta, a sastavljena je od silikonskih ugljika, ugljikovodika i estera. Mehanizam uređaja je prikazan **Slikom 5**, uzorak ulazi u kolonu, razdvaja se između faza, adsorpcijom i desorpcijom, plin nositelj odvodi lakše hlapljive komponente kroz kolonu nakon čega detektor određuje njihovu količinu. Detektor određuje analite na temelju toplinske vodljivosti, ionizacije, spektrometrije mase itd. (Skroog i sur., 1999).



**Slika 5** Princip rada plinskog kromatografa (Radić i Kukoč Modun, 2013)

### Spektrometrija masa

Spektrometrija masa (eng. *Mass Spectrometry*) je analitička tehnika koja se koristi u kemiji, biokemiji, farmaciji i medicini za pronalaženje struktura nepoznatih spojeva, kontrole kvalitete

hrane, lijekova i slično. Temelji se na analiziranju molekula prema omjeru mase i naboja ( $m/z$ ), a instrument koji se koristi je maseni spektrometar. Prvenstveno dolazi do pretvorbe molekula u ione koji se zatim fragmentiraju na druge ionske fragmente. Uređaj se sastoji od 4 dijela: ionskog izvora gdje nastaju ioni, analizatora mase koji prethodno spomenute ione razdvaja prema omjeru  $m/z$ , detektora i sustava za obradu podataka. Rezultati se prikazani grafičkim spektrom masa, koji prikazuje ovisnost relativnog intenziteta iona o njihovom  $m/z$  omjeru (Budimir, 2016).

### Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (SPME)

Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (eng. *Solid-phase microextraction*, SPME) je ekstrakcija metoda koja je karakteristična za pripremu uzoraka za analizu plinskom kromatografijom u tandemu sa masenom spektrometrijom. Prednosti su jednostavnost, brzina, minimalna upotreba kemikalija, a ekstrakcija je moguća samo na hlapljivim komponentama prisutnim u uzorku. U SPME ekstrakciji prvi korak je zagrijavanje i miješanje uzorka u svrhu oslobađanja hlapljivih spojeva, nakon toga igla s vlaknom se stavlja iznad uzorka, hlapljivi spojevi se adsorbiraju na vlakno. Zatim se vlakno unosi u injektor plinskog kromatografa, visoka temperatura i vakuum pogoduju desorpciji sastojaka iz vlakna koji se uvode u kolonu (Mottaleb i sur., 2014; Pichler, 2011).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. ZADATAK

Cilj rada bio je ispitati utjecaj različite vinske posude na polifenolni sastav i aromu vina Cabernet sauvignon. U tu svrhu, nakon provedene alkoholne fermentacije vino Cabernet sauvignon je odležavalo u posudi od nehrđajućeg čelika, te u hrastovim barrique bačvama slabog (LT), srednjeg (MT) i jakog paljenja (HAT) kroz dvanaest mjeseci. Po završetku jednogodišnjeg odležavanja, uzeti su uzorci vina u kojima je određivan polifenolni sastav i aroma, te je izvršeno međusobno uspoređivanje. Polifenoli, antocijani i anitoksidacijska aktivnost određeni su primjenom spektrofotometra, a tvari arome uz pomoć instrumentalne plinske kromatografije i mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME). U radu je korišten plinski kromatograf tvrtke Agilent 7890 B s masenom-selektivnim detektorom Agilent 5977.

### 3.2. MATERIJALI

#### 3.2.1. Vino Cabernet sauvignon

Analizirano je crno vino sorte grožđa Cabernet sauvignon. Karakteristike analiziranog vina:

- vinogradarska regija: Istočna Kontinentalna Hrvatska,
- podregija: Slavonija,
- vinogorje: Kutjevo.

#### 3.2.2. Kemikalije

Tijekom provedbe eksperimentalnog dijela rada, korištene su sljedeće kemikalije:

- Folin-Ciocalteu reagens, natrijev klorid, natrijev nitrit, natrijev karbonat, natrijev hidroksid, kalijev disulfit, kalijev klorid, klorovodična kiselina (Kemika, Zagreb, Hrvatska);
- Natrijev acetat trihidrat, željezov klorid heksahidrat (Gram-Mol, Zagreb, Hrvatska)
- Mirtenol, aluminijski klorid, monohidrat galene kiseline, Trolox ((±)-6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilokroman-2-karboksilna kiselina), ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin sulfonska kiselina), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazine) (Sigma-Aldrich, St. Lois, SAD);
- Katehin hidrat (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Njemačka;

- Standardi elementar Se, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Br, Rb, Sr i Pb (TreceCERT, Fluka Analytical, St.Gallen, Švicarska)

### 3.3. METODE

#### 3.3.1. Određivanje elemenata u tragovima

Kako bi se utvrdila prisutnost elemenata u tragovima, u plastične posude (58 x 58 x 40 mm) je dodano 50 mL uzorka, te 10 µg internog standarda selenija (TraceCERT 1000 mg/L). Provedeno je smrzavanje tekućim dušikom (40 h, Labconco – FreeZone 2,5 L, Labconco Corporation, Kansas City, SAD) na temperaturi od -80 °C pod tlakom od 0,015 mbara. Nakon ovog postupka dobiven je uzorak u viskoznom stanju, stavljen je u plastični držač te preklopljen na vrhu i dnu s mylar folijom. Uzorci su analizirani EDXRF metodom s anodom molibdena. Primijenjeni radni parametri su sljedeći: 45 kV, 35 mA i vrijeme zračenja od 1000 s. Pri detekciji rendgenskog zračenja upotrijebljen je Canberra Si(Li) detektor (Mirion Technologied/Canberra Industries, Meriden, SAD) hlađen dušikom. Aktivna površina detektora iznosila je 30 mm<sup>2</sup>, debljina 3 mm, debljina Be prozora 0,025 mm i rezolucija 170 eV FWHM na 5,9 keV. Analiza je obavljena u IAEA QXAS software-u (International Atomic Energy Agency, Seibersdorf, Austria). Pri izradi kalibracijskih krivulja za elemente K, Ca, Fe, Cu, Zn, Br, Rb, Sr, i Pb korišteni su certificirani standard TraceCERT 1000 mg/L. Relativne pogreške dobivene analizom elemenata u uzorcima izračunate su pomoću koeficijente korelacijskih krivulja. Limit detekcije izračunat je pomoću sljedeće jednadžbe:

$$LD = c \sqrt{\frac{N_c}{B}}$$

Gdje je:

LD -limite detekcije;

c- poznata koncentracija traženog elementa;

N<sub>c</sub>- intenzitet pozadinskog zračenja ispod karakterističnog pika

X-zraka; B- broj snimanja pozadinskog zračenja;



Koncentracija elemenata u tragovima prikazana je kao srednja vrijednost od obavljan 3 mjerenja  $\pm$  standardna devijacija.

### 3.3.2. Određivanje aromatskog profila

Aromatski spojevi određeni su uz pomoć plinskog kromatografa Agilent 7890B u kombinaciji s masenim detektorom Agilent 5977A (Agilent Technologies, Santa Clara, SAD)(**Slika 6**). Prilikom uzorkovanja provedena je tehnika mikorekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME), za stacionarnu fazu korištena je igla sa punilom od polidimetilsiloksana-divinilbenzena (PDMS/DVB), promjera 65  $\mu\text{m}$  (Supelco, Bellefonte, SAD).

U staklenu vijalu volumena 10 mL injektirano je 5 mL uzorka, u svrhu pospješivanja ekstrakcije spojeva dodan je 1 g NaCl. Također, dodano je 10  $\mu\text{L}$  internog standarda mirtenola (koncentracija 0,5 g/L) kako bi se omogućilo određivanje udjela aromatskih spojeva. Uzorci su hermetički zatvoreni sa teflonskim čepom, nakon čega su stavljeni u vodenu kupelj te miješani i zagrijavani na magnetskoj miješalici. Zagrijavanje i miješanje je provedeno na 40 °C u trajanju od 5 minuta, što je dovelo do izdvajanja hlapivih spojeva u nadprostor uzorka. Zatim je u nadprostor postavljena SPME igla s punilima, te je provedena adsorpcija aromatičnih spojeva u vremenu od 45 minuta pri temperaturi od 40 °C. Igla je prebačena u injektro plinskog kromatografa, gdje je izvršena toplinska desorpcija aromatičnih spojeva u kolonu. Zatim se kolona postepeno zagrijavala s ciljem odvajanja aromatičnih spojeva na osnovu njihove hlapljivosti, lakše hlapljivi spojevi su prvo izdvojeni te detektirani pomoću masenog detektora.



