

# Utjecaj koncentriranja membranskim procesom reverzne osmoze na tvari boje konvencionalnog i ekološkog vina Cabernet Sauvignon

---

Silov, Domagoj

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:109:307306>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](#)/[Imenovanje-Nekomercijalno-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**

**Domagoj Silov**

**UTJECAJ KONCENTRIRANJA MEMBRANSKIM PROCESOM REVERZNE  
OSMOZE NA TVARI BOJE KONVENCIONALNOG I EKOLOŠKOG VINA  
CABERNET SAUVIGNON**

**DIPLOMSKI RAD**

Osijek, 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 Prehrambeno inženjerstvo

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija  
**Nastavni predmet:** Tehnologija vina  
**Tema rada** je prihvaćena na VII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2020./2021. održanoj 29. travnja 2021.  
**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Anita Pichler  
**Pomoć pri izradi:** dr. sc. Ivana Ivić.

### Utjecaj koncentriranja membranskim procesom reverzne osmoze na tvari boje konvencionalnog i ekološkog vina Cabernet Sauvignon *Domagoj Silov, 0113139153*

**Sažetak:** Zadatak rada je ispitati utjecaj koncentriranja tvari boje postupkom reverzne osmoze pri različitim procesnim parametrima tlaka i temperature na uzorcima konvencionalnog i ekološkog vina Cabernet Sauvignon. Proces koncentriranja provodio se pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom hlađenja i bez primjene hlađenja, na laboratorijskom uređaju LabUnit M20 s pločama i okvirima, primjenom kompozitnih membrana tipa Alfa Laval – NFM20. Uzorci permeata i retentata uzimat će se u određenim vremenskim intervalima te će se odrediti: polifenoli, antocijani i antioksidacijska aktivnost upotrebom spektrofotometra te fenolne kiseline tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti na uređaju HPLC 1260 Infinity II (Agilent Technologies, CA, USA). Osnovni kemijski sastav odredit će se prema Pravilniku o fizikalno – kemijskim metodama analize mošta, vina, drugih proizvoda od grožđa i vina te voćnih vina, NN 106/2004.

**Ključne riječi:** reverzna osmoza, Cabernet Sauvignon, tvari boje, ekološko vino, konvencionalno vino

**Rad sadrži:** 58 stranica  
9 slika  
9 tablica  
0 priloga  
37 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:** 29. 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 Osijek**  
**Subdepartment of Food Engineering**  
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

### Graduate program Food Engineering

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food technology

**Course title:** Wine Technology

**Thesis subject** was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VII held on April 29, 2021.

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

**Technical assistance:** *Ivana Ivić*, PhD

### **The influence of Concentration by Membrane Process of Reverse Osmosis on the Colour Compounds of Conventional and Organic Cabernet Sauvignon Wine**

*Domagoj Silov, 0113139153*

**Summary:** Project task is testing effect of concentrating substance of color by procedure of reverse osmosis with different pressure and temperature processing parameters on samples of conventional and ecological vine Cabernet Sauvignon. Concentrating process was conducted at pressures of 25, 35, 45 and 55 bars, with and without cooling application, on laboratory device LabUnit M20 with plates and frames, using composite membranes type Alfa Laval – NFM20. Permeate and retentate samples will be taken in certain time intervals and it will determine: polyphenols, anthocyanins and antioxidant activity using spectrometer and also phenolic acid by high-performance liquid chromatography on HPLC 1260 Infinity II device (Agilent Technologies, CA, USA). Basic chemical composition will be determined according to Regulations of physicochemical analysis method of must, vines, other grape products and vines and fruit vine, NN 106/2004.

**Key words:** reverse osmosis, Cabernet Sauvignon, colour compounds, organic wine, conventional wine

**Thesis contains:** 58 pages  
9 figures  
9 tables  
0 supplements  
37 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 29, 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

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	3
2.1. VINOVA LOZA.....	4
2.1.1. Podrijetlo i botanička svojstva vinove loze .....	4
2.1.2. Mehanička i kemijska svojstva.....	4
2.2. VINO .....	7
2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA .....	9
2.4. PROIZVODNJA VINA .....	15
2.5. EKOLOŠKA PROIZVODNJA VINA.....	20
2.6. CABERNET SAUVIGNON .....	20
2.7. MEMBRANSKI PROCESI.....	20
2.8. KROMATOGRAFIJA .....	28
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	31
3.1. ZADATAK.....	32
3.2. MATERIJALI I METODE .....	32
3.3. SPEKTROFOTOMETRIJSKA ANALIZA.....	33
3.4. ODREĐIVANJE POLIFENOLA HPLC – METODOM.....	36
4. REZULTATI .....	38
4.1. TABLIČNI PRIKAZ REZULTATA .....	39
5. RASPRAVA .....	44
6. ZAKLJUČCI .....	49
7. LITERATURA .....	51

## **1. UVOD**

Vino je skupina fermentiranih prehrambenih proizvoda dobiveno procesom fermentacije grožđa. Ime vino potječe od latinske riječi viere koja znači vijugati, izvijati se, što opisuje uvijenu vinovu lozu iz koje se i dobiva. Najranije napisan dokument u kojemu se spominje vino bila je biblija. U Starom zavjetu se navodi kako je Noa nakon velikog potopa zasadio vinograd te postao prvi vinogradar. Proizvodnja vina započela je na obroncima Kavkaza, za vrijeme neolitika između devetog i četvrtog stoljeća prije Krista. Proizvodnja vina pridonio je izum lončarstva koje je omogućilo njegovo skladištenje te samu fermentaciju grožđa. Vino nastaje fermentacijom soka grožđa tijekom koje kvaščeve gljivice, prisutne u grožđu, fermentiraju šećere u alkohol.

Prepoznatljivost same kvalitete vina kod potrošača uočava se ispreplitanjem senzorskih svojstava te bogatstvom kemijskog sastava pojedine sorte grožđa. Najodgovorniji faktor stvaranja predodžbe crnog vina potječe iz njegove crvene boje. Boja vina potječe od pigmenta koji se naziva antocijan, pigment koji je pripadnih polifenolnih spojeva. Pokraj formiranja aromatskog profila i boje vina, fenoli imaju i antioksidativno djelovanje koje povoljno utječe na zdravlje čovjeka. Budući da tijekom proizvodnje dolazi do promjena na samom vinu potrebno je očuvati kvalitetu i zadržati povoljna svojstva vina. Koncentriranje predstavlja najbolji način prema tom pogledu, što podrazumijeva uklanjanje vode što pogoduje duljoj stabilnosti i većem roku trajanja samog proizvoda, te manjem volumenu i pritom smanjenjem troškova skladištenja, pakiranja i dostave. Najefikasniji postupci koncentriranja tekućih namirnica su membranske tehnologije reverzne osmoze i nanofiltracija (Cassano i sur., 2020; Grainger i Tattersall, 2016; Jaffrin, 2015).

Reverzna osmoza predstavlja tehniku separacije komponenata otopine kroz semipermeabilnu membranu propusnosti za molekule vode, ali ne i za veće ione, djelovanjem osmotskog tlaka. Ovim postupkom se uklanja 94 – 99% iona te 100% tvari organskog podrijetla. Veličina pora membrana reverzne osmoze je manja od 1 nm. Najvažnije prednosti provedbe reverzne osmoze su minimalna degradacija osjetljivih komponenata poput tvari arome i boje (Cassano i sur., 2020; Kotsanopoulos i Arvanitoyannis, 2013; Hausmann i sur., 2012 ).

Cilj istraživanja je bio ispitati moćnosti primjene reverzne osmoze u koncentriranju vina Cabernet Sauvignon te ispitati zadržavanje boje u dobivenim koncentratima konvekcionalnog i ekološkog vina obzirom na početni uzorak. Reverzna osmoza se provodila na membranskom uređaju *LabUnit M20* pri različitim procesnim parametrima tlaka s primjenom hlađenja i bez njega

## **2. TEORIJSKI DIO**



## 2.1. VINOVA LOZA

### 2.1.1. Podrijetlo i botanička svojstva vinove loze

Vinova loza je vrlo stara kultura što ukazuju pronađeni fosilni ostaci koji datiraju i 60 milijuna godina od današnjeg dana što se povezuje sa najvažnijim znanstvenim dokazima o postojanju vinove loze u dalekoj prošlosti. Uzgoj vinove loze započeo je oko Kaspijskog mora te na području Mezopotamije odnosno današnjeg Irana. (Pichler, 2018)

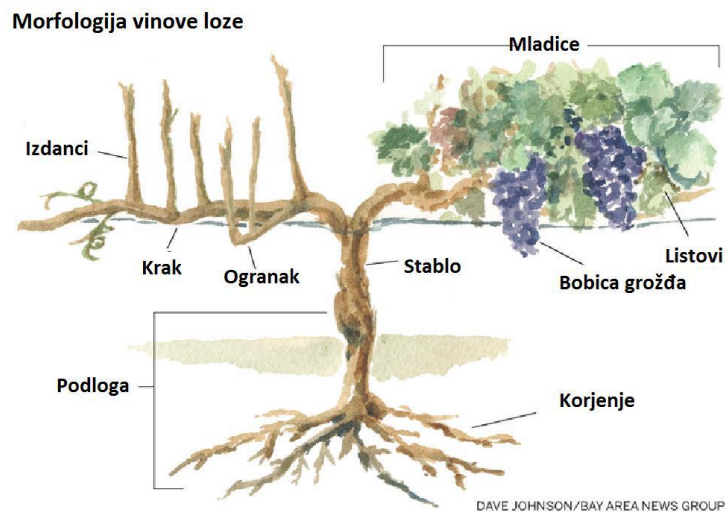
Vinova loza je grmolika penjačica iz porodice Vitaceae ili Ampelideae. U porodici vinove loze postoji 10 rodova od kojih je za proizvodnju vina najvažniji rod Vitis. Prema zakonu o vinu, za proizvodnju vina koriste se sorte vinove loze koje pripadaju vrsti Vitis vinifera ili križancima Vitis vinifere s drugim vrstama roda Vitis (Zakon o vinu, 32/19). Podrodovi roda Vitis se mogu podijeliti na Muscadinu i Euvitis (koja se sastoji još od 30 američkih, 40 azijskih i 1 euroazijske vrste). Navedene američke vrste (Vitis riparia, Vitis rupestris te Vitis berlandieri) se koriste kao podloge za europske vinske loze pri čemu nastaju hibridi koji se mogu podijeliti na:

- američko – američki hibrid
- europsko – američki hibrid i
- kompleksni hibrid.

Hibridi se uzgajaju budući europske vrste loze nisu otporne na štetnike poput Filoksere, Pepelnice i Peronospore. (Zoričić, 1996)

### 2.1.2. Mehanička i kemijska svojstva

Vinova loza, kako je prikazano na **Slici 1**, se sastoji od podzemnog i nadzemnog dijela. Pod pojmom podzemni dio se podrazumijeva korijen, dok nadzemni dio obuhvaća stablo, krakove, rozgvu, pupove, izdanke, listove, zaperke, vitice, cvijet, grozd i bobicu.



**Slika 1** Morfologija vinove loze (Pichler, 2018)

### Korijen

Korijen je organ vinove loze koji ima mnogo uloga poput:

- osigurava stabilnost vinove loze
- opskrbljuje lozu vodom i hranjivim tvarima
- apsorbira ugljikov dioksid iz tla kojeg vinova loza koristi u procesu fotosinteze
- sintetizira organske spojeve i
- ima ulogu „skladišta” hranjivih tvari

### Pupovi

Pupovi se mogu podijeliti na zimske, ljetne te spavajuće. Zimski pup se oblikuje uz ljetni u pazušću lista tijekom vegetacije. Ljetni pup nastaje u isto vrijeme kada i zimski te se tijekom vegetacije pretvara u zaperak (glavni pup). Spavajući pup nastaje od pupova i suočica s osnovne rozgve. Takvi pupovi se za razliku od ostalih uklope u drvo i miruju pokriveni korom do pojave povoljnih uvjeta za njihovo otvaranje.

### List

Listove možemo pronaći na koljencu mladice. Sastoje se od 2 dijela, peteljke i plojke. Razlikujemo više vrsta listova koji se dijele na: mlade listove (10 – 12 cm), srednje duge (17-20cm) i duge listove (> 20 cm). Listovi obavljaju jednu od najvažnijih funkciju u fotosintezi.

Fotosinteza je funkcija koja se odvija u kloroplastima, gdje uz pomoć sunčeve energije iz ugljikova dioksida i vode stvaraju ugljikohidrate koje biljka koristi kao glavne nutrijente u rastu i razvoju, kako vegetacije tako i samog uroda.

### Cvat, cvijet i vitice

Cvat, cvijet i vitice spadaju u generativne organe vinove loze. Pokraj navedenih u generativne organe se još ubrajaju grozd, bobica te vitica. Cvat je skup cvjetova koji se nalazi na koljencu. Može sadržavati od 100 do 1500 cvjetova. Cvijet je građen od 5 krugova, čaške, cvjetne kapice, prašnika, žlijezde nektarine i tučka. Postoje tri tipa cvjetova:

- dvospolan ili hemaforditni
- u funkciji ženski, a morfologijom dvospolni i
- muški.

Najčešći cvjetovi su dvospolni, ali se pojavljuju i vrste s ženskim tipom cvijeta.

### Grozd

Nakon cvatnje iz cvata nastane grozd. Grozd po zbijenosti može biti vrlo zbijen, zbijen, rastresit i vrlo rastresit. Oblik samoga grozda može biti ljevkasti, cilindrični ili valjkast, konusni ili piramidalni te razgranat.

### Bobica

Bobica se sastoji od kožice (epikarpa), mesa (mezokarpa) te sjemenke. Epikarp sadrži tvari boje te daje okus vina jer pokraj tvari boje epikarp je također izvoj i tvari arome koje utječu na kvalitetu vina. Kožica se sastoji od šest do deset slojeva te na površini sadrži kvasce i bakterije potrebne za fermentaciju. Mezokarp je ispunjen sokom (moštom) u kojemu se nalaze kiseline, šećeri te voda. Sam sastav mošta je strogo povezan sa gustoćom istog. Sjemenku sačinjava masna jezgra oko koje se nalazi drvenasta ljuska obavijena taninskom kutikulom u kojoj se nalaze tanini, koji, naravno, procesom maceracije mogu dospjeti u krajnji proizvod.

## 2.2. VINO

### Definicija i podjela vina

Vino je poljoprivredni prehrambeni proizvod koji je dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta od svježeg i za preradu vina pogodnog grožđa (NN 32/19).

Prema zakonu o vinu (NN 32/19) groždem se podrazumijeva zdrav, zreo, prezreo, prosušen ili prirodno smrznut plod vinove loze priznatih kultivara namijenjen za proizvodnju vina ili proizvoda od grožđa gdje mošt mora sadržavati minimalnu količinu šećera od 64° Oechsle.

Vino, prema Zakonu o vinu, možemo podijeliti u:

1.) Vina u užem smislu riječi:

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

2.) Specijalna vina:

- desertna,
- aromatizirana i
- likerska vina.

3.) Po boji:

- bijela,
- ružičasta i
- crvena vina.

4,) Prema kakvoći:

- stolno,
- kvalitetno,
- vrhunsko,
- arhivsko i
- predikatno vino.

Mirna vina se prema sadržaju neprevrelog šećera mogu podijeliti na suha, polusuha, poluslatka i slatka, dok pjenušava, gazirana i biser vina mogu biti i vrlo suha.

Kategorija vina ovisi o kakvoći grožđa, prinosu, stupnju zrelosti, preradi, njezi, randmanu, količini prirodnog alkohola te senzorskim svojstvima.

Sorte grožđa za proizvodnju vina u Kontinentalnoj Hrvatskoj:

1.) Za bijela vina:

- graševina bijela,
- rajnski rizling bijeli,
- chardonnay bijeli,
- traminac crveni,
- traminac mirisavi,
- pinot bijeli,
- pinot sivi,
- sauvignon bijeli i
- plemenka bijela.

2.) Za crna vina:

- frankovka crna,
- cabernet sauvignon crni,
- pinot crni,
- portugizac crni,
- zweigelt i
- merlot crni.

Sorte grožđa za proizvodnju vina u Primorskoj Hrvatskoj:

1.) Za bijela vina:

- malvazija istarska bijela,
- pošip bijeli,
- maraština bijela,
- grk bijeli,
- žilavka bijela,
- kujundūša bijela,
- žlahtina bijela.

2.) Za crna vina:

- plavac mali,
- babić crni,
- teran crni,
- cabernet sauvignon crni,
- merlot crni,

- plavina crna,
- crljenak.

### 2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA

Kemijski sastav vina ovisi o brojnim čimbenicima koji se kreću od sastava grožđa, zdravstvenom stanju bobica, klimatskim uvjetima pa sve do načina prerade i proizvodnje vina (Pozderović, 2010). Broj organskih i anorganskih poznatih spojeva u vinu kreće se preko šesto, dok se broj nedefiniranih spojeva s obzirom na kemijski sastav kreće preko tri tisuće. Udjeli komponenata u vinima određuju se kemijskim analizama i moraju biti u skladu s propisima određenim u Zakonu o vinu (Barbarić, 2018).

#### Alkoholi

Najzastupljeniji alkoholi u vinu su etanol i metanol. Vina su alkoholna pića kod kojih minimalan udio alkohola mora biti 8,5 vol.%, što vrijedi za stolna vina, pa sve do 15vol.%. U vinu postoje dvije skupine alkohola, pod te dvije skupine se podrazumijevaju alifatski i aromatski alkoholi. Pokraj toga što spada među najzastupljenije alkohole koji se javljaju u vinu, etanol spada i u najvažniji alkohol. Etilni alkohol, ili etanol, nastaje procesom fermentacije, koja može biti namjerna ili može biti indikator mikrobiološkog kvarenja. Etanol u vinima nastaje procesom alkoholne fermentacije prirodnih šećera iz grožđa, ili iz saharoze koja se dodaje kod popravljivanja mošta. Količina etilnog alkohola u vinima kreće se od 10% do 12% (Vrdoljak, 2009). Osim etanola, u vinu ne može pronaći i metanola, kako je navedeno prijašnje. Metanol je, za razliku od etanola, nusprodukt koji nastaje hidrolizom pektinskih tvari. Jedan od glavnih i najvećih problema oko metanola je taj što se metanol može oksidirati do formaldehida i mravlje kiseline koji su toksični za ljudski organizam, prvenstveno živčani sustav (Pozderović, 2010).

U vinima se može naći i manja količina viših alkohola kojih u kemijskim reakcijama sa kiselinama prvenstveno tvore estere koji su prijeko potrebni za kakvoću vina (Vrdoljak, 2009). Glavni predstavnici viših alkohola u vinima su:

- propan-1-ol (n-propanol)
- 2 – metilpropan - 1- ol (izobutanol)
- 2 – metilbutan – 1 – ol (amilni alkohol)
- 3 – metilbutan - 1 – ol (izoamilni alkohol) i

- 2 – feniletanol

Viši alkoholi u koncentraciji do 300 mg/L doprinose razvoju željene arome, dok koncentracije više od 400mg/L negativno utječu na aromu (Pichler, 2018)

### Kiseline

Kiseline u vinu uglavnom potječu iz procesa nepotpune oksidacije šećera koje preko bobica prelaze u mošt te naknadno i u vino (Andabak, 2017). U vinima možemo naći više vrsta kiselina te su prisutne organske kiseline, koje se dijele na hlapljive i nehlapljive, anorganske kiseline te soli različitih kiselina. Prema Pravilniku o vinu (NN 02/05), vino mora sadržavati najmanje 4,5 g/L kiselina izraženih kao vinska kiselina, dok maksimalno smije sadržavati 14 g/L. Najzastupljenije vrste organskih kiselina koje se mogu pronaći u vinu su:

- limunska,
- jantarna,
- vinska i
- jabučna kiselina.

Od navedenih, vinska kiselina daje osnovni kiseli okus vina. Jabučnu kiselinu pronalazimo u voću, te se može transformirati do mliječne kiseline. Dok se jantarna kiseline pronalazi u grožđu gdje nastaje kao sekundarni produkt prilikom alkoholnog vrenja ( Mirošević i sur., 2009).

Organske kiseline u vino mogu dospjeti iz različitih izvora:

- iz grožđa, mošta ( vinska, jabučna, limunska, askorbinska, oksalna, glikolna, glukonska)
- prilikom alkoholne fermentacije ( piruvična, mliječna, sukcijska, oksalna, fumarna kiselina)
- procesom malolaktičke fermentacije (mliječna kiselina nastala iz jabučne kiseline) i
- metabolizmom sive plijesni u grožđu (Horvat, 2010).

Kiseline se u vinu mogu podijeliti na:

- ukupne kiseline ( sadržaj svih kiselina izraženih kao vinska kiselina),
- hlapljive i nehlapljive kiseline (Pozderović, 2010)

### Ugljikohidrati

Ugljikohidrati su organski spojevi građeni od ugljika, vodika i kisika. Ovi spojevi nastaju procesom fotosinteze u zelenim dijelovima biljke dok ga u bobicama istim procesom nastaje puno manje (Čobanov, 2016). Prema građi ugljikohidrate možemo podijeliti na:

- monosaharide,
- disaharide i
- polisaharide.

Najzastupljeniji predstavnici monosaharida u grožđu, ujedno moštu i vinu su glukoza i fruktoza. Udio glukoze je nešto veći u odnosu na fruktozu tijekom procesa razvoja bobice. Taj omjer se gotovo izjednači u stupnju tehnološke zrelosti grožđa.

Predstavnici disaharida u grožđu su saharoza, maltoza, laktoza, rafinoza i trehaloza. Od svih navedenih samo je saharoza bitna za kakvoću vina (Vrdoljak, 2009).

Pokraj mono i disaharida u grožđu se mogu pronaći i pektini, škrob, glikogen te sluzave tvari koji predstavljaju polisaharide, a stvaraju problem prilikom taloženja i bistrenja (Vrdoljak, 2009).

Prema sadržaju neprevrelog šećera nakon završenog vrenja vina možemo podijeliti na:

- suha vina ( manje od 4 g/L neprevrelog šećera),
- polusuha ( 4 – 12 g/L neprevrelog šećera),
- poluslatka ( 12 – 50 g/L neprevrelog šećera) i
- slatka vina ( više od 50 g/L neprevrelog šećera).

Šećer u vinu reducira trpkost, gorčinu i kiselost, a namjerno dodavanje šećera je zabranjeno (Alpeza, 2008). Udio šećera u grožđu i moštu se određuje moštnim vagama (Oechslova i Baboova ili Klosterneuburuška vaga), ili refraktometrom (Horvat, 2010). Visokokvalitetne sorte imaju od 22 – 28% šećera, dok se u kvalitetnih sorata količina šećera kreće od 18 – 22% ( Vuković, 2000.).

### Esteri

Esteri su organski spojevi koji nastaju reakcijom esterifikacije između alkohola i kiselina. Udio estera u grožđu je manji nego u vinu. Posljedica toga je proces fermentacije (hlapljivi esteri), ili proces odležavanja i starenja vina (nehlapljivi esteri). Najznačajniji esteri koji se mogu pronaći u vinu su esteri octene kiseline ( etil acetat, propil acetat, izopropil acetat, izobutil acetat i azoamil acetat) koji doprinose svježini vina i ugodnom mirisu vina. Od navedenih, naznačajniji je etil – acetat koji u količinama do 60 mg/L pridonosi voćnosti, dok veće količine daju neprihvatljivu aromu (Alpeza, 2008; Vrdoljak, 2009).



### Aldehidi i ketoni

Aldehidi, ketoni, kao i mnogi drugi hlapljivi spojevi u vino dostižu ekstrakcijom iz hrastovih bačava u kojima se vina skladište. Od aldehida najzastupljeniji spoj je acetaldehid kojega ima i do 90% u vinu. Aldehidi vinima daju oštar miris koji podsjeća na voće. Količina acetladehida u vinima ovisi o količini sumpora koji se dodaje, odnosno procesa sumporenja.

Ketoni u vinu su znatno manje zastupljeni za razliku od aldehida. Više koncentracije imaju miris po maslacu što konzumenti mogu povezati sa užeglosti vina u kojoj se u ovom slučaju ne radi (Vrdoljak, 2009).