**Slika 6** Plinski kromatograf u kombinaciji s masenim detektorom (Ivić, 2022)

Uvjeti rada plinskog

kromatografa Parametri

ekstrakcije:

- Temperatura: 40 °C;
- Vrijeme: 45 min;
- SPME punilo: 65 µm PDMS/DVB (Supelco).

GC – MS analitički uvjeti:

- Početna temperatura: 40 °C ( 10 min);
- Temperaturni gradijent 1: 3 °C/min do 120 °C;
- Temperaturni gradijent 2: 10 °C/min do 250 °C;
- Konačna temperatura: 250 °C;
- Temperatura injektora 250 °C;
- Vrijeme desorpcije: 7 min;
- Temperatura detektora: 250 °C;

- Energija ionizacije: 70 eV;
- Maseni interval (m/z): 40 – 400.

U analizi je korištena kolona HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m), kao plin nosač upotrijebljen

je helij 5,0 (čistoće 99,9%)(Messer Austria, Gumpoldskirchen, Austria).

Analizom su dobiveni pikovi na kromatogramu, a spojevi arome su identificirani na osnovu spektra masa i retencijskog indeksa tako što je povedeno je uspoređivanje spektra masa i retencijskog indeksa s bazama podataka Nist08 (National Institute of Standards i Technology, Gaithersburg, SAD) i Wiley 9 (Wiley, SAD). Osim toga, pri identičnim GC – MS uvjetima izvršena je analiza standarda, sačinjenog od smjesa alkana C7 – C30, te je izračunat retencijski indeks pojedinačnih spojeva prema sljedećoj jednadžbi:

$$RI = 100 \left[ n + (N - n) \frac{\log t_R - \log t_n}{\log t_N - \log t_n} \right]$$

gdje je:

RI – retencijski indeks

n- broj C atoma u alkanu koji izlazi prije nepoznatog spoja

N – broj C atoma u alkanu koji izlazi nakon nepoznatog

spoja X - nepoznati spoj

t- retencijsko vrijeme (min)

Na ovaj način izvršeno je određivanje sljedećih spojeva arome: kiselina (octena, oktanska, dekanska, laurinska, miristinska, palmitinska kiselina), alhohola (izoamilni alkohol, but-2,3- diol, heksan-1-ol, metionol, benzilni alkohol, oktan1-ol, 2-feniletanol, dodekanol), karbonilnih spojeva (4-propilbenzaldehyd, geranil aceton, lili aldehyd, heksilcinamaldehyd), terpena ( $\alpha$ - terpinolen,  $\beta$ -citronelol,  $\beta$ -damascenon,  $\beta$ -jonon, fenantren), estera (etil-heksanoat, etil-4- hidroksibutanoat, dietil-sukcinat, etil-oktanoat, etilsukcinat, fenetil-acetat, etil-dekanoat, etil- vanilat, etil-laurat, heksil-salicilat, etil-miristat, diizobutil-ftalat, etil-pentadekanoat, metil- palmitat, dibutil-ftalat, etil-palmitat, etillinoleat, etil-oleat, etil-stearat) te hlapivih fenola (4- etilfenol, 4-etilgvajakol, 2,4-di-tert-butilfenol).

### 3.3.3. Određivanje ukupnih polifenola

Udio ukupnih polifenola određivan je Folin-Ciocalteu-ovom metodom (Ough i Amerine, 1988). U epruvetu je dodano 0,2 mL uzorka vina, 1,8 mL destilirane vode, 10 mL Folin-Ciocalteu-ovog reagensa i 8 mL otopine natrijevog karbonata (7,5% otopina). Nakon toga, smjesa je promućkana, te je ostavljena u mraku, u vremenu od 2 - 20 sati, na sobnoj temperaturi. Apsorbancija je mjerena pomoću spektrofotometra Cary 60 UV-Vis (Agilent Technologies, Santa Clara, SAD) na valnoj duljinu od 765 nm. Za slijepu probu je korištena destilirana voda. Za svaki uzorak su izvedena tri mjerenja, rezultati su prikazani preko kalibracijske krivulje galne kiseline u g galne kiseline/L uzorka.

### 3.3.4. Određivanje ukupnih flavonoida

Udio ukupnih flavonoida određen je pomoću spektrofotometra uz primjenu  $\text{AlCl}_3$  reagensa (Kim i sur., 2003). U epruvetu je prvo dodano 0,5 mL uzorka, 4 mL destilirane vode i 0,3 mL  $\text{NaNO}_2$  (5%). Nakon što je prošlo 5 minuta, dodano je 1,5 mL  $\text{AlCl}_3$  (2%), nakon toga otopina je odstojala još 5 minuta, te je dodano 2 mL  $\text{NaOH}$  (1 mol/L) i 1,7 mL vode. Mjerenje apsorbancije provedeno je na 510 nm. Za slijepu probu upotrijebljena je destilirana voda. Rezultati su dobiveni preko kalibracijske krivulje katehina u g katehina/L uzorka, nad svakim uzorkom izvršena su 3 mjerenja, a za konačni rezultat uzeta je srednja vrijednost.

### 3.3.5. Određivanje monomernih antocijana

pH-diferencijalna metoda opisana u radu Giusti i Wrolstad (2001) korištene je za određivanje monomernih antocijana. Promjena pH vrijednosti dovodi do pretvorbe strukture kromofora antocijana, što mijenja spektar apsorbancije. U dvije epruvete je otpipetirano po 0,2 mL uzorka, u jednu je dodano 2,8 mL pufera pH 1 (0,025 mol/L KCl, pH podešen s koncentriranom HCl), a u drugu 2,8 mL pufera pH 4,5 (0,4 mol/L  $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na} \times 3\text{H}_2\text{O}$ , pH podešen s koncentriranom HCl). Uzorci su ostavljeni na 15 minuta. Apsorbancija je mjerena pri 512 i 700 nm spektrofotometrom te računana po sljedećoj jednadžbi:

$$A = (A_{512} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{512} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

Udio monomernih antocijana računa se pomoću jednadžbe:

$$\frac{A}{25} =$$

$$\frac{\square \square \square \square \square \square \square \square}{\varepsilon \square \square} 1000$$

Gdje je:

A- Apsorbancija uzorka;

MW -relativna molekulska masa cijanidina 3-glukozina (449,2

g/mol); FR – faktor razrjeđenja

$$FR = \frac{A_{\text{kontrola}}}{A_{\text{uzorak}}}$$

$\epsilon$ - molarni ekstincijski koeficijent cijanidina 3-glukozida (26900

L/mol cm) l- duljina kivete (1 cm)

Za rezultat je uzeta srednja vrijednost od tri mjerenja u mg cijanidina 3-glukozida/L uzorka.

### 3.3.6. Određivanje polimerne boje

Polimerne boje su određivane metodom opisanom u radu Giusti i Wrolstad (2001). Metoda se zasniva na formiranju bezbojnog kompleksa reakcijama između antocijana i bisulfita. Također, polimerizacijom antocijana nastaje boja koja je otporna na utjecaj bisulfita.

U dvije epruvete je otpipetirano po 0,2 mL uzorka, u jednu je dodano 3,0 mL vode, a u drugu 2,8 mL vode te 0,2 mL otopine kalijevog bisulfita (1:5). Mjerenje apsorbancije provedeno je na 420 nm, 512 nm i 700 nm nakon što su uzorci odstajali u vremenu od 15 min. Kod 420 nm mjeren je stupanj posmeđivanja, a na 512 nm degradacija antocijana. Količina boje nastala polimerizacijom računana je prema sljedećoj jednadžbi:

$$A_{\text{boja}} (\%) = \frac{A_{420} - A_{700}}{A_{512} - A_{700}} \cdot 100$$

Boja nastala polimerizacijom je računana kod uzorka tretiranog sa bisulfitima prema jednadžbi:

$$A_{\text{boja}} = [(A_{420} - A_{700}) + (A_{512} - A_{700})] \cdot \epsilon \cdot l \cdot c$$

Gustoća boje je računana kod kontrolnog uzorka tretiranog vodom prema jednadžbi:

$$A_{\text{boja}} = [(A_{420} - A_{700}) + (A_{512} - A_{700})] \cdot \epsilon \cdot l \cdot c$$

Svaki uzorak je mjeren tri puta, a kao rezultat je izražena srednja vrijednost mjerenja.