### Tvari arome

Aromu vina čine različiti hlapljivi spojevi koji se nalaze u vinu, a procjenjuje se da oko 800 različitih hlapljivih spojeva sudjeluju u stvaranju arome vina. Arome vina, s obzirom na podrijetlo i načinu formiranja možemo podijeliti na:

- primarne (sortne) arome,
- sekundarne (fermentativne) i
- tercijarne arome (bouquet).

Primarne arome su vrste aroma koje se nalaze u grožđu te također nastaju u predfermentativnoj fazi. Glavni predstavnici su terpeni te alkoholi sa šest ugljikovih atoma ,u čiju skupinu spadaju geraniol, linalol, nerol, citronelol, hotrineol. Spojevi primarne arome daju cvjetne i voćne mirise (Vrdoljak, 2009).

Sekundarne arome potječu iz procesa alkoholne i malolaktičke fermentacije te se zbog toga nazivaju i fermentativnim aromama. Nositelji sekundarnih aroma su acetatni i etilni esteri te viši alkoholi (Ivić i sur., 2021b).

Tercijarne arome vina (bouquet) formiraju se za vrijeme procesa dozrijevanja vina. Ove arome nastaju oksidacijom primarnih i sekundarnih aroma vina te ekstrakcijom i drvenih bačava u kojima se provodi proces dozrijevanja (Pozderović, 2010).

### Fenolni spojevi

Fenolni spojevi su skupina spojeva koji imaju hidroksilnu skupinu na aromatskom prstenu. Nalazimo ih u obliku glikozida ili estera šećera otopljenih u vakuoli (Galić, 2020). Možemo ih podijeliti na:

- flavonoide i
- neflavonoide.

U flavonoidnu skupinu spadaju:

- flavan – 3 – oli (katehin, epikatehin)
- proantocijanidi
- antocijanidi (cijanidin, peonidin, definidin, petunidin, malvidin) i
- flavonoli (kemferol, kvercetin, miricetin, izoramnetin).

Dok u skupinu neflavonoidnih spojeva koji se javljaju u vinima spadaju:

- hidroksicimetne kiseline ( kaftarna kiselina, kava kiselina, ferulna kiselina ...),
- hidroksi benzojeve kiseline (galna kiselina iz sjemenki, vanilijeva kiselina, siringilska kiselina koja se može naći u kožici) i,
- stilbeni (resveratrol) (Pichler, 2018.).

Fenolni spojevi se mogu sintetizirati na više načina od kojih postoje dva najvažnija:

- put šikiminske kiseline i
- put jabučne kiseline (Galić, 2020).

U vinima fenolni spojevi potječu iz procesa ekstrakcije istih iz kožice, sjemenke, a ponekad i petaljke. Vinima daju, naročito crnom vinu, daju karakterističnu boju, okus i trpkost. Od fenolni spojeva, flavonoidi prevladavaju u crnim vinima, dok se neflavonoidnih spojeva može pronaći u bijelim vinima (Pozderović, 2010; Jakobek i sur., 2009).

### Enzimi

Enzimi su tvari koje se u moštu i vinu koriste kao pokretači kemijskih reakcija (organski biokatalizatori) tijekom procesa vinifikacije, taloženja i bistrenja vina, kao i također odležavanja starenja i njege vina te mogu utjecati i na razvoj sekundarne arome vina. Prema Pravilniku (NN. 86/2010), prehrambeni enzimi su proizvodi dobiveni od biljaka, životinja ili mikroorganizama ili od njihovih proizvoda, koji uključuju proizvod dobiven procesom fermentacije uporabom mikroorganizama, koji se dodaje hrani u bilo kojoj fazi proizvodnje, prerade, pripreme, obrade, pakiranja, prijevoza ili skladištenja. Najvažniji enzimi koji se nalaze u vinu su saharaza, tanaza, pektaza i katalaza (Barbarić, 2018). Od navedenih enzima, saharaza hidrolizira saharozu u glukozu i fruktozu, pektaza hidrolizira pektinske tvari na poligalakturonsku kiselinu, dok tanaza katalizira stvaranje taninskih spojeva (Vrdoljak, 2009).

### Mineralne tvari i pepeo

Pepeo označava anorganski ostatak koji zaostaje nakon spaljivanja ili potpune oksidacije organske tvari hrane. Termin „pepeo“ označava ukupne mineralne tvari u hrani, a termin „sadržaj mineralnih tvari“ se odnosi na količinu pojedinih anorganskih komponenata prisutnih u hrani. Postoje dva glavna tipa spaljivanja:

- suho spaljivanje i
- vlažno spaljivanje.

Crna vina sadrže veće količine pepela jer se tijekom fermentacije masulja ekstrahiraju veće količine mineralnih tvari. Pepeo vina se sastoji od kalcijevih, kalijevih i magnezijevih soli sumporne, fosfatne i karbonatne kiseline, te od tragova elemenata poput fluora, bakra, željeza. Vina sa većom količinom mikroelemenata imaju bolju aromu i bouquet (Vrdoljak, 2009).

### Proteini

Pod pojmom proteini riječ je o makromolekulama koje su izgrađene od od aminokiselina, a u vinu potječu iz grožđa i kvasca. Najveći problem stvara stavka da su u vinu izričito nestabilni te se talože sa taninima pri čemu u bijelim vinima utječu na stabilnost vina. Kod crnih vina stvaraju puno manji problem zbog, kako je gore navedeno, taloženja sa taninima kojih u crnim vinima ima puno više (Vrdoljak, 2009).

### Ekstrakt vina

Ukupni ekstrakt u vinima čine sve organske i mineralne tvari koje nisu hlapive pod specifičnim fizikalnim uvjetima. Ukupni ekstrakt se sastoji od ugljikohidrata, nehlapivih kiselina, tvari boje, viših alkohola, mineralnih tvari, polifenola. Razlikujemo tri vrste ekstrakta:

- ukupni suhi ekstrakt,
- nereducirani ekstrakt i
- reducirani ekstrakt (Pichler, 2018).

Prema sadržaju viših alkohola vino može biti:

- slabo ( 8 - 10 vol. % alkohola ),
  - lagano ( 7 – 9 vol. % alkohola ),
  - srednje jako ( 10 – 12 vol. % alkohola ),
  - jako ( više od 12 vol. % alkohola ),
  - vrlo jako ( 13 – 14 vol. % alkohola ).
- Prema količina tanina vina možemo podijeliti na:

- trpkasta,
- trpka i
- vrlo trpka.

Te prema količini ugljikovog dioksida vina mogu biti:

- izvjetreno,
- svježe mlado i
- resko vino ( Mirošević i sur., 2009).

## 2.4. PROIZVODNJA VINA

Znanstvena disciplina koja se bavi tehnologijom vina naziva se enologija. Enologija kao disciplina proučava kemijski sastav vina, proizvodnju vina i čuvanje kakvoće vina kako bi se što bolje iskoristila sirovina te pronašao optimalan proces proizvodnje koji bi rezultirao očuvanjem kakvoće vina.

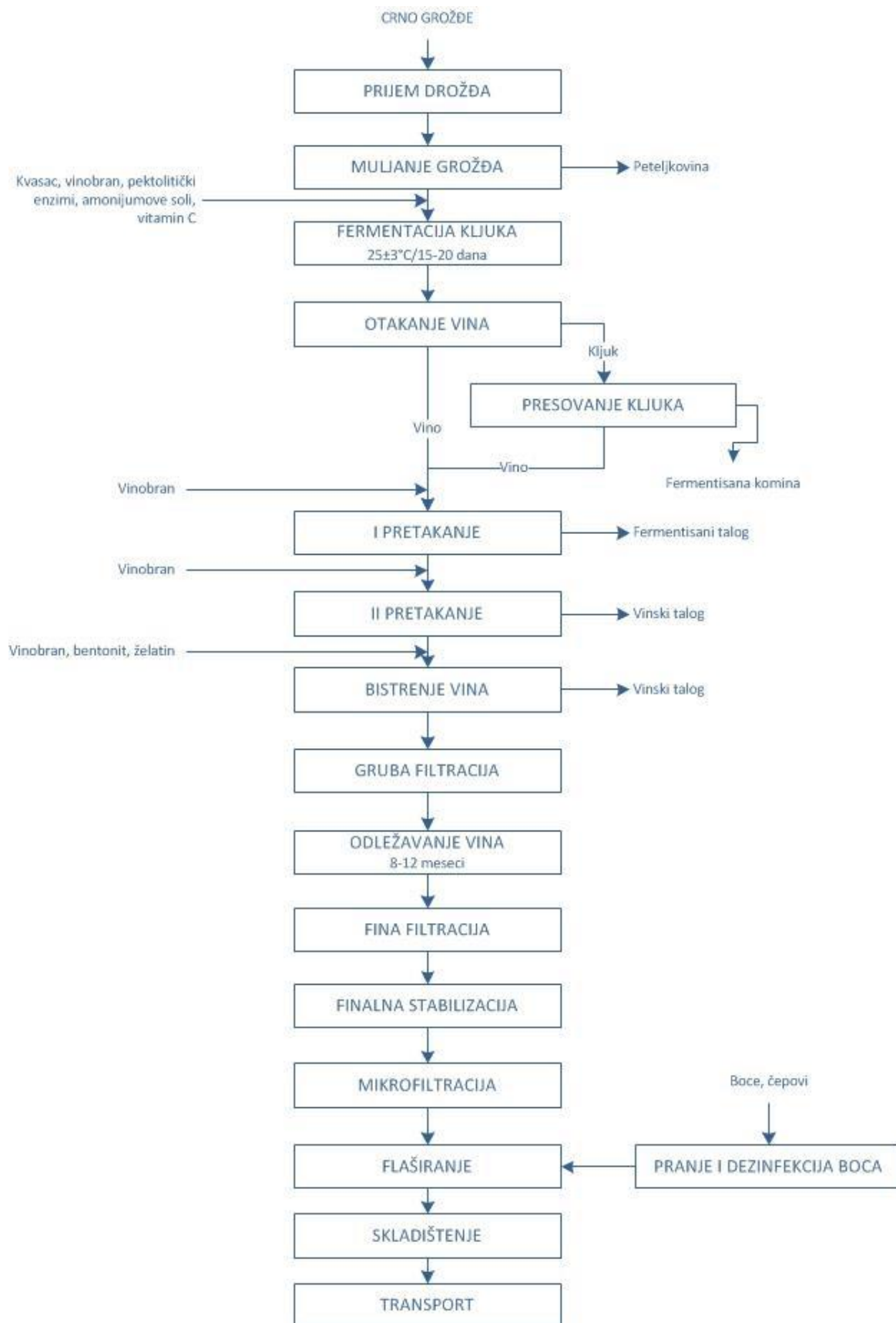
### Proizvodnja crnih vina

Proizvodnja vina je vrlo složen proces, te da bi smo dobili kvalitetno i, što je još važnije, zdravo vino trebamo osigurati određene uvjete:

- tehnološki zrelo i zdravo grožđe,
- pravilno vrenje mošta,
- čisto posuđe i pribor te
- odgovarajuću prostoriju.

Proces proizvodnje vina, kako je prikazano na **Slici 2**, obavlja se na sljedeći način:

1. muljanje – ruljanje grožđa
2. sumporenje masulja
3. dodavanje vinskog kvasca
4. maceracija masulja
5. fermentacija (vrenje masulja)
6. otakanje mošta
7. prešanje masulja
8. nastavak tihog vrenja mošta
9. otakanje mladog vina s taloga (Jakobi, 2015).



Slika 2 Shema proizvodnje crnog vina (Jakobi, 2015)

### Muljanje – runjanje

Proces muljanja se može započeti na dva načina, ručnim postupkom ili motornim strojem (muljače), pri čemu je sam cilj zdrobiti grožđe kako bi se sok odvojio od krute faze. Runjanje se provodi strojevima koje se nazivaju runjače. Zadatak runjača je odvajanje peteljke od grožđa zato što peteljke sadrže najviše tanina u odnosu na ostatak ploda koji daju nepoželjnu gorčinu vinima. Peteljka, ili peteljkovina, utječe na kvalitetu mošta, stoga se mora ukloniti, posebno ako se radi o proizvodnji crnih vina (Jakobi, 2015). Udio peteljkovine može biti i koristan u vinu, utvrdilo se da 3 – 5% peteljkovine utječe na ravnomjeran proces vrenja, što znači da ne dolazi do burnog vrenja (Mirošević i sur., 2009). Istraživanjem je dokazano da 54% tanina potječe iz pokožice, 25% iz sjemenke i 21% iz peteljkovine (Pichler, 2018). Procesom muljanja dobije se zgnječeno grožđe koje se u ovom slučaju naziva masulj.