### 3.3.7. Određivanje antioksidacijske aktivnosti

Pomoću spektrofotometra određena je antioksidacijska aktivnost uzoraka vina. Kako bi dobili što reprezentativnije rezultate korištene su četiri različite metode (DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC). Kod svih metoda odvijaju se različiti kemijski mehanizmi, čiji je krajnji korak darivanje atoma vodika, elektrona ili vezanje masti na antioksidans (Jakobek, 2007).

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) metoda je zasnovana na primjeni DPPH reagensa (stabilni dušikov radikal, ljubičastog obojenja). Primjenom navedenog reagensa dolazi do redukcije ukoliko su prisutni antioksidansi (elektron donori), te ljubičasta boja prelazi u žutu (Popović, 2019). Značajke metode su mogućnost reagiranja DPPH reagensa s cjelokupnim uzorkom (hidrofilni, lipofilni i slabi antioksidansi) (Kedare i Singh, 2011). Postupak se provodi na sljedeći način: u epruvetu se otpipetira 0,2 mL uzorka i 3,0 mL DPPH otopine ( $A_{517}=1,0$ ). Uzorak odstoji 15 minuta, te mu se nakon toga mjeri apsorbancija na valnoj duljini od 517 nm. Za slijepu probu se koristi destilirana voda. Rezultat se prikazuje preko kalibracijske krivulje Troloxa u  $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ . Za svaki uzorak se provode tri mjerenja (Brand-Williams i sur., 1995).

ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin sulfonska kiselina)) metoda temeljena je na primjeni ABTS reagensa. Prije upotrebe reagens se miješa sa kalijevim persulfatom što dovodi do stvaranja okidiranog zeleno obojenog ABTS radikala. Pri reakciji sa antioksidansom dolazi do gubitka zelenog obojenja, te se radikal redukcijom obezboji (Gupta, 2015). ABTS radikal reagira sa velikim brojem antioksidansa, metoda pogoduje različitim pH vrijednostima međutim, u usporedbi sa DPPH metodom, ova metoda znatno duže traje. Način provedbe metode je sljedeći: 0,2 mL uzorka otpipetirati u epruvetu te mu dodati 3,2 mL ABTS reagensa koji se priprema dan prije (7,4 mmol/L otopine ABTS pomiješati s 2,45 mmol/L otopinom kalijevog persulfata). Pripremljeni uzorak je potrebno držati 95 minuta u mraku, te mu se nakon toga mjerni apsorbancija na valnoj duljini od 734 nm. Kod slijepe probe upotrebljavala se destilirana voda. Rezultati su prikazani preko kalibracijske krivulje Troloxa u  $\mu\text{mol TE}/100\text{ mL}$ , za konačni rezultat je uzeta srednja vrijednost tri mjerenja (Re i sur., 1999).

FRAP (eng. ferric reducing/antioxidant power assay) metoda zasnovana je na redukciji kompleksa trovalentnog željeza s piridil triazinom u dvovalentno željezo u prisutnosti antioksidansa, pri pH 3,6. Reakcijom dolazi do nastajanja plavog obojenja.

Prednosti metode je jednostavan i brz postupak. FRAP reagens se priprema miješanjem 300 mmol/L otopine natrijeva acetata (pH 3,6), 10 mmol/L otopine TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazin otopljen u 40



mmol/L otopine HCl) i 20 mmol/L otopine  $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$  u omjeru 10:1:1. Nakon pripreme reagensa u epruvetu se dodaje 0,2 mL uzorka i 3,0 mL FRAP reagensa koji se zagrije na 37 °C. Pripremljeni uzorak odstoji 15 minuta, te mu se intenzitet nastalog plavog obojenja mjeri na valnoj duljini od 593 nm. Kao konačni rezultat uzima se srednja vrijednost tri mjerenja te se prikazuje preko kalibracijske krivulje Troloxa u  $\mu\text{mol TE}/100 \text{ mL}$  (Benzie i Strain, 1999).

CUPRAC (eng. *cupric reducing antioxidant capacity*) metoda je bazirana na redoks reakciji između CUPRAC reagensa i antioksidansa pri čemu dolazi do stvaranja žutog obojenja. Karakteristike metode su djelovanje sa lipofilnim i hidrofilnim antioksidansima, te selektivno djelovanje na antioksidativne spojeve bez učinka na šećere i limunsku kiselinu. Primjenjuje se za određivanje antioksidacijske aktivnosti flavonoida, tiola i fenolnih kiselina (Gupta, 2015). Metoda se provodi pomoću tri reagensa: 10 mmol/L otopine  $\text{CuCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ , 7,5 mmol/L otopine neokkuproina (Nc) i 1 mol/L otopine amonij acetata, pH 7,0. U epruvetu se otpipetira po 1,0 mL navedenih reagensa, doda se 0,2 mL uzorka te 0,9 mL destilirane vode. Intenzitet nastalog žutog obojenja mjeri se nakon 30 minuta, pri valnoj duljini od 450 nm. Za rezultat se uzima srednja vrijednost provedena tri mjerenja i prikazuje preko kalibracijske krivulje Troloxa ( $\mu\text{mol TE}/100 \text{ mL}$ ) (Özyürek i sur., 2011).

### 3.3.8. Određivanje boje u CIELab sustavu

CIELab sustav predstavlja trodimenzionalni sustav za brojačno vrednovanje boja. Shematski prikaz vrednovanja boja prikazan je na **Slici 7**, parametar  $L^*$  određuje svjetlinu boje, vrijednost mu je od 0 -100, gdje broj 0 označava crnu boju, a broj 100 bijelu. Na osi  $a^*$  nalaze se nijanse crvenih i zelenih boja, dok su na parametru  $b^*$  zastupljene žute i plave nijanse boja (Ivić i sur., 2021d; Vukoja i sur., 2019; Hill i sur., 1997).

Parametri boja su mjereni pomoću navedenog sustava, na svim uzorcima vina provedena su po 3 mjerenja, a rezultati su prikazani kao srednja vrijednost. Mjerenja su provedena pomoću kromametra (**Slika 8**) CR-400 (Konica Minolta, Inc., Osaka, Japan), određivani su parametri  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ ,  $^{\circ}h$  i  $\Delta E^*$ . Boje koje se nalaze uz ishodište manje su zasićene ( $C^*$ ), dok su boje udaljene od ishodišta intenzivnije.

Zasićenost se računa po formuli:

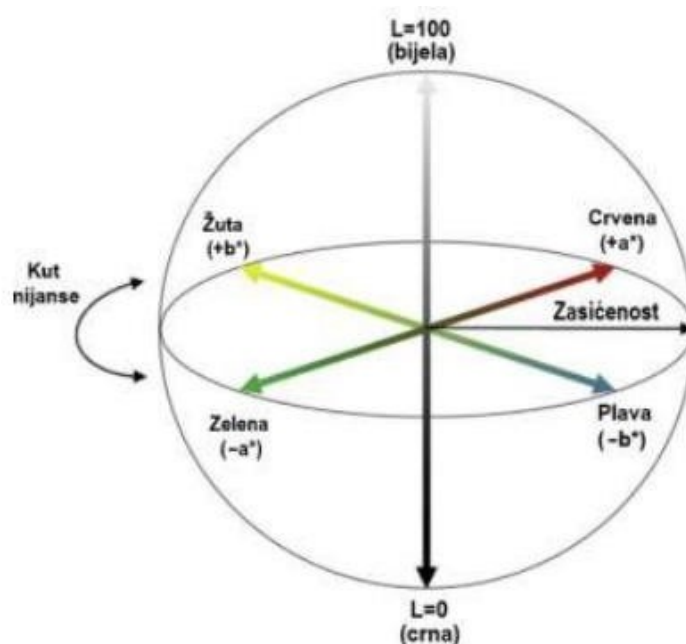
$$C^* = \frac{\sqrt{a^{*2} + b^{*2}}}{L^*}$$

$$^{\circ}h = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

ton boje pomoću izraza  $^{\circ}h =$

$$\left( \frac{\square^*}{\square} \right),$$

a ukupna razlika u boji  $\Delta E^* = \sqrt{\Delta L^*{}^2 + \Delta a^*{}^2 + \Delta b^*{}^2}$ .



**Slika 7** Prikaz CIELab sustava boja (Ly i sur., 2020)



**Slika 8** Kromatometar CR-400

### 3.3.9. Statistička obrada podatak

Rezultati dobivenih mjerenja prikazani su kao srednja vrijednost ponavljajućih mjerenja  $\pm$  standardna devijacija. Statistička obrada podataka provedena je u programu Statistica 13.1 (StatSoft Inc., Tulsa, SAD), obrada rezultata vršena je pomoću metode analize varijance (ANOVA), Fisher-ovog LSD testa i metode analize glavnih komponenti (PCA, eng. Principal component analysis). Računanje koeficijenta korelacije između pojedinih rezultata obavljeno je pomoću MS Excel programa (Microsoft Office Professional, 2016).



## **4. REZULTATI**

#### 4.1. TABLIČNI I GRAFIČKI PRIKAZ DOBIVENIH REZULTATA

**Tablica 2** Prisutnost elemenata u tragovima u vinu Cabernet sauvignon odležanom u različitim vinskim posudama

VINO	K (ppm)	Ca (ppm)	Mn (ppb)	Fe (ppb)	Cu (ppb)	Zn (ppb)	Br (ppb)	Rb (ppb)	Sr (ppb)	Pb (ppb)
<b>C.S. INOX</b>	1279 ± 86	32 ± 18	1015 ± 44	1711 ± 75	95 ± 9	609 ± 78	154,3 ± 3,5	719 ± 4	637 ± 19	7,30 ± 1,9
<b>C.S. LT</b>	1066 ± 268	30 ± 6	968 ± 191	1543 ± 230	77 ± 11	584 ± 47	141,7 ± 11,1	753 ± 102	655 ± 80	12,2 ± 2,0
<b>C.S. MT</b>	1535 ± 486	27 ± 16	877 ± 123	1601 ± 307	80 ± 13	551 ± 64	193,6 ± 13,5	768 ± 16	663 ± 46	10,8 ± 3,5
<b>C.S. HAT</b>	1522 ± 336	37 ± 2	936 ± 115	1414 ± 188	81 ± 14	559 ± 59	145,7 ± 21,7	709 ± 65	633 ± 57	16,9 ± 2,5

Oznake: C.S.INOX- Cabernet sauvignon odležan u inoxu; C.S. 500 LT- Cabernet sauvignon odležan u lagano paljenoj bačvi; C.S. 500 MT- Cabernet sauvignon odležan u srednje paljenoj bačvi; C.S. 500 HAT- Cabernet sauvignon odležan u jako paljenoj bačvi

**Tablica 3** Koncentracija (mg/L) polifenola, flavonoida, antocijana i polimerne boje u vinu Cabernet sauvignon odležanog u različitim vinskim posudama

VINO	Polifenoli (mg/L)	Flavonoidi (mg/L)	Antocijani (mg/L)	Polimerne boje (%)
<b>C. S. INOX</b>	1622,04 ± 4,90	590,93 ± 3,20	25,12 ± 0,82	87,16 ± 1,04
<b>C.S. LT</b>	1605,83 ± 0,76	638,85 ± 4,51	18,62 ± 0,69	71,89 ± 0,90
<b>C.S. MT</b>	1535,48 ± 3,51	622,07 ± 2,35	10,19 ± 0,54	76,35 ± 0,78
<b>C.S. HAT</b>	1508,70 ± 7,94	588,32 ± 3,00	15,22 ± 0,77	80, 55 ± 0,34

Oznake: C.S.INOX- Cabernet sauvignon odležan u inoxu; C.S. 500 LT- Cabernet sauvignon odležan u lagano paljenoj bačvi; C.S. 500 MT- Cabernet sauvignon odležan u srednje paljenoj bačvi; C.S. 500 HAT- Cabernet sauvignon odležan u jako paljenoj bačvi

**Tablica 4** Rezultati antioksidacijske aktivnosti vina Cabernet sauvignon odležanog u različitim vinskim posudama

VINO	DPPH ( $\mu\text{MOL}/100$ mL)	ABTS ( $\mu\text{MOL}/100$ mL)	FRAP ( $\mu\text{MOL}/100$ mL)	CUPRAC ( $\mu\text{MOL}/100$ mL)
<b>C. S. INOX</b>	6,96 $\pm$ 0,01	11,32 $\pm$ 0,31	1,14 $\pm$ 0,01	51,32 $\pm$ 0,07
<b>C.S.L T</b>	7,65 $\pm$ 0,01	10,47 $\pm$ 0,41	1,27 $\pm$ 0,01	57,81 $\pm$ 0,18
<b>C.S. MT</b>	6,68 $\pm$ 0,01	13,88 $\pm$ 0,22	1,05 $\pm$ 0,02	55,14 $\pm$ 0,09
<b>C.S. HAT</b>	7,25 $\pm$ 0,03	11,45 $\pm$ 0,18	1,19 $\pm$ 0,01	51,16 $\pm$ 0,37

Oznake: C.S.INOX- Cabernet sauvignon odležan u inoxu; C.S. 500 LT- Cabernet sauvignon odležan u lagano paljenoj bačvi; C.S. 500 MT- Cabernet sauvignon odležan u srednje paljenoj bačvi; C.S. 500 HAT- Cabernet sauvignon odležan u jako paljenoj bačvi

**Tablica 5** CIELab parametri boje vina Cabernet sauvignon odležanog u različitim vinskim posudama

Uzora k	L	a	B	dL	da	db	dE	C	h
<b>C.S. INOX</b>	19,56	0,37	0,71	- 5,91	- 18,05	-5,84	19,87	0,8	62,77
<b>C.S. LT</b>	19,6	0,63	0,84	- 5,86	- 17,78	-5,71	19,58	1,05	53,06
<b>C.S. MT</b>	19,63	0,95	0,8	- 5,84	- 17,47	-5,74	19,29	1,25	40,23
<b>C.S. HAT</b>	19,68	0,87	0,78	- 5,79	- 17,55	-5,77	19,36	1,16	41,81

Oznake: C.S.INOX- Cabernet sauvignon odležan u inoxu; C.S. 500 LT- Cabernet sauvignon odležan u lagano paljenoj bačvi; C.S. 500 MT- Cabernet sauvignon odležan u srednje paljenoj bačvi; C.S. 500 HAT- Cabernet sauvignon odležan u jako paljenoj bačvi

**Tablica 6** Retencijski indeks i sadržaj identificiranih spojeva ( $\mu\text{g/L}$ ) koji utječu na note vina Cabernet sauvignon odležanog u različitim vinskim posudama

Spojevi	RI	C.S. INOX	C.S. LT	C.S. MT	C.S. HAT
<b>Masti</b>					
Dekanska kiselina	137 6	72,5 $\pm$ 0,3	69,5 $\pm$ 1,8	22,7 $\pm$ 1,5	50,5 $\pm$ 1,4
Laurinska kiselina	155 8	26,8 $\pm$ 0,6	40,0 $\pm$ 0,9	32,9 $\pm$ 1,8	17,9 $\pm$ 0,2
Miristinska kiselina	174 9	10,9 $\pm$ 0,0	12,6 $\pm$ 0,3	15,9 $\pm$ 0,5	78,5 $\pm$ 1,3
Palmitinska kiselina	200 4				
1-dodekanol	146 9	60,7 $\pm$ 0,5	67,1 $\pm$ 1,8	28,0 $\pm$ 0,6	28,2 $\pm$ 0,7
Etil laurat	158 4	11,1 $\pm$ 0,7	20,0 $\pm$ 0,8	10,9 $\pm$ 0,1	35,5 $\pm$ 0,6
Etil miristat	177 8	10,4 $\pm$ 0,2	23,4 $\pm$ 0,6	17,1 $\pm$ 0,8	12,9 $\pm$ 4,0
Izopropil miristat	181 0	9,8 $\pm$ 0,0	20,3 $\pm$ 0,6	18,8 $\pm$ 0,7	16,0 $\pm$ 0,5
Etil palmitat	197 8	33,6 $\pm$ 0,1	23,1 $\pm$ 0,5	23,4 $\pm$ 0,4	25,3 $\pm$ 0,2
<b>Voće, citrus</b>					
Izoamilni alkohol	734	36798,2 $\pm$ 68,9	65231,4 $\pm$ 465,6	54154,9 $\pm$ 559,8	40625,4 $\pm$ 267,0
2,3-butandiol	804	540,8 $\pm$ 10,9	516,4 $\pm$ 6,8	720,1 $\pm$ 24,8	867,9 $\pm$ 17,9
$\beta$ -demascenon	137 7	28,3 $\pm$ 0,3	36,0 $\pm$ 1,8	38,0 $\pm$ 0,6	28,3 $\pm$ 0,3
Etil heksanoat	997	175,9 $\pm$ 5,9	269,3 $\pm$ 6,9	446,0 $\pm$ 1,9	223,1 $\pm$ 1,1
Dietil sukcinat	117 9	6804,9 $\pm$ 12,7	9075,4 $\pm$ 38,7	9177,4 $\pm$ 127,9	8488,2 $\pm$ 110,36
Etil oktanoat	119 1				
Etil dekanoat	139 1	32,8 $\pm$ 1,2	28,8 $\pm$ 0,7	33,2 $\pm$ 1,0	21,6 $\pm$ 1,4
Izoamil dekanoat	163 2	28,6 $\pm$ 0,5	21,0 $\pm$ 0,4	34,9 $\pm$ 1,4	14,3 $\pm$ 1,2
Linalol	109 6	82,1 $\pm$ 0,1	90,0 $\pm$ 1,4	158,2 $\pm$ 5,3	
2-etilheksanol	103 0				
Benzil alkohol	103 7	54,4 $\pm$ 0,1	82,3 $\pm$ 1,3	47,7 $\pm$ 0,2	48,7 $\pm$ 0,8
<b>Cvjetne, zelene</b>					
Heksan-1-ol	868	382,4 $\pm$ 3,1	638,6 $\pm$ 6,1	492,1 $\pm$ 3,2	344,9 $\pm$ 16,0
Heksil salicilat	166 7	17,2 $\pm$ 0,4	31,9 $\pm$ 0,8	31,4 $\pm$ 0,8	20,1 $\pm$ 1,1