### Maceracija

Maceracija masulja se provodi kako bi došlo do ekstrakcije fenolnih tvari, tanina, aromatičnih i drugih tvari iz grožđa u vino. Uz dušične, aromtaske, mineralne tvari i ugljikohidrate, procesom maceracije se također ekstrahiraju fenolne tvari, poput antocijana i tanina, koje utječu na boju i strukturu vina. Postoji nekoliko tipova procesa maceracija:

- klasična maceracija,
- maceracija zagrijavanjem,
- karbonska maceracija,
- flash ekspanzija i
- delastage (oksidacijom) (Pichler, 2018).

Sam proces maceracije kao i vrijeme trajanja iste utječe na kakvoću vina. Tako između četvrtog i šestog dana procesa, tijekom burnog vrenja, nastaju najveće količine boje. Na sam proces maceracije, odnosno ekstrakcije, utječe grožđe. Grožđe mora biti zdravo i zrelo kako bi došlo do potpune ekstrakcije svih tvari iz mesa, pokožice i sjemenke. Na uspješnost procesa utječe i temperatura maceracije, tako je dokazano da se idealni temperaturni interval za provedbu procesa kreće između 20 i 25°C, iako je za potpunu ekstrakciju fenolnih tvari potrebna temperatura veća od 30 °C (Mirošević i sur., 2009). Javljaju se i principi maceracije, pri čemu se maceracija regulira određenim procesima poput

- ekstrakcija i topljivost različitih tvari čvrstih dijelova masulja u tekuću fazu,
- difuzija ekstrahiranih tvari u masu,

- refiksacija ekstrahiranih tvari na pojedine sredine i modifikacija ekstrahiranih tvari (Jakobi, 2015; Pichler, 2018).

### Vrenje masulja

Vrenje, odnosno alkoholna fermentacija, predstavlja jednu od osnovnih faza proizvodnje vina pri čemu dolazi do početka stvaranja vina. Proces se može provoditi u inoks cisternama, ali se i dalje koriste drvene bačve. Postoji mnogo vrsta drveta od kojih se bačve mogu izgraditi ali hrast pokazuje najbolje rezultate, naročito američki hrast koji, ako se pravilno obradi, može dati nježnije note vina. Proces fermentacije započinje tako da se kvasci, koji se nalaze na pokožici, prilikom dolaska u mošt koji sadrži šećere, počnu intenzivno razmnožavati, prilikom čega dolazi do razlaganja šećera na brojne spojeve od kojih su najvažniji alkohol i ugljikov dioksid. Prilikom procesa fermentacije masulja provodi se sumporenje, naročito crnih vina, koja su podložnija oksidaciji, prilikom koje dolazi do izlučivanja boje i uništenja octenih bakterija. Nakon sumporenja u masulj se dodaje vinski kvasac. Postoje dva osnovna postupka vrenja masulja:

- hladni postupak, i
- topli postupak.

Pomno se mora paziti na vrijeme vrenje masulja. Kod predugog vrenja dolazi do gubitka boje koja se veže na tvari sa većom površinom poput masulja, stijenke kace ili stanice kvasca, pri čemu i kisik iz zraka može dovesti do oksidacije tvari boje. Također, predugim vrenjem otapaju se i znatne količine tanina, koje vinu daju opori okus i trpki miris (Jakobi, 2015). Crna vina se također podvrgavaju i malolaktičkoj fermentaciji pri kojoj se jabučna kiselina prevodi u mliječnu te se smanjuje kiselost vina. Prevelika kiselost daje opori okus (Zoričić, 2009).

### Otakanje mošta

Otakanje je proces odvajanja tekućeg od krutog dijela masulja. Nakon procesa otakanja provodi cjeđenje masulja i prešanje kako bi se izdvojila što veća količina vina. Prije pretakanja vino smije ležati na talogu, ali kratko vrijeme. Postoje dvije vrste pretakanja:

- otvoreno pretakanje ( bačva – otvorena posuda – bačva) i
- zatvoreno pretakanje (bačva – bačva).

Otvoreni proces se odvija u prisustvu kisika, pri čemu je zadatak ovakvog pretakanja odstranjivanje stranih mirisa. Otakanje se odvija dva puta. Prvi pretok bi najbolje bilo odraditi

što ranije te se odvija već u studenom. Ranije pretakanje se provodi kako bi se zadržala svježina, okus i miris vina. Drugi pretok se odvija par mjeseci poslije, najčešće u siječnju ili veljači. Što je veći tlak zraka za vrijeme pretoka manji su gubitci mirisa.

Zatvoreni pretok je vrsta pretoka koji se obavlja bez prisustva zraka, odnosno kisika. Najčešće se provodi za vina dobivena od bolesnog ili oštećenog grožđa. Također, kod zatvoreno pretoka postoje dva pretakanja. Cilj drugog pretoka je osvježavanje mladog vina pri čemu ga činimo spremnijim za dozrijevanje (Jakobi, 2015)

### Prešanje masulja

Prešanje je proces cijedenja (tiještenja) neprevrelog ili prevrelog masulja. Sam proces se može provoditi diskontinuirano ili kontinuirano. Prešanje ovisi o tlaku, te se mora voditi računa o količini mošta, što je mošta manje tlak mora biti veći kako bi došlo do što boljeg prešanja i većeg iskorištenja. Postupak se može provoditi na više tipova preša, od kojih se koriste: mehaničke, hidraulične, pneumatske i kontinuirane preše. Također, prešanje se mora provesti u što kraćem razdoblju kako bi došlo do manje oksidacije masulja i mošta. Kako je navedeno, prešanje se mora provesti što brže, ali to ne znači povećanje pritiska kako bi se dobilo bolje iskorištenje, naime, prevelik tlak (pritisak negativno utječe na kakvoću mošta, a naknadno i vina (Jakobi, 2015).

### Tiho vrenje

Postupak tihog vrenja je od velikog značaja za proizvodnju vina jer se radi procesu vrenja bez komine i taloga. Proces se mora provesti jer se u vinu, u trenutku otakanja, nalaze i neprevreli šećeri koji se moraju ukloniti što se postiže postupkom tihog vrenja. Prilikom procesa otakanja dolazi do aktivacije vinskog kvasca što rezultira uklanjanjem ugljikovog dioksida i stranih mirisa. Ovo je moguće jer procesom otakanja vino dolazi u dodir sa zrakom, odnosno kisikom iz zraka. Rasplet cijelog postupka tihog vrenja se svodi na to da veliki dio grubih čestica vina i izumrle kvašćeve stanice počinju sedimentirati i padati na dno, prilikom čega dolazi i do blagog bistenja vina (Jakobi, 2015; Mirošević i sur., 2009 ).

### Njega mladog vina

Njega ili dozrijevanje mladog vina započinje nakon završetka procesa fermentacije. Ovakvo mlado vino se drži u hrastovim bačvama kako bi došlo do prodiranja kisika koji utječe na



formiranje okusa i mirisa gotovog proizvoda. Dozrijevanje započinje procesom esterifikacije pri kojoj dolazi do sinteze estera koji nastaje kemijskom reakcijom između alkohola i estera. Sintetizirani esteri sudjeluju u stvaranju tercijarne arome vina koji doprinosi mirisu voća. Također, tijekom dozrijevanja vina, dolazi i do malolaktičke fermentacije pri kojoj dolazi do prevođenja vinske kiseline u jabučnu. Tako dobiveno malo vino se mora čuvati pri određenim temperaturama, najbolji temperaturni interval za čuvanje mladog vina se kreće od 12°C do 15°C. Temperatura čuvanja vina je važna kako nebi došlo do nepoželjnih promjena na vinu poput posmeđivanja ili octikavosti (Zoričić, 2013).

## **2.5. EKOLOŠKA PROIZVODNJA VINA**

Pod pojmom ekološko vino misli se na vino koje je proizvedeno od ekološki uzgojenog grožđa. Ovako proizvedeno vino se očituje prirodnijim okusom i mirisom, te je također i čišće za razliku od konvencijalno proizvedenog vina. Vinova loza koja se koristi za proizvodnju ekološkog vina se ne tretira herbicidima i pesticidima, te se također izbjegava pretjerana obrada tla, prilikom čega se za uzgoj koriste samo organska gnojiva. Pošto je riječ o ekološki uzgojenoj lozi, ovakav vinograd mora biti udaljen od lokalnih prometnica te svih potencijalnih zagađivača, kao i od konvencijalno poljoprivrednih površina (Ivić i sur., 2021a; Keser, 2019).

## **2.6. CABERNET SAUVIGNON**

Riječ je o sorti vinove loza koja je nastala u Francuskoj tijekom 17. stoljeća. Sama sorta je nastala slučajnim križanjem sorata Cabernet franc i Sauvignon bijeli. Cabernet sauvignon potječe iz Francuske pokrajine Bordeaux, a danas se uzgaja u gotovo cijelom svijetu (Herjavec, 2019). Vina koja se dobiju korištenjem ove sorte su gusta, taninska te tamno crvena, male trpkosti, jakog okusa i manje kiselosti (Mirošević i sur., 2009; Herjavec, 2019).

## **2.7. MEMBRANSKI PROCESI**

Membranski procesi su procesi koji služe za odjeljivanje dviju tekućih faza na temelju njihove veličine, oblika ili kemijske strukture. Osnovni princip membranskih procesa je primjena polupropusnih membrana, pri čemu dolazi do odvajanja sastojaka otopine na:

- permeat – tekući dio koji je prošao kroz membranu i
- koncentrat – dio sa koncentriranim otopljenim tvarima koji je zaostao na membrani.

Razlozi zbog kojih se koriste membranski procesi su:

- kvaliteta prerađene vode,
- obrada vode bez upotrebe kemikalija,
- dostupnost, odnosno niža cijena,
- povećana potražnja vode,
- sve veća eksploatacija vodenih resursa niske kvalitete koja zahtjeva primjenu složenih postupaka prerade vode,
- ekološki trendovi koji obuhvaćaju recikliranje vode i zaštitu okoliša,
- desalinacija morske i bočate vode,
- porast tržišta pakirane vode i
- stroža zakonska regulativa (Habuda - Stanić, 2021).

Membranski se procesi u prehrambenoj industriji mogu podijeliti na:

- reverznu osmozu,
- nanofiltraciju,
- ultrafiltraciju i
- mikrofiltraciju.

#### Reverzna osmoza: RO

Reverzna osmoza ili hiperfiltracija je proces kojim se iz vode uklanjaju tvari čija je veličina molekula jednaka veličini vode. Tvari koje su iste veličine kao i molekula voda podrazumijevaju anorganske ione i male organske molekule. Prilikom provedbe procesa reverzne osmoze, zbog uklanjanja, čestica ovako malih dimenzija dolazi do uspostavljanja značajnog osmotskog tlaka na membrani te je potrebno primijeniti visoke tlakove. Tlačna sila koja se primjenjuje za ovaj proces se kreće od 30 – 60 bara (Ivić i sur., 2021b). Veličina pora membrana koje se primjenjuju za proces reverzne osmoze kreće se od 0,1 – 1 nm. U prehrambenoj se industriji ovaj proces provodi kod proizvodnje koncentriranog mlijeka i sirutke, pri proizvodnji jogurta, prilikom koncentriranja voćnih sokova, za desalinaciju morske vode (Habuda - Stanić, 2021).

#### Nanofiltracija: NF

Nanofiltracija je ekonomičnija varijanta reverzne osmoze. Veličina pora na membranama koje se koriste za proces filtracije su veće nego kod membrana za proces reverzne osmoze te su im dimenzije veće od 1nm,. Zbog toga je i manji osmotski tlak te su pritom i manji ekonomski

troškovi jer se moraju koristiti manji tlakovi (od 20 – 40 bara) pri procesu. Procesom nanofiltracije se uklanjaju anorganske soli te manje organske molekule poput šećera (Ivić i sur., 2021a). Separacija tvari se osniva na principu procesa difuzije i otapanja. Prilikom procesa nanofiltracije nenabijene organske čestice se zadržavaju na membrani zbog većih dimenzija molekula od veličine pora, dok električni nenabijeni anorganski ioni će biti zadržani zbog elektrostatskih interakcija između membrane i iona. Nanofiltracija se provodi radi smanjenja tvrdoće vode, uklanjanja klorida, sprječavanja prolaza bakterija i virusa te uklanjanja obojenja vode (Červar, 2000).