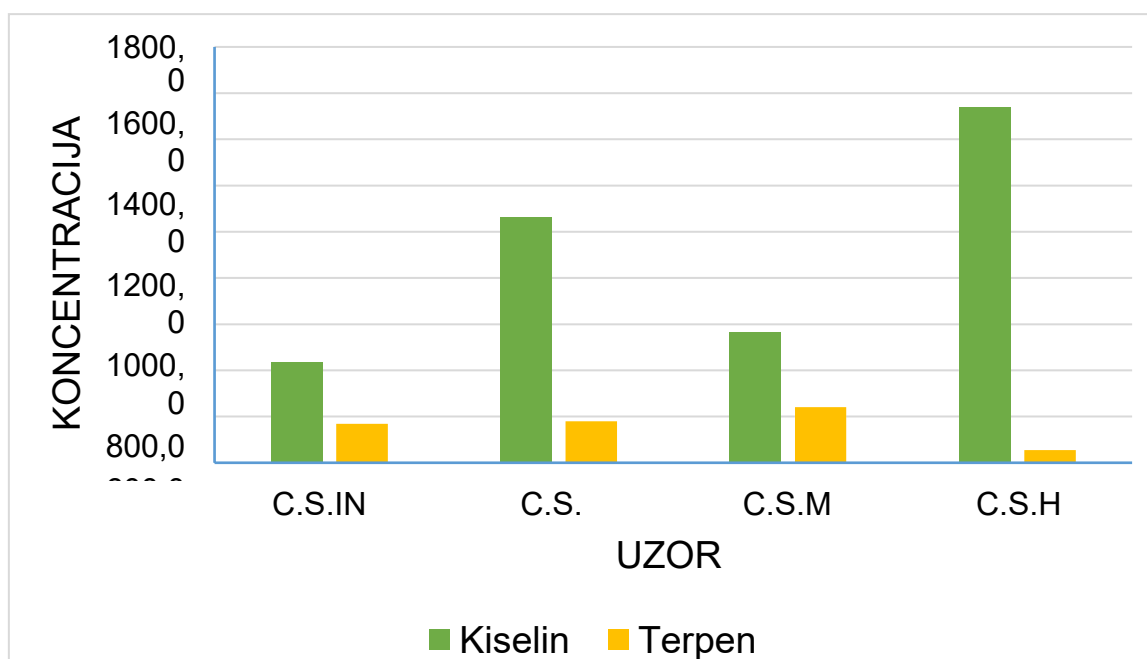


<b>2-feniletanol</b>	110 3	8936,6 ± 38,3	9272,2 ± 1,5	9039,4 ± 103,5	8704,7 ± 149,2
<b>Fenetil acetat</b>	124 8	44,4 ± 0,6	61,9 ± 0,4	65,2 ± 2,5	63,4 ± 0,9
<b>α-jonon</b>	141 7	26,1 ± 0,7	28,8 ± 0,9	18,9 ± 0,5	12,9 ± 0,4
<b>β-jonon</b>	147 7	32,6 ± 0,3	24,4 ± 0,1	26,1 ± 1,0	13,3 ± 1,1
<b>Slabi</b>					
<b>Diizobutil ftalat</b>	185 9	18,9 ± 0,4	24,1 ± 0,4	36,9 ± 1,8	24,8 ± 0,2
<b>Dibutil ftalat</b>	195 3	36,1 ± 1,7	33,6 ± 0,7	43,7 ± 1,2	40,8 ± 0,5
<b>2,4-Di-T-butilfenol</b>	150 4	547,0 ± 22,3	571,8 ± 10,4	366,3 ± 2,8	439,8 ± 9,1

Tablica 6 Nastavak

Spojevi	RI	C.S. INOX	C.S. LT	C.S. MT	C.S. HAT
<b>Ostalo</b>					
<b>Octena kiselina</b>	622	324,8 ± 3,1	938,7 ± 28,0	492,5 ± 8,2	1388,9 ± 25,4
<b>Metionol</b>	981	142,4 ± 1,8	309,6 ± 7,8	192,5 ± 3,7	110,2 ± 4,6
<b>Etil pentadekanoat</b>	1880	25,7 ± 1,1	27,7 ± 1,2	20,7 ± 0,6	14,0 ± 0,4
<b>Dimne, spaljene</b>		468,1 ± 0,8	617,1 ± 2,4	687,1 ± 2,3	1030,6 ± 17,6
<b>4-etilfenol</b>	1166	48,3 ± 0,3	93,3 ± 1,4		264,3 ± 2,3
<b>4-etilgvajakol</b>	1268				
<b>Etil izopentil sukcinat</b>	1423	419,8 ± 0,5	523,8 ± 1,0	687,1 ± 2,3	766,2 ± 15,3

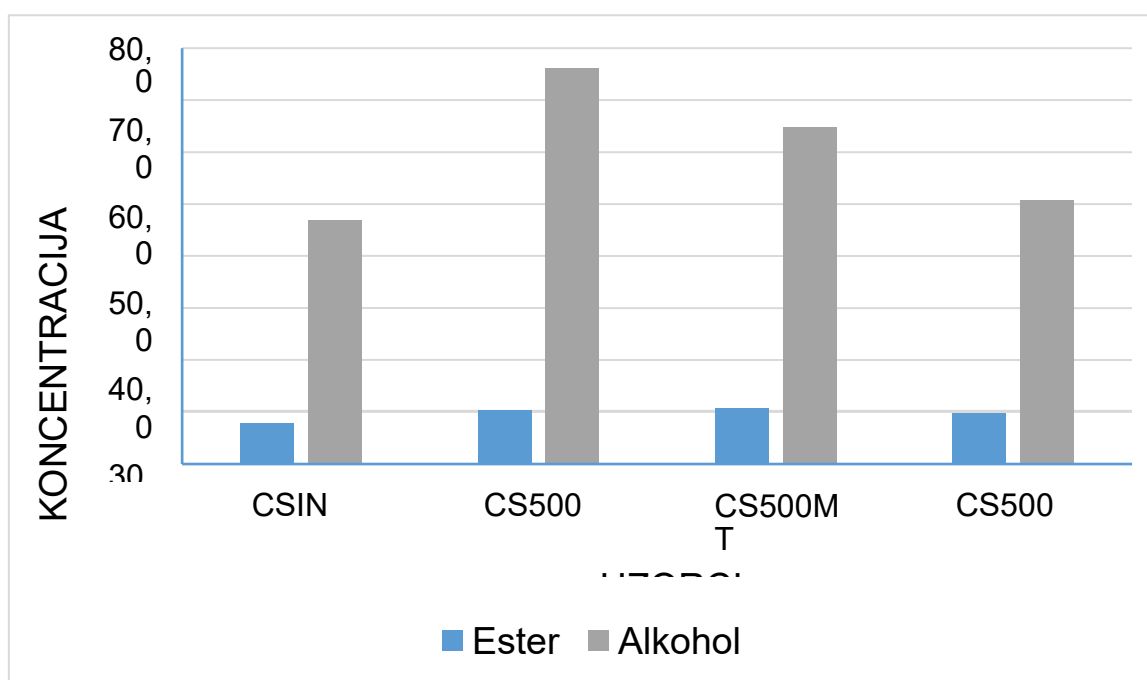
Oznake: C.S.INOX- Cabernet sauvignon odležan u inoxu; C.S. 500 LT- Cabernet sauvignon odležan u lagano paljenoj bačvi; C.S. 500 MT- Cabernet sauvignon odležan u srednje paljenoj bačvi; C.S. 500 HAT- Cabernet sauvignon odležan u jako paljenoj bačvi