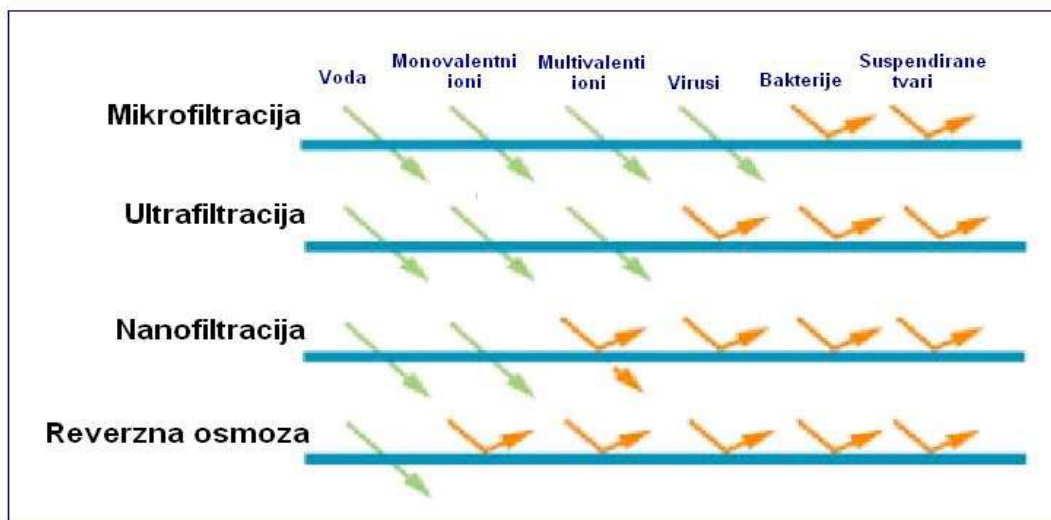
#### Ultrafiltracija: UF

Ultrafiltracija je membranski proces kojim se separiraju makromolekule relativne molekulske mase veće od 500 poput virusa i organskih makromolekula. Membrane za ultrafiltraciju su asimetrične sa veličinama pora od 1 – 100 nm. Tokom procesa ultrafiltracije na membrani nastaje tanak gusti sloj debljine 1  $\mu\text{m}$ . Proces se odvija pri tlaku od 1 – 10 bara, te za razliku od RO i NF nema osmotskog tlaka zbog veličine pora i veličine čestica koje se odjeljuju. Ultrafiltraciju se može koristiti tokom koncentriranja otopina makromolekula, za bistrenje tekućina te za pročišćivanje otpadnih voda u svrhu uklanjanja većih organskih molekula, željeza i koloida (Habuda - Stanić, 2021).

#### Mikrofiltracija: MF

Mikrofiltracija je proces koji najviše slični procesu klasične filtracije. Za proces se koriste asimetrične membrane sa veličinama pora od 10 – 0,1  $\mu\text{m}$ , debljine od 10 – 150 nm. Procesom se uklanjaju samo velike čestice poput virusa, bakterija, koloida i grubih nečistoća. Radni tlak pri kojim se provodi mikrofiltracija je niži od 1 bara što je posljedica veličine pora (Habuda - Stanić, 2021).

### Karakteristike membranskih procesa



Slika 3 Podjela i karakteristike membranskih procesa (Habuda - Stanić, 2021)

#### Membrane

Membrane su porozni materijali koji se koriste pri membranskim procesima pomoću koji se provodi odjeljivanje pojedinih sastojaka. Možemo ih podijeliti prema:

- mehanizmu separacije,
- fizikalnoj morfologiji i
- kemijskim svojstvima (Habuda - Stanić, 2021).

Izbor membrana, koje se koriste u određenim procesima, ovisi o:

- najznačajnijim parametrima koji uključuju fluks permeata i faktor separacije
- fizikalnim i kemijskim ograničenjima,
- otpornosti prema pH, promjeni temperature, utjecaju ukupnog tlaka,
- ekonomičnosti procesa itd. (Habuda - Stanić, 2021).

Prema strukturi membrane možemo podijeliti na simetrične i asimetrične. Razlika je u tome što se kod simetričnih membrana proces filtracije provodi na ukupnom presjeku membrane, dok se kod asimetričnih filtracija provodi samo na površinski gušćem sloju. U prehrambenoj industriji se najčešće koriste asimetrične membrane zbog svoje visoke mehaničke stabilnosti. Za proces reverzne osmoze, koja se primjenjuje u izradi pokusa koji obuhvaća ovaj rad, najčešće se koriste kompozitne membrane. Kompozitne membrane su vrste membrana koje stoje od gustog površinskog sloja te poroznog sloja (Korbar, 2020).

### Membranski materijali

Tipovi materijala od kojih su izrađene membrane ovise o samom tipu fluida na kojemu se provodi proces filtracije pošto ulazni fluid može reagirati s materijalom od kojeg je izrađena membrana te negativno utjecati na sam proces. Membrane su najčešće izrađene od polimera koji ovise o kemijskom sastavu i molekulskoj građi. Jedan od najčešćih materijala koji se koristi u izradi poroznih membrana jeste celulozni acetat. Kod proizvodnje celuloznog acetata, celuloza se podliježe modifikacija nakon čega se invertira u asimetrične membrane prilikom čega membrana omogućava visoku selektivnost postupka. Pokraj prednosti korištenja celuloznog acetata poput visoke propustljivošće vode, odbijanja iona soli i mehaničke stabilnosti, postoje i mane samog materijala koje se ispoljavaju u obliku nestabilnosti pri višim pH vrijednostima, reagiranja s organskim spojevima i mikroorganizmima. Pokraj celuloznih derivata, koji se najčešće koriste, membrane se mogu izraditi i od drugim polimernih materijala čija je primjena drastično manja, te se prema podrijetlu mogu podijeliti na organske i anorganske materijale. Od najčešćih organskih materijala se spominje polisulfon koje je otporan na visoke temperature i pH vrijednosti, za razliku od celuloznog acetata, ali se ne koristi u procesu RO. Pokraj polisulfona, od organskih materijala, se koriste i poliamidi, ali samo u NF i RO.

U anorganske materijale koji se koriste pri proizvodnji membrana ubrajaju se staklo, keramika i metal.

### Tipovi membranskih modula

Modul je najmanja praktična jedinica koja sadrži jednu ili više membrana i potpurnu građu. Potporna građa je čeona ploča ili bilo koji porozni potporni materijal koji služi razdjeljivanju faza, te ima mogućnost rada nezavisno od ostatka postrojenja. Danas postoje četiri tipa modula koji se najčešće koriste:

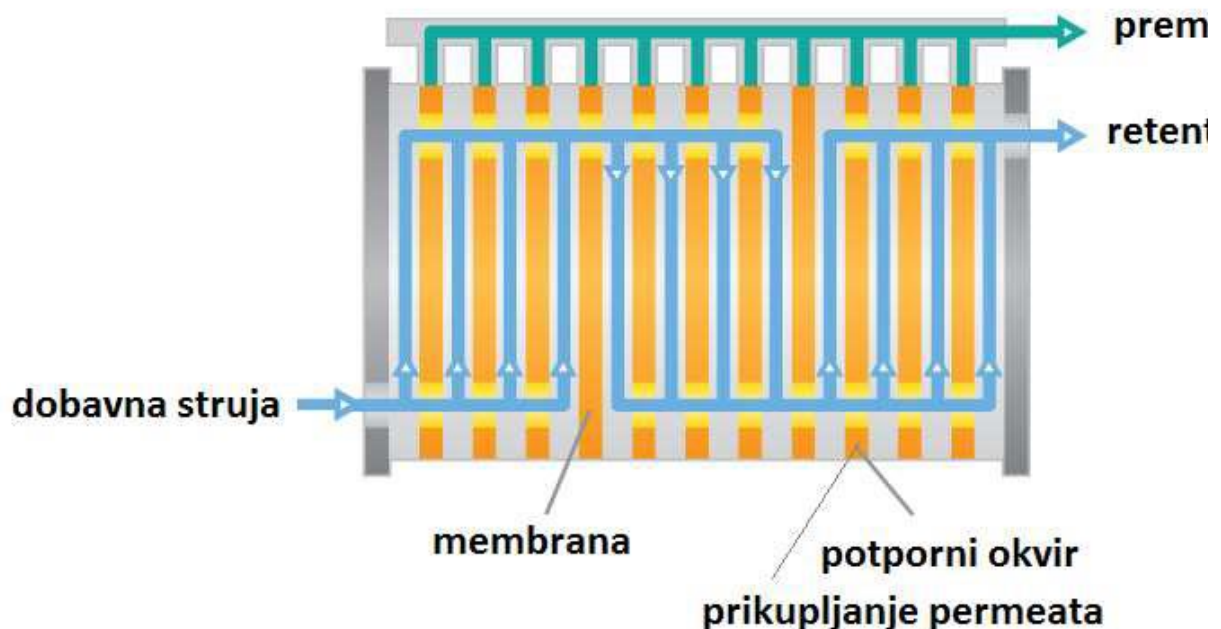
- modul na principu filter preše,
- modul u obliku spiralnog namotaja,
- cijevni modul i
- modul sa šupljim vlaknima (Habuda - Stanić, 2021)

Modul na principu filter preše (**Slika 4**) se sastoji od niza okvira s utorima za odvod permeata. Okviri su odjeljeni jedan od drugoga tako da između svakog okvira sa membrane imamo prazan

okvir. Kroz prazne okvire dolazi napojna voda. Okviri, u kojima se nalaze membrane, su ispunjeni plastičnim ili metalnim podlogama na koje su s obje strane pričvršćene membrane.

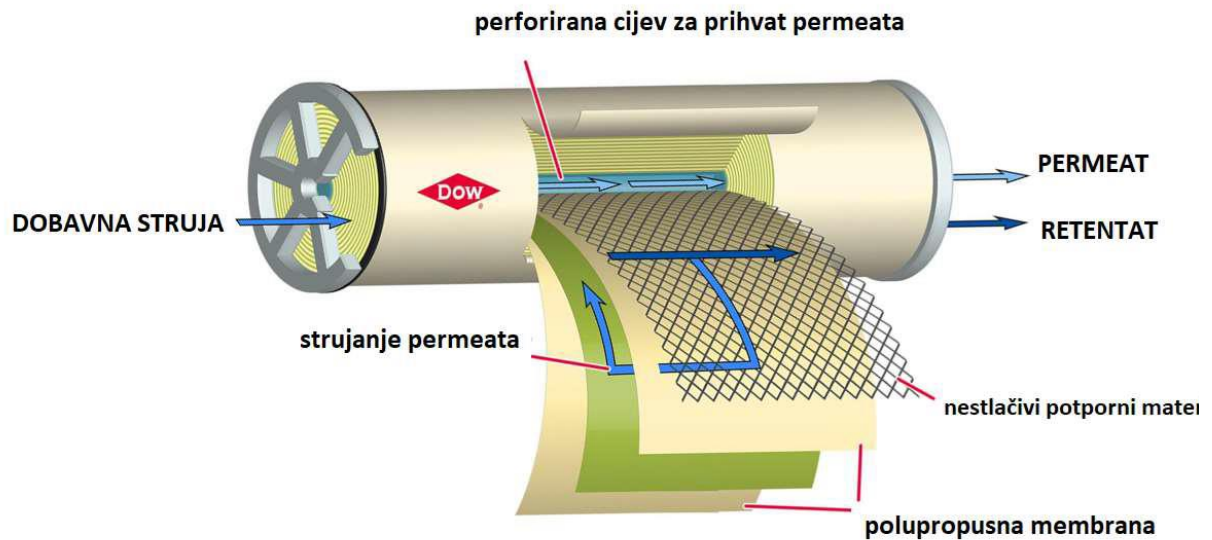
Uređaj ima dvije konfiguracije:

- klasičnu (dead – end) filtraciju – filtracija pomoću filtarskog kolača i
- tangencijalnu filtraciju (Habuda - Stanić, 2021).