**Slika 9** Koncentracija identifikiranih kiselina i terpena u vinu Cabernet sauvignon odležavanog u različitim vinskih posudama

Oznake: C.S.INOX- Cabernet sauvignon odležan u inoxu; C.S. LT- Cabernet sauvignon odležan u lagano paljenoj bačvi;

C.S. MT- Cabernet sauvignon odležan u srednje paljenoj bačvi; C.S. HAT- Cabernet sauvignon odležan u jako paljenoj bačvi



**Slika 10** Koncentracija identificiranih estera i alkohola u vinu Cabernet sauvignon odležavanog u različitim vinskim posudama

Oznake: C.S.INOX- Cabernet sauvignon odležan u inoxu; C.S. LT- Cabernet sauvignon odležan u lagano paljenoj bačvi;

C.S. MT- Cabernet sauvignon odležan u srednje paljenoj bačvi; C.S. HAT- Cabernet sauvignon odležan u jako paljenoj bačvi

## **5. RASPRAVA**

Rezultati udjela elemenata u tragovima prikazani su **Tablicom 2**, prema radu Eschnauer i sur. (2001) makroelementi su najzastupljeniji elementi u vinu, te čine do 97% udjela, u ovom istraživanju najzastupljeniji određeni makroelementi su, K i Ca. Vrijednost K iznosila je od 1066

– 1535 mg/L, dok je vrijednost Ca bila u rangu od 27 - 37 mg/L. Prosječni udio K u crnim vinima kreće se od 1200 - 1700 mg/L, a Ca oko 60 mg/L (Piljek, 2020). Iz tablice je vidljivo da je najveća koncentracija K (1535 mg/L) u vinu odležanom u srednje paljenoj bačvi, a najmanja (1066 mg/L) kod vina odležanog u lagano paljenoj bačvi. Što se tiče Ca, najveća koncentracija, 37 mg/L, određena je u vinu odležanom u jako paljenoj bačvi, a najmanja, 27 mg/L, kod vina odležanog u srednje paljenoj bačvi. Visoke koncentracije opisanih elemenata često su odgovorne za slani karakter vina koji se označava kao negativna senzorska karakteristika (Cabello-Pasini i sur., 2013). Prosječna koncentracija mikroelemenata poput Mn, Fe, Cu, Zn, Br, Rb, Sr i Pb iznosi od 0,01 – 10 mg/L (Eschnauer, 2001). Najzastupljeniji su Mn i Fe, Mn u rangu od 0,877 – 1,015 mg/L te Fe 1,414 – 1,711 mg/L. Prosječna vrijednost Mn u crnim vinima iznosi do 2 mg/L, a količina Fe najviše ovisi o upotrijebljenom priboru prilikom prerade, primjerice ukoliko se muljanje obavljalo s muljačama izrađenim od nehrđajućeg čelika koncentracija je od 1 - 2 mg/L, a ukoliko se koristi staromodna oprema može biti od 10 – 30 mg/L (Piljek, 2020). Najveće koncentracije oba elementa utvrđene su u vinima odležanim u spremnicima od nehrđajućeg čelika, zatim u vinu odležanom u srednje paljenoj bačvi, lagano paljenoj te jako paljenoj. Nadalje, koncentracija Rb bila je u rasponu od 0,709 - 0,768 mg/L. Najveći udio Zn određen je u posudi od nehrđajućeg čelika, 0,609 mg/L, a najmanji 0,551 mg/L kod vina iz MT bačve. Količina Sr izmjerena je u rasponu od 0,633 - 0,663 mg/L. Za navedene elemente, Rb, Zn i Sr iz tablice se može zaključiti da kod vina odležanog u drvenim bačvama različitog paljenja te inox spremniku razlika u koncentraciji nije drastična. Prema međunarodnoj organizaciji za lozu i vino, količina Zn ne bi trebala biti veća od 5 mg/L. Zatim slijede Br i Cu, koncentracija Br je iznosila od 0,141 – 0,193 mg/L, a Cu od 0,077 – 0,095 mg/L. Prevelike količine Cu dovode do tamnjenja vina zbog oksidacijskog kvarenja, kako bi se izbjegao navedeni problem preporuka je da koncentracija Cu bude ispod 0,5 mg/L (Durguti i sur., 2020). Koncentracija Pb iznosila je 0,0073 mg/L kod vina odležanog u inox spremniku, a kod vina odležanog u

jako paljenoj bačvi 0,0169 mg/L. U tablici prikazanoj u radu Towle i sur. (2017) koncentracija Pb u vinima proizvedenim u Hrvatskoj iznosila je do 0,0356 mg/L.

U **Tablici 3** su prikazani rezultati udjela polifenola, flavonoida, antocijana i polimernih boje. Najveći udio polifenola izmjeren je u vinu iz inox spremnika, 1622,04 mg/L, a s povećanjem stupnja paljenja bačve udio se smanjivao. Što se tiče flavonoida, najveća koncentracija izmjerena je u vinu iz LT bačve (638,85 mg/L), a najmanja 588,32 mg/L kod HAT bačve. Udio antocijana bio je najviši kod vina odležanog u inox spremniku (25,12 mg/L) zatim je se polagano smanjivao porastom stupnja paljenja bačve, te je ponovno porastao u vinu iz jako paljenje bačve (15,22 mg/L). Naime, udio antocijana je najveći u mladom vinu, dok se procesima starenja smanjiva, te se stvaraju derivati antocijana koji su odgovorni za intenzitet boje vina. Polimerna boja određena u vinu iz inox posude iznosila je 87,16 %, kod vina iz lagano paljene i srednje paljene bačve razlika nije bila velika, 71, 89 % i 76,35 %, dok je kod vina iz jako paljene bačve iznosila 80,55 %. Iz rezultata se može zaključiti da se stupnjem porasta paljenja bačve povećava i postotak polimerne boje, no najveći postotak je u vinu odležanom u inox spremniku.

Antioksidacijska aktivnost određivala se prema četiri različite metode: DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metodi, rezultati su prikazani **Tablicom 4**. Najveća antioksidacijska aktivnost određena je pomoću CUPRAC metode, kretala se u rasponu od 51,16 - 57,81  $\mu\text{MOL}/100 \text{ mL}$ , zatim sa ABTS metodom raspona od 10,47 - 13,88  $\mu\text{MOL}/100 \text{ mL}$ , znatno manja antioksidacijska aktivnost utvrđena je korištenjem DPPH I FRAP metoda.

Rezultati parametara boje različitih uzoraka vina su vidljivi u **Tablici 5**. Vrijednost svjetline  $L^*$  nije znatno razlikovala između uzoraka vina. Vrijednost parametra  $a^*$  (crvena/zelena boja) bila je najmanja kod vina iz inox posude i iznosila je 0,37, a najveća je bila kod vina iz MT bačve, 0,95. Vrijednost parametra  $b^*$  (žuto/plava boja) u svim uzorcima vina je poprilično slična, 0, 71

- 0,84. Što se tiče vrijednosti  $h^*$  (ton boje), najveći je određen kod vina iz inox posuda (62,77), a najmanji kod vina iz srednje paljene bačve (40,23). Najveća zasićenost boje ( $C^*$ ) utvrđena je kod vina iz srednje paljene bačve (1,25), a najmanja kod vina iz inox spremnika (0,8). Vrijednosti promjene boje u različitim uzorcima vina nisu se osjetno razlikovale, a kretale su se u rasponu od 19,29 - 19,87.

Rezultati identificiranih kemijskih spojeva koji utječu na aromatski profil vina i note

vina

prikazani su u **Tablici 6**, te **Slikama 9 i 10**. Identificirani kemijski spojevi su sljedeći: kiseline,



alkoholi, terpeni, esteri i fenoli. Arome koje identificirani spojevi daju vinu su: voćne, citrusne, cvjetne, zelene, ostale, spaljene, dimne te slabe i masne. Najmanji udio ukupnih kiselina određen je u vinu odležanom u inox spremniku i iznosio je 435,1 µg/L, dok je najveći udio, 1535,7 µg/L, određen u vinu odležanom u jako paljenoj bačvi. Najzastupljenija kiselina je octena kiselina, a također su zastupljene dekanska, laurinska i miristinska koje su odgovorene za masnu aromu vina. Prema Pravilniku o proizvodnji vina (NN 2/2005), maksimalno dozvoljena količina octene kiseline u crnim vinima je do 1,2 g/L. Ukupne kiseline doprinose osvježavajućem okusu vina, a ujedno služe kao i konzervansi.

Alkoholi doprinose aromi vina, ako se u vinima nalaze u koncentracijama do 300 mg/L, no ukoliko njihova koncentracija prelazi 400 mg/L imaju negativan učinak (Yue i sur., 2014). Najveća zastupljena koncentracija alkohola utvrđena je kod vina odležanog u lagano paljenoj bačvi (76117,8 µg/L), a najmanja u vinu iz inox spremnika (46915,5 µg/L). Najzastupljeniji alkoholi su, 2-feniletanol koncentracije od 8704,7 µg/L (HAT) te 8936,6 µg/L (INOX) i izoamilni alkohol sa najmanjom koncentracijom u inox posudi (36798,2 µg/L) te najvećom u lagano paljenoj bačvi (65231,4 µg/L). Od ostalih alkohola detektirani su sljedeći: 2,3-butandiol, heksan-1-ol, metionol, benzilni alkohol te dodekanol. Zahvaljujući prisutnosti alkohola u vinu se osjetne voćne, zelene, sumporne, citrusne, cvjete i masne arome.

Najveća koncentracija terpena određena je kod vina u srednje paljenoj bačvi i iznosi 241,2 µg/L, a najmanja 54,5 µg/L kod vina jako paljene bačve. Zastupljen u najvećoj količini je linalol (82 – 158 µg/L), a prisutni su i β-damascenon, α-jonon i β-jonon. U vinima daju citrusnu, voćnu, drvenu i cvjetnu aromu.

Esteri su detektirani u najvećem broju u svim uzorcima vina, pronađeno ih je čak 15. Najveći udio određen je kod vina odležanog u srednje paljenoj bačvi, 10645,6 µg/L, a najmanji kod vina odležanog u inox spremniku, 7669,0 µg/L. Ukupnom udjelu najviše su pridonijeli dietil sukcinat (6804,9 – 8488,2 µg/L), zatim etil izopentil sukcinat (419,8 – 766,2 µg/L) te etil heksanoat (175,9 – 446,0 µg/L). Također su pronađeni sljedeći esteri: etil oktanoat, fenetil acetat, etil dekanat, etil laurat, izoamil dekanat, heksil salicilat, etil miristat, izopropil miristat, dibutil ftalat, etil pentadekanoat, dibutil pftalat i etil palmitat. U vinima uglavnom pridonose voćnoj, cvjetnoj i masnoj aromi, a neki od navedenih aromi na karamel, med, spaljeno, dim, zelenoj i slaboj aromi.

---

Količinski najmanje detektirani aromatski spojevi u uzorcima vina su fenoli, ukupni udio iznosio je od 366,3  $\mu\text{g/L}$  (MT) do 704,1  $\mu\text{g/L}$  (HAT). Koncentracija 4-etilfenola zabilježena je u rangu od 48,3  $\mu\text{g/L}$  (INOX) – 264,3  $\mu\text{g/L}$  (HAT), dok je koncentracija 2,4 Di-T-butilfenola najveća bila kod vina iz inox spremnika (547,0  $\mu\text{g/L}$ ), a najmanja kod vina iz srednje paljene bačve (366,3  $\mu\text{g/L}$ ). Uglavnom su slabe arome ili arome na dim.

**Slikama 9 i 10** prikazan je udio aromatskih spojeva u različitim spremnicima vina, od spojeva su najzastupljeniji alkoholi 46,9 (INOX) – 76,1(LT) mg/L, esteri 7,7 (INOX) – 10,6 (MT) mg/L, zatim slijede kiseline u koncentraciji od 435,1 -1535,7  $\mu\text{g/L}$  i terpeni 54,5 – 241,2  $\mu\text{g/L}$ . Iz grafa sa koncentracijom kiselina je vidljiva velika razlika u količini kiselina u vinu jako paljene bačve, te ostalim uzorcima.

Što se tiče nota vina najviše zastupljene su voćne i citrusne te cvjetne i zelene, slijede ostale, zatim spaljene i dimne i na kraju slabe i masne note.

## **6. ZAKLJUČCI**

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Istraživanjem su ispitane promjene u polifenolnom sastavu i aromama vina odležanom u različitim vinskim posudama (posudi od nehrđajućeg čelika, barrique bačvi, slabog, srednjeg i jakog paljenja).
2. Isti elementi u tragovima pronađeni su u svim analiziranim vinima, ali u različitim koncentracijama.
3. Analizirani uzorci su sadržavali iste aromatske spojeve, također u različitim koncentracijama, shodno tome u uzorcima su razvijene različite note vina.
4. U svim uzorcima vina utvrđen je visok udio polifenolnih spojeva, što je karakteristično za crvena vina. Nadalje, u posudi od nehrđajućeg čelika ustanovljena je najveća koncentracija navedenih spojeva.
5. Najbolja antioksidacijska aktivnost zabilježena je kod vina odležanog u srednje paljenoj bačvi, čak u tri od četiri analizirane metode.
6. Rezultati parametara boje nisu se značajno razlikovali u analiziranim uzorcima.

## **7. LITERATURA**

- Alpeza I: Temelji kemijskog sastava vina. *Glasnik Zaštite Bilja* 31(6):143–150, 2008.
- Banović M: *Kemija i tehnologija vina*, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2020.
- Benzie IFF i Strain JJ: Ferric Reducing/Antioxidant Power assay: Direct Measure of Total Antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version for Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic Acid Concentration. *Methods in Enzymology* 299:15–27, 1999.
- Bowers J, Meredith C: The parentage of a classic wine grape, Cabernet Sauvignon. *Nature Genetics* 16, 84–87, 1997.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME i Berset C: Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie - Food Science and Technology* 28:25–30, 1995.
- Budimir J: Određivanje granice kvantifikacije antibiotika u medu vezanim sustavom tekućinska kromatografija – tandemna spektrometrija masa. *Diplomski rad*. Prirodoslovnomatematički fakultet, Zagreb, 2016.
- Cabello-Pasini A, Siqueiros-Valencia A, Huerta-Diaz M A i Macias Carranza A: Concentrations of Calcium, Magnesium, Potassium, and Sodium in Wines from Mexico. *American Journal of Enology and Viticulture* 64(2):280-284, 2013.
- Clarke R.J. i Bakker J: *Wine Flavour Chemistry*, Blackwell Publishing Ltd., 2004.
- Crump A. M: Alternatives to oak barrel maturation: influence on composition, sensory properties and consumer acceptance of wine. *Doctoral thesis*. Faculty of Science, University of Adelaide, 2015.
- Cedilak A: Antioksidacijska svojstva vina. *Završni rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2016.
- Claus H: Wine fermentation. U *Fermentation*, Vol. 5, Issue 1, MDPI, Švicarska, 2019.
- De Beer D, Joubert E, Gelderblom W.C.A i Manley M: Phenolic compounds: A review of their possible role as in vivo antioxidants of wine. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 23: 48-71, 2002.
- Divol B, Bauer F F: Metabolic engineering of wine yeast and advances in yeast selection methods for improved wine quality. U: *Managing wine quality*, Volume 2: Oenology and wine quality, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, str. 34 – 52, 2010.
- Durguti V, Aliu S, Feka F i Laha F: Determination of Iron, Copper and Zinc in the Wine by FAAS, *Emerging Science Journal* 4(5):411-417, 2020.
- Eschnauer H, Neeb R: Micro-Element Analysis. U: *Wine and Grapes*. (H.F. Linskens and J.F. Jackson, ured.) „*Wine Analysis*“, Springer-Verlag, Berlin, str. 67-91, 1988.