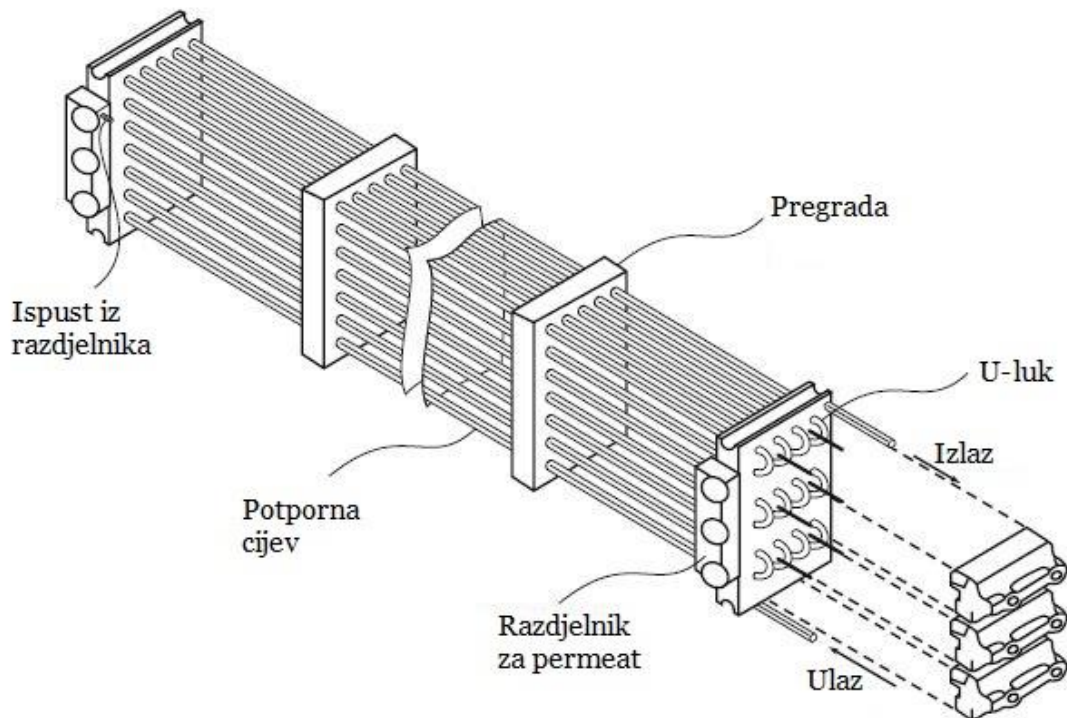
**Slika 4** Princip rada filtera - preše (Habuda - Stanić, 2021)

Modul u obliku spiralnog namotaja sastoji se od ravnih membrana. Membrane su odvojene u parovima između kojih se postavlja nestlačivi potporni materijal, kako prikazuje **Slika 5**. Fluid koji se dovodi na filter struji aksijalno preko membrana, a produkt izlazi u cijev za odvod permeata. Princip rada ovog procesa je smanjenje koncentracijske polarizacije, što utječe na znatno smanjivanje potencijalnog blokiranja membrane. Ukupna površina membrane kreće se od 0,2 do 1 m<sup>2</sup> (Bilan, 2017).



**Slika 5** Prikaz modula sa spiralnim namotajima (Habuda - Stanić, 2021)

Cijevni modul sastoji se, kako je prikazano na **Slici 6**, od više manjih cjevčica koje su uklopljene u jednu veliku cijev. Ovakvi moduli se većinom koriste prilikom procesa ultrafiltracije. Manje cjevčice konstruirane su od polimera ili keramičkih materijala, dok je velika cijev, u kojoj su ugrađene manje, najčešće konstruirana od nehrđajućeg čelika obloženog plastikom. Ova vrsta modula se najčešće koristi za fluide s visokim sadržajem suspendiranih tvari zbog velikog promjera kanala (Bilan, 2017).



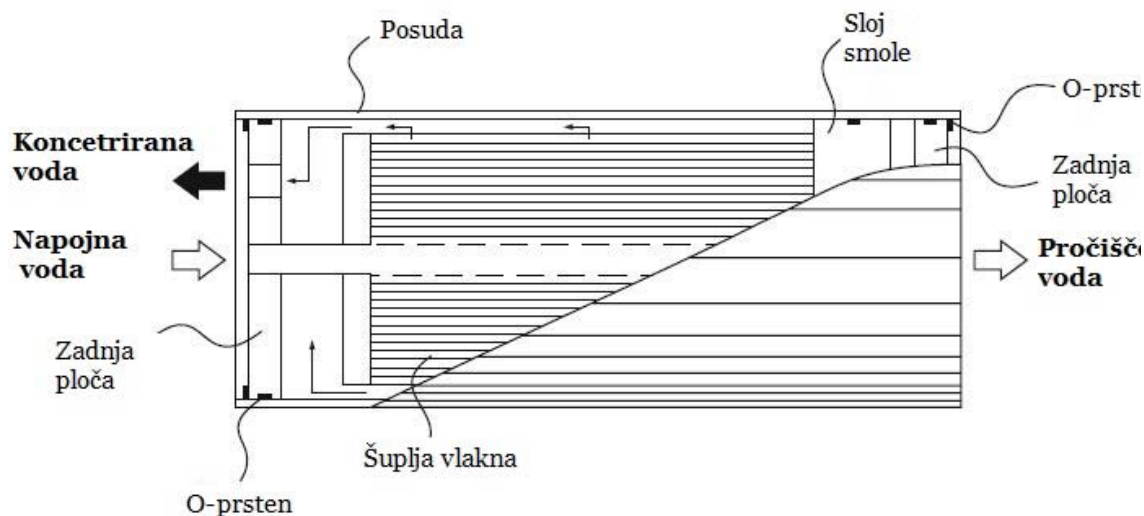
**Slika 6** Prikaz modula sa cjevastim membranama (Bilan, 2017.)

Modul sa šupljim vlaknima naziva se još i kapilarni modul jer se sastoji od velikog broja vlakana koja su na svakom kraju vezana epoksidnom ili uretanskom smolom. Ovakav modul može se koristiti u svim vrstama filtracija. Fluid koji se mora pročistiti ulazi u središnju cijev, kako pokazuje **Slika 7**, te aksijalno struji prema stijenci modula. Kod modula sa šupljim vlaknima imamo dvije opcije rada:

- proces u kojemu dobavna struja prolazi kroz vlakna – unutra prema van i
- proces u kojemu dobavna struja dolazi kroz vlakna – van prema unutra (Bilan, 2017; Habuda - Stanić, 2021).

Princip rada modula sa šupljim vlaknima jednak je kao i princip rada cjevastog modula, razlika ova dva modula je u manjem promjeru cijevi u odnosu na cjevasti modul (Habuda - Stanić, 2021).





**Slika 7** Prikaz modula sa šupljim vlaknima, te ulaska napojne vode (Bilan, 2017)

## 2.8. KROMATOGRAFIJA

Kromatografija je fizikalna metoda separacije u kojoj se sastojci raspodjeljuju između dviju faza. Ovu metodu je osmislio ruski botaničar Mikhail Tswett početkom 20. stoljeća s kojom je uspio odvojiti različite biljne pigmente poput klorofila i ksantofila. Pokus je provodio tako što je propuštao otopinu ovih pigmenata kroz staklenu kolonu punjenu kalcijevim karbonatom. Dvije faze, koje su prethodno spomenute, mogu se podijeliti na nepokretnu (stacionarnu) i pokretnu fazu. Proces kromatografije se osniva na temelju razlike brzine određenih komponenata faze kroz kolonu. Kromatografiju možemo podijeliti prema dva kriterija. Prema prvom kriteriju kromatografija se dijeli na principu kromatografske kolone, te imamo:

- kolonsku kromatografiju gdje se nepokretna faza nalazi unutar cijevi i
- plošnu kromatografiju kod koje je nepokretna faza ploha ili se može nanositi na plohu (Primorac, 2020).

Prema drugom kriteriju, koji podrazumijeva podjelu koja se bazira na fizikalnom stanju pokretne faze, kromatografiju možemo podijeliti na:

- plinsku kromatografiju (GC),
- tekućinsku kromatografiju (HPLC; LC) i
- fluidnu kromatografiju pri superkričnim uvjetima (Primorac, 2020).

Tekućinska kromatografija se može provoditi u obliku i kolonske i plošne kromatografije, dok se plinska i superkrična kromatografija javljaju samo u obliku kolonske kromatografije.

### Tekućinska kromatografija – HPLC

Tekućinska se kromatografija može, na temelju mehanizma odjeljivanja komponenata, podijeliti na više vrsta:

- afinitetna kromatografija,
- kromatografija isključenjem prema veličini,
- ionsko – izmjenjivačka kromatografija,
- adsorpcijska kromatografija i
- razdjelna kromatografija (Primorac, 2020).

Od svih navedenih vrsta najčešće upotrebljavana je razdjelna kromatografija koja se temelji na razlici u topljivosti komponenta u mobilnoj i stacionarnoj fazi. Razdjelna kromatografija se na temelju polarnosti mobilne i stacionarne faze, može podijeliti na:

- kromatografiju normalnih faza – kod ove vrste razdjelne kromatografije, stacionarna je faza visoko polarna, poput vode, dok je mobilna faza nepolarna (heksan), te se sa kolone prvo uklanjaju polarne komponente zbog najbolje topivosti.
- Kromatografiju obrnutih faza – ova metoda je obrnuta od prethodne, odnosno stacionarna faza je nepolarna, dok je mobilna polarna, te se sa kolone prvo uklanjaju najpolarnije komponente (Primorac, 2020).

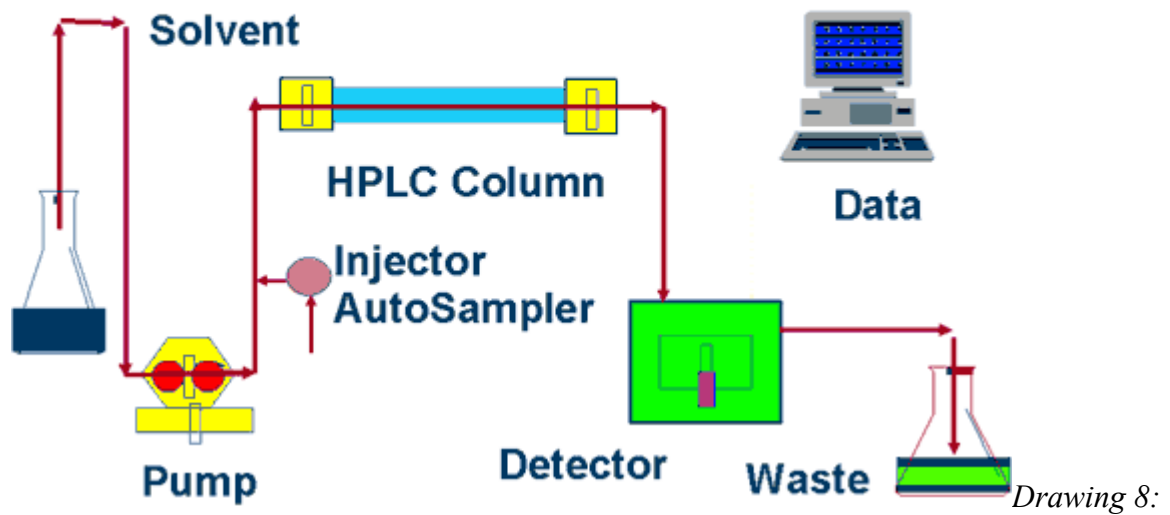
Proces tekućinske kromatografije koristi poseban uređaj. Uređaj se sastoji, kako je vidljivo iz slike 8 od sljedećih komponenata:

- rezervoara s mobilnom fazom,
- pumpe,
- injektora,
- kolone,
- detektora (direktni i indirektni) i
- računala na kojemu se očitavaju rezultati (Primorac, 2020).