- Francesco C: Taster responses to acidity in white wines. *Diplomski rad*. Instituto superior d agronomia, Lisabon, Portugal, 2017.
- Gambutì A, Rinaldi A, Ugliano M, Moio L: Evolution of phenolic compounds and astringency during aging of red wine: effect of oxygen exposure before and after bottling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*., IX Italian Congress of Food Chemistry, 2012.
- Gómez Gallego M. A, Sánchez-Palomo E, Hermosín-Gutiérrez I, González Viñas M. A: Effect of oak chip addition at different winemaking stages on phenolic composition of Moravia Agria red wines. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 36, 21-31, 2015.
- Grainger K i Tattersall H: Wine Production: Vine To Bottle. *Blackwell Publishin*, Pondicherry, India, Oxford, Velika Britanija, 2005.
- Grgić I: Površine i posebnosti provođenja agro i ampelotehničkih zahvata u ekološkom vinogradarstvu u Republici Hrvatskoj. *Diplomski rad*. Poljoprivredni fakultet. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2016.
- Gupta D: Methods for determination of antioxidant capacity: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 6(2):546–566, 2015.
- Hodson G, Wilkes E, Azevedo S i Battaglone T: Methanol in wine. *BIO Web of Conferences* 9:02028, 2017.
- Ivić I, Kopjar M, Jakobek L, Jukić V, Korbar S, Marić B, Mesić J i Pichler A: Influence of Processing Parameters on Phenolic Compounds and Color of Cabernet Sauvignon Red Wine Concentrates Obtained by Reverse Osmosis and Nanofiltration. *Processes* 9(1):89, 2021a.
- Ivić I, Kopjar M, Pichler D, Buljeta I i Pichler A: Concentration with Nanofiltration of Red Wine Cabernet Sauvignon Produced from Conventionally and Ecologically Grown Grapes: Effect on Phenolic Compounds and Antioxidant Activity. *Membranes* 11(5):6–8, 2021d.
- Jackson RS: Wine science: Principles and applications, third edition. UIn *Paper Knowledge . Toward a Media History of Documents*, Academic Press, Elsevier Inc., Burlington, London, San Diego, 2008.
- Jakobek L: Karakterizacija polifenola u voću i njihov utjecaj na antioksidacijsku aktivnost voća. *Doktorska disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2007.
- Jakobi I: Proizvodnja crnih vina. *Diplomski rad*. Poljoprivredni fakultet. Sveučilište Josipa JurjaStrossmayera u Osijeku, 2015.
- Jakobović M: *Strojevi i oprema u vinarstvu-interna skripta*, Veučilište u Požegi, Požega, 2013.
- Kalogjera R:Tehnologija izrade hrastovih bačava za vino. *Završni rad*, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet šumarstva i drvne tehnologije, 2020.

- Kedare SB i Singh RP: *Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. Journal of Food Science and Technology* 48(4): 412-422, 2011.
- Keser I :Morfološka obilježja i značaj vrste vinove loze (*Vitis vinifera L.*). *Završni rad*. Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, 2019.
- Krušelj M: *Alkoholna fermentacija vina. Završni rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2014.
- Ly BCK, Dyer EB, Feig JL, Chien AL i Del Bino S: Research Techniques Made Simple: Cutaneous Colorimetry: A Reliable Technique for Objective Skin Color Measurement. *Journal of Investigative Dermatology* 140(1):3-12.e1, 2020.
- Licul R i Premužić D: *Praktično vinogradarstvo i podrumarstvo (sedmo, promijenjeno izdanje)*. Nakladni zavod Znanje. Zagreb, 1993.
- Lin J, Massonnet M i Cantu D: The genetic basis of grape and wine aroma. *Horticulture Research* 6(1):81, 2019.
- Maletić E, Karoglan Kontić J i Pejić I: *Vinova loza - Ampelografija, ekologija, oplemenjivanje*. Školska knjiga, Zagreb, 2008.
- Margalit Y: *Concepts in Wine Technology: Small Winery Operations*, Third Edition, USA: Board and Bench Publishing, 2012.
- Mirić L: Stroj za mljevenje grožđa. *Završni rad*. Fakultet strojarstva i brodogradnje, Sveučilište u Zagrebu, 2015.
- Mirošević N: *Vinogradarstvo*. Nakladni zavod Globus, Zagreb, 1996
- Mirošević N i Karoglan Kontić J: *Vinogradarstvo*. Nakladni zavod Globus, Zagreb, 2008. Moreno J i Peinado R: *Enological chemistry*. Elsevier Inc., Universidad de Cordoba, Cordoba, Spain, 2012.
- Mottaleb MA, Meziani MJ i Islam MR: Solid-phase microextraction and its application to natural products. U *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, Velika Britanija, 2014.
- Narodne Novine: *Pravilnik o proizvodnji vina*. NN 2/05, 2005. Narodne Novine: *Zakon o vinu*. NN 32/19, 2019.
- Narodne Novine: *O ekološkoj poljoprivrednoj proizvodnji*. NN 30/15, 2019. Narodne Novine: *Zakon o poljoprivredi*. 118/18., 42/20 i 127/20. 2021.



Özyürek M, Güçlü K, Tütem E, Bakan KS, Erçağ E, Esin Çelik S, Baki S, Yıldız L, Karaman Ş i Apak R: A Comprehensive Review of CUPRAC Methodology. *Analytical Methods* 3:2439–2453, 2011.

- Pichler A: Utjecaj dodataka i skladištenja na kvalitetu, reološka i termofizikalna svojstva paste od maline. *Doktorski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2011.
- Pichler A: *Tehnologija vina*. Nastavni materijali. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2018.
- Piljek L: Određivanje pojedinih minerala u vinu sorte Rajnski rizling. *Završni rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2020.
- Popović K: Utjecaj koncentriranja membranskim procesima na tvari boje i arome soka od aronije. *Doktorska disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2019.
- Prce V: Sadržaj antocijana, polifenola, flavonoida i antioksidativna aktivnost u crnim vinima Slovačkih vinogorja. *Diplomski rad*, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek 2014.
- Radić N i Kukoč Modun L: *Uvod u analitičku kemiju*, I . dio. Školska knjiga, Zagreb, 2013.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M i Rice-Evans C: Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology & Medicine* 26:1231–1237, 1999.
- Romero-Cascales I, Fernandez-Fernandez JI, Lopez-Roca JM i Gomez-Plaza E: The maceration process during winemaking extraction of anthocyanins from grape skins into wine. *European Food Research and Technology* 221:163–167, 2005.
- Rouessac F i Rouessac A: *Chemical Analysis: Modern Instrumentation Methods and Techniques*. Wiley, 2013.
- Skoog DA, West DM i Holler FJ: *Osnove analitičke kemije*. Školska knjiga, Zagreb, 1999.
- Stein T, Carvalho IR, Szarecki VJ, Zocche RGS, Zocche F, Aloy KG, Santos L de V dos, Martins HCGB, Lautenchleger F i Souza VQ de: *Quality of Cabernet Sauvignon Wines Determined by the Variability of Climatic Attributes*. *Journal of Agricultural Science* 10(8):380, 2018.
- Šafranjević M: Utjecaj skladištenja na kakvoću crnog vina plavac mali. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2018.
- Tao Y-S, Liu Y i Li H: Sensory characters of Cabernet Sauvignon dry red wine from Changli County (China). *Food Chemistry* 114(2):565–569, 2009.
- Tao Y, García JF i Sun D-W: Advances in Wine Aging Technologies for Enhancing Wine Quality and Accelerating Wine Aging Process. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 54(6):817–835, 2014.
- Tariba B: Metals in Wine—Impact on Wine Quality and Health Outcomes. *Biological Trace Element Research* 144(1–3):143–156, 2011.

Tomas D i Kolovrat D: *Priručnik za proizvodnju vina - za male proizvođače i hobiste*. Federalni agromediteranski zavod, Mostar, 2011.

Towle K M, Garnick L i Monnot A D: A human health risk assessment of lead (Pb) ingestion among adult wine consumers, *International Journal of Food Contamination* volume 4, Article number: 7, 2017.

Vukoja J, Pichler A i Kopjar M: Stability of Anthocyanins, Phenolics and Color of Tart Cherry Jams. *Foods* 8(7):255, 2019.

Yue TX, Chi Mi, Song CZ, Liu MY, Meng JF, Zhang ZW i Li MH: Aroma characterization of Cabernet Sauvignon wine from the Plateau of Yunnan (China) with different altitudes using SPME-GC/MS. *International Journal of Food Properties* 18:1584–1596, 2014.

Znaor D: *Ekološka poljoprivreda*. Nakladni zavod Globus, Zagreb, 1996.

Web 1

[http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=cabernet\\_sauvignon](http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=cabernet_sauvignon) [5.8.2022.]