Odjeljivanje komponenata HPLC metodom se postiže promjenom brzine protoka i promjenom sastava mobilne faze. Prema tome imamo izokratno, gradijentno i stupnjevito eluiranje. Ponekad se, zbog širokog područja polarnosti, teško odvojiti ciljane komponente. U tom slučaju koristi se gradijentna elucija koja podrazumijeva, prvo, korištenje nisko polarne mobilne faze s kojom se odvajaju komponente niske polarnosti, nakon čega slijedi povećanje mobilne faze prilikom čega dolazi do eluiranja polarnih komponenata. Najčešće upotrebljavane kolone koje

se danas koriste u HPLC tehnici su duljine od 10 do 30 cm, unutarnjeg promjera 4 – 10 mm, dok je punilo promjera 5 – 10  $\mu\text{m}$  (Primorac, 2020).

## HPLC System



Slika 8 Shematki prikaz HPLC sustava (Primorac, 2020)

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. ZADATAK

Zadatak ovo diplomskog rada je istražiti utjecaj koncentriranja procesom reverzne osmoze na zadržavanje tvari boje u vinu vrste Cabernet Sauvignon pri utjecajem tlaka od 25, 35, 45 i 55 bara, sa i bez hlađenja. Pokusi su se provodili na uređaju za reverznu osmozu Lab Unit 20, koji je prikazan na Slici 9. Reverzna osmoza provodila se pomoću membrane Alfa Laval – NFM20, čije su karakteristike objašnjene u **Tablici 1**.



**Slika 9** Uređaj za provedbu procesa reverzne osmoze LabUnit M20 (Korbar, 2020)

**Tablica 1** Karakteristike RO membrana (Korbar, 2020)

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

### 3.2. MATERIJALI I METODE

Uzorak koji se koristi za provođenje pokusa je vino vrste Caberbet Sauvignon sa 8,2 % udjela suhe tvari. Temperatura pri kojoj se provodi pokus održavala se ori 15 °C, dok je količina uzorka iznosila 3 L. Koncentriranje se provodilo pri različitim tlakovima od 25 , 35, 45 i 55 bara uz hlađenje, te dok se nije postigao najveći mogući volumen koncentrata bez hlađenja, koji je iznosio 1 L. Kao rashladni medij se koristila vodovodna voda, dok su se permeat i temperatura očitavali svake četiri minute prilikom postupka s hlađenjem.

### 3.3. SPEKTROFOTOMETRIJSKA ANALIZA

#### Određivanje antocijana

Antocijani su se određivali primjenom pH – diferencijalne metode, koja se osniva na strukturnoj transformaciji kromofora u odnosu na promjenu pH vrijednosti. Prilikom promjene pH vrijednosti antocijani pribjegavaju reverzibilnoj strukturnoj transformaciji koja se može očitovati u promjeni spektra absorpcije. Pokus određivanja se provodio metodom prema Giusti i Wrolstadu (Giusti i Wrolstad, 2001), i to tako da smo odpipetirali 0,2 mL ekstrakta uzorka u dvije kivete, prilikom čega se u jednu dodaje pufer pH vrijednosti 1, a u drugu pufer pH vrijednosti 4,5. Kivete se ostave kroz 15 minuta nakon čega se antocijani, spektrofotometrijski, određuju pri valnim duljinama od 512 nm i 700 nm. Nakon provedene spektrofotometrijske metode, sadržaj antocijana se računa prema formuli:

$$C(\text{antocijana}) = (A * M * FR * 1000) / \epsilon * l$$

gdje je:

- A – apsorbancija koje se računa:

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

- M (molarna masa) = 449,2
- FR – faktor razrjeđenja
- $\epsilon$  – molarna absorptivnost
- l (duljina kivete) = 1 cm

M i  $\epsilon$  se uzimaju za cijanidin – 3 – glukozid.

Proces smanjenja intenziteta boje ( $A_{512}$ ), odnosno povećanja posmeđivanja ( $A_{420}$ ) možemo izračunati formulom:

$$\text{Gustoća boje}_{(\text{kontrolni uzorak})} = [(A_{420} - A_{700}) + (A_{512} - A_{700})] * FR$$

Boja nastala polimerizacijom:

$$\text{Boja}_{(\text{uzorak tretiran bisulfitom})} = [(A_{420} - A_{700}) + (A_{512} - A_{700})] * FR$$

- FR – faktor razrjeđenja

Postotak boje nastale polimerizacijom:

$$\% \text{ boje} = (\text{boja nastala polimerizacijom} / \text{gustoća boje}) / 100 [\%]$$

### Određivanje polifenola

Polifenoli se određuju u smislu ukupnih fenola metodom po Folin – Ciocaltau. Ovom metodom dolazi do reakcije između polifenola i folinovog reagensa prilikom dolazi od promjene boje čiji se intenzitet mjeri pri valnoj duljini od 765 nm (Ough i Amerine, 1988). Folinov reagens se sastoji od fosfowolframove i fosfomolibdene kiseline. Reakcijom fenola sa ovim reagensom dolazi oksidacije fenolnih tvari prilikom čega dolazi do redukcije navedenih kiselina u wolframov i molibdeni oksid koji pokazuju plavo obojenje.

Pokus se provodi tako da se prvo otpipetira 0,2 ml uzorka soka, nakon čega dodajemo 1,8 ml destilirane vode i 10 ml folinovog reagensa (reagens se priprema u omjeru 1:10, prvo se otpipetira 3,3 ml folinovog reagensa u odmjernu tikvicu od 100 ml nakon čega do oznake tikvicu dopunimo destiliranom vodom). Nakon dodatka svih potrebnih kemikalija u tikvicu ostavljamo tikvicu u vremenu od 30 sekundi do 8 minuta. Kada istekne određeno, navedeno, vrijeme u tikvicu se dodaje 8 ml 7,5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> prilikom čega volumen u tikvici mora iznositi 20 ml. Slijepa proba se priprema tako da se u tikvicu dodaje 2 ml destilirane vode, 10 ml folinovog reagensa te 8 ml 7,5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Nakon pripreme uzorak i slijepa proba se ostave na mračnom mjestu 2 – 20 sati prilikom čega dolazi do razvijanja boje. Kada istekne vrijeme stajanja, sadržaj polifenola se mjeri pomoću spektrofotometra pri valnoj duljini od 765 nm. Rezultate očitavamo pomoću kalibracijske krivulje galne kiseline te se rezultat izražava u [ g galne kiseline / L uzorka].

### Određivanje antioksidativne aktivnosti

Antioksidativna aktivnost se može odrediti pomoću nekoliko metoda koje će biti objašnjene u nastavku rada.

DPPH metoda:

DPPH metoda predstavlja jednu od standardnih i lakših kolorimetrijskih metoda za određivanje antioksidativnih spojeva (Mishra i sur., 2012). Ova metoda se koristi za određivanje antioksidanasa zato što dolazi do reaktivacije kisikovih i dušikovih atoma prilikom čega nastaju slobodni radikali koji se naknadno „hvataju”. To „hvatanje” radikala je opće prihvaćena metoda inhibitornog djelovanja antioksidanasa (Arnao, 2000; Brand – Williams i sur., 1995). DPPH metoda se koristi prilikom određivanja antioksidanasa u žitaricama, povrću i drugim biljnim namirnicama (Cheng i sur., 2006).

Prilikom korištenja ove metode dolazi do redukcije iona DPPH ( $C_{18}H_{12}N_5O_6$ ), DPPH\* se reducira u DPPH<sub>2</sub>, te se spektrofotometrijski prati stupanj smanjenja DPPH radikala pri 517 nm. Prilikom dodatka antioksidansa dolazi do nastanka aroksil radikala koji naknadno reagira sa drugom molekulom DPPH prilikom čega dolazi do kondenzacije i nastanka stabilnog neradikalnog oblika (Brand – Williams i sur., 1995).

ABTS metoda:

ABTS metoda se temelji na promatranju raspada ABTS\* radikala prilikom utjecaja fenolnih tvari. Pokus se provodi tako da otpipetiramo 0,2 ml uzorka te dodamo 3,2 ml otopine ABTS-a nakon čega smjesu ostavljamo 1 sat i 35 minuta u mraku da izreagiraju komponente. Nakon odležavanja provodi se spektrofotometrijska metoda određivanja pri 734 nm. Rezultati spektrofotometrijske metode se preračunavaju pomoću kalibracijske krivulje trolox-a ( $\pm$  - 6 - hidroksi - 2,5,7,8 - tetrametilkroman - 2 - karboksilne kiseline). Trolox se u metodama određivanja antioksidanasa koristi kao standard za određivanje antioksidacijske aktivnosti (Prakash, 2001).

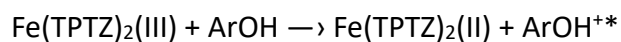
CUPRAC metoda:

Zadatak ove metode je procjena sposobnosti redukcije bakrenih iona u vodenom mediju. Osnova ove metoda je mjerenje apsorbancije CUPRAC kromoforna (Cu(I) – neokuproin (Nc)), nastalog uslijed redoks reakcije između antioksidansa s CUPRAC reagensom (Cu(II) – Nc), nakon čega provodimo mjerenje apsorbancije, spektrofotometrijski, pri valnoj duljini od 450 nm (Grubišić, 2017.). Laboratorijski postupak započinje tako da se prvo otpipetira 1 mL otopine bakar klorida, 1 mL otopine neokuproina, 1 mL amonij acetata, 0,2 mL uzorka i 0.8 mL vode. Smjesa se homogenizira te se ostavi stajati 30 minuta. Nakon inkubacije provodimo spektrofotometrijsko određivanje apsorbance pri 450 nm, te rezultate preračunavamo iz kalibracijske krivulje trolox – a.

FRAP metoda:

FRAP metoda se temelji na principu prijenosa elektrona između kompleksa željeza i TPTZ-a (2,4,6 – tris (2 – piridil) – 1,3,5 – triazina), odnosno, između  $Fe(TPTZ)_2$  i molekule donora elektrona ArOH (Stoler, 2017.). Reakcija između kompleksa i donora elektrona prikazana je sljedećom jednadžbom (Ou i sur., 2002):





Pokus provodimo tako da prvo otpipetiramo 0,2 mL uzorka, te dodamo 3 mL FRAP otopine. Zatim promiješamo otopinu te je ostavimo da se inkubira 30 minuta. Nakon završene inkubacije mjerimo apsorbanciju pri 593 nm, te rezultate očitavamo preko kalibracijske krivulje trolox-a.

Sve tri navedeno metode određivanja antioksidativne aktivnosti provodili smo u tri paralele.

#### Određivanje flavonoida

Ukupni flavonoidi se određuju modificiranom metodom po Kim, Jeong i Lee-u. Metoda se provodi tako da se prvo napravi otopina na način da u kivetu dodamo 1 mL otopine vina pomiješanog s 0,3 mL 5% NaNO<sub>2</sub>. Otopinu ostavimo u vremenu od 5 minuta te naknadno dodamo 0,3 mL 10% AlCl<sub>3</sub>. Nakon dodatka aluminijev klorida otopinu ponovno ostavimo određen vremenski period u trajanju od 6 minuta, te poslije isteka vremena provodimo neutralizaciju pomoću 2 mL 1M otopine NaOH, prilikom čega dolazi do promjene boje. Nakon neutralizacije slijedi mjerenje apsorbancije pro 510 nm te očitavanje rezultata pomoću kalibracijske krivulje. Rezultati se prikazuju kao [mg ekvivalenata kvarcetina (QE) / 100g vina]. Kvarcetin se spominje jer se kalibracija provodi s različitim koncentracijama istoga. Za određivanje flavonoida se rade tri paralele te se rezultat izražava kao srednja vrijednost ponavljanja.

#### Određivanje polimerne boje

Određivanje polimerne boje se svodi na određivanje antocijana. Temelji se na kemijskoj reakciji između antocijana i bisulfita prilikom čega dolazi do nastanka bezbojnog kompleksa. Apsorbancija na 420 nm predstavlja stupanj posmeđivanja, dok se gustoća boje definira kao suma apsorbanci na 420 nm i 512 nm. Omjer polimerne boje i gustoće boje predstavlja postotak boje nastale polimerizacijom.

### **3.4. ODREĐIVANJE POLIFENOLA HPLC – METODOM**

Pod pojmom polifenoli vina podrazumijevaju se flavan – 3 – ol i fenolne kiseline čija se analiza provodi na HPLC uređaju (HPLC 1260 Infinity II, koji ima PDA detektor; Agilent Technologies,

CA, USA). Izolacija polifenolnih spojeva provodila se na Poroshell 120 EC – C18 koloni koja je ograđena pretkolonom (Poroshell 120 EC – C18, Agilent, USA). Po uzorku su se radile dvije paralele.

Koncentrati su pripremljeni na način da se udio topljive suhe tvari podesio na 8,2% te profiltrirao kroz filter Chromafil Xtra (PTFE; 0,45  $\mu\text{m}$ , 25 mm) (Macherey – Nagel, Düren, Njemačka) uoči HPLC metode. Dobiveni permeati se analiziraju nerazrijeđeni, dok su metode za analizu gore navedenih spojeva validirane. Flavanole identificiramo pri valnoj duljini od 360 nm, a fenolne spojeve na 320 nm, te se kvantifikacija navedenih spojeva provodi pomoću kalibracijskih krivulja standardnih spojeva (rutina, kvarcetina, klorogenske kiseline). Pokraj navedenih spojeva neki se spojevi mogu i djelomično odrediti pomoću kalibracijske krivulje neoklorogenske kiseline. Ukupni flavanoli i fenolne kiseline dobiju se zbrajanjem pojedinih flavanola i fenolnih kiselina, koji su prethodno određeni pomoću HPLC metode.

Flavanoli i fenolne kiseline prethodno se moraju razdvojiti što se provodi reverzno – faznom HPLC metodom pomoću 0,1% fosforne kiseline, koja predstavlja mobilnu fazu A, i 100% - nog metanola, koji predstavlja mobilnu fazu B. Za određivanje se koristio spektar valnih duljina od 200 do 600 nm. Uvjeti rada za analizu navedenih spojeva:

- kolona: Poroshell 120 EC – C18 column (4,6\*100 mm, 2,7  $\mu\text{m}$ ),
- pretkolona: Poroshell 120 EC – C18 guard column (4,6\*5 mm, 2,7  $\mu\text{m}$ ),
- protok: 1mL / min,
- volumen injektora: 10  $\mu\text{L}$ ,
- spektar: 200 – 600 nm.

## **4. REZULTATI**

#### 4.1. TABLIČNI PRIKAZ REZULTATA

**Tablica 2** Udio polifenola, flavonoida, antocijana i postotka polimerne boje u uzorku konvencijalnog vina Cabernet Sauvignon pri procesnim parametrima tlaka od 25, 35, 45 i 55 bara, s procesom hlađenja i bez njega

	KV	KR1	KR2	KR3	KR4	KR5	KR6	KR7	KR8
Ukupni polifenoli [g/L]	3,19±0,06	2,36±0,04	2,57±0,05	2,66±0,09	2,88±0,08	2,34±0,03	2,48±0,03	2,55±0,03	2,83±0,04
Ukupni flavonoidi [g/L]	1,55±0,04	1,11±0,01	1,17±0,03	1,27±0,04	1,26±0,04	1,13±0,03	1,22±0,03	1,32±0,04	1,30±0,04
Polimerna boja [%]	61,50±0,22	62,14±0,32	62,11±0,42	62,22±0,33	62,12±0,45	64,20±0,21	64,01±0,27	64,28±0,30	64,87±0,24
Monomerni antocijani [mg/L]	151,51±0,49	79,39±0,97	79,70±0,85	86,99±0,65	90,19±0,72	72,35±0,84	72,09±0,43	79,50±0,84	80,14±0,11

**Tablica 3** Udio polifenola[g/L], flavonoida[g/L], antocijana[mg/L] i postotka polimerne boje[%] u početnom uzorku i koncentratima ekološkog vina Cabernet Sauvignon pri procesnim parametrima tlaka od 25, 35, 45 i 55 bara, s procesom hlađenja i bez hlađenja

	EV	ER25H	ER35H	ER45H	ER55H	ER25BH	ER35BH	ER45BH	ER55BH
Ukupni polifenoli	3,34±0,06	2,81±0,05	2,90±0,05	2,96±0,07	3,13±0,06	2,47±0,10	2,54±0,04	3,01±0,04	3,05±1,39
Ukupni flavonoidi ]	1,64±0,02	1,39±0,01	1,43±0,03	1,60±0,05	1,53±0,06	1,22±0,02	1,28±0,02	1,44±0,04	1,39±0,06
Polimerna boja	68,62±0,97	68,75±0,21	68,49±0,35	68,10±0,59	68,87±0,12	70,52±0,21	70,45±0,50	70,18±0,33	70,44±0,27
Monomerni antocijani	103,83±0,72	65,55±0,67	67,88±0,70	76,09±0,83	79,53±0,88	63,91±0,70	66,56±0,69	69,35±0,73	77,30±0,84

EV – ekološko vino; ER – retentat ekološkog vina; 25, 35, 45 i 55 – primijenjeni tlakovi (bar); H i BH – hlađenje i bez hlađenja

**Tablica 4** Antioksidacijska [ $\mu\text{mol}/100\text{mL}$ ] aktivnost dobivena iz početnog uzorku i koncentratima konvencijalnog vina sorte Cabernet Sauvignon pri procesnim parametrima tlaka od 25, 35,45 i 55 bara, s procesom hlađenja i bez hlađenja

Antioksidacijska aktivnost	KV	KR25H	KR35H	KR45H	KR55H	KR25BH	KR35BH	KR45BH	KR55BH
DPPH]	14,92 $\pm$ 0,97	5,23 $\pm$ 0,42	7,49 $\pm$ 0,41	10,10 $\pm$ 0,13	12,40 $\pm$ 0,38	4,26 $\pm$ 0,46	5,47 $\pm$ 0,42	7,14 $\pm$ 0,27	7,37 $\pm$ 0,27
ABTS	35,18 $\pm$ 0,14	20,47 $\pm$ 0,19	25,14 $\pm$ 0,18	25,80 $\pm$ 0,40	31,20 $\pm$ 0,06	16,46 $\pm$ 0,24	18,93 $\pm$ 0,17	21,37 $\pm$ 0,16	27,01 $\pm$ 0,32
FRAP	3,04 $\pm$ 0,15	2,37 $\pm$ 0,03	2,48 $\pm$ 0,03	2,60 $\pm$ 0,03	2,65 $\pm$ 0,02	2,11 $\pm$ 0,08	2,23 $\pm$ 0,04	2,52 $\pm$ 0,05	2,56 $\pm$ 0,05
CUPRAC	174,77 $\pm$ 1,07	159,56 $\pm$ 1,94	164,34 $\pm$ 1,04	166,27 $\pm$ 2,16	171,20 $\pm$ 1,49	112,65 $\pm$ 2,01	134,94 $\pm$ 2,68	137,65 $\pm$ 2,91	164,88 $\pm$ 2,32

KV – konvekcionalno vino, KR – retentat konvekcionalnog vina; 25, 35, 45 i 55 – primijenjeni tlakovi (bar); H i BH – hlađenje i bez hlađenja

**Tablica 5** Antioksidacijska aktivnost [ $\mu\text{mol}/100\text{mL}$ ] dobivena iz početnog uzorku i koncentratima ekološkog vina sorte Cabernet Sauvignon pri procesnim parametrima tlaka od 25, 35, 45 i 55 bara, s procesom hlađenja i bez hlađenja

Antioksidacijska aktivnost	EV	ER25H	ER35H	ER45H	ER55H	ER25BH	ER35BH	ER45BH	ER55BH
DPPH	14,77 $\pm$ 0,72	6,12 $\pm$ 0,66	7,16 $\pm$ 0,65	10,85 $\pm$ 0,37	13,16 $\pm$ 0,35	3,32 $\pm$ 0,41	4,58 $\pm$ 0,40	5,73 $\pm$ 0,06	5,05 $\pm$ 0,36
ABTS	33,46 $\pm$ 0,59	27,76 $\pm$ 0,11	28,54 $\pm$ 0,12	32,09 $\pm$ 0,28	32,18 $\pm$ 0,41	22,30 $\pm$ 0,11	27,25 $\pm$ 0,22	27,80 $\pm$ 0,12	30,15 $\pm$ 0,19
FRAP	3,10 $\pm$ 0,13	2,38 $\pm$ 0,17	2,49 $\pm$ 0,18	2,61 $\pm$ 0,17	2,66 $\pm$ 0,18	2,16 $\pm$ 0,16	2,24 $\pm$ 0,21	2,55 $\pm$ 0,20	2,60 $\pm$ 0,20
CUPRAC	170,85 $\pm$ 1,53	128,08 $\pm$ 1,47	139,88 $\pm$ 0,18	138,75 $\pm$ 1,28	161,47 $\pm$ 1,85	107,47 $\pm$ 2,10	115,07 $\pm$ 0,40	123,05 $\pm$ 1,67	140,10 $\pm$ 2,22

EV – ekološko vino; ER – retentat ekološkog vina; 25, 35, 45 i 55 – primijenjeni tlakovi (bar); H i BH – hlađenje i bez hlađenja

**Tablica 6** CIELab parametri boje početnog uzorka i koncentratima konvencijalnog vina sorte Cabernet Sauvignon pri procesnim parametrima tlaka od 25, 35, 45 i 55 bara, s procesom hlađenja i bez hlađenja

	KV	KR25H	KR35H	KR45H	KR55H	KR25BH	KR35BH	KR45BH	KR55BH
<b>L*</b>	19,70±0,01	19,91±0,00	19,92±0,02	19,91±0,00	19,91±0,00	20,0±0,00	20,07±0,00	20,00±0,01	20,01±0,00
<b>a*</b>	1,98±0,03	1,99±0,05	2,03±0,02	1,99±0,03	2,06±0,05	1,86±0,01	1,86±0,01	1,86±0,01	1,87±0,02
<b>b*</b>	1,14±0,03	1,17±0,02	1,13±0,02	1,14±0,00	1,15±0,02	1,16±0,03	1,13±0,02	1,17±0,03	1,12±0,04
<b>°h</b>	35,80±0,64	30,75±0,61	30,47±0,35	30,75±0,29	30,71±0,25	29,52±0,18	29,33±0,26	30,24±0,12	30,51±0,31
<b>C*</b>	1,94±0,02	2,32±0,04	2,33±0,05	2,38±0,03	2,39±0,02	2,52±0,02	2,48±0,02	2,57±0,05	2,63±0,03
<b>ΔE*</b>		0,22±0,01	0,23±0,01	0,21±0,02	0,22±0,01	0,36±0,01	0,39±0,03	0,32±0,04	0,33±0,03

KV – konvekcionalno vino; KR – retentat konvekcionalnog vina; 25, 35, 45 i 55 – primijenjeni tlakovi (bar); H i BH – hlađenje i bez hlađenja

**Tablica 7** CIELab parametri boje početnog uzorka i koncentratima ekološkog vina sorte Cabernet Sauvignon pri procesnim parametrima tlaka od 25, 35, 45 i 55 bara, s procesom hlađenja i bez hlađenja

	EV	ER25H	ER35H	ER45H	ER55H	ER25BH	ER35BH	ER45BH	ER55BH
<b>L*</b>	19,70±0,01	20,25±0,05	20,30±0,01	20,35±0,03	20,31±0,01	20,51±0,02	20,49±0,01	20,49±0,02	20,49±0,02
<b>a*</b>	2,15±0,02	2,13±0,02	2,16±0,01	2,16±0,00	2,02±0,03	2,04±0,02	2,06±0,01	2,02±0,03	2,04±0,01
<b>b*</b>	1,07±0,01	1,08±0,00	1,04±0,03	1,04±0,01	1,05±0,01	1,06±0,01	1,04±0,03	1,02±0,01	1,067±0,02
<b>°h</b>	33,54±1,32	30,16±0,28	30,51±0,52	28,79±0,28	30,63±0,21	29,16±0,19	29,75±1,00	29,15±0,48	28,91±0,93
<b>C*</b>	1,58±0,03	2,74±0,02	2,50 ±0,01	2,57± 0,00	3,24± 0,02	2,80± 0,02	2,64± 0,02	2,50± 0,02	2,83± 0,04
<b>ΔE*</b>		0,55± 0,01	0,60± 0,01	0,65± 0,04	0,62± 0,02	0,82± 0,01	0,80± 0,02	0,80± 0,02	0,79± 0,03

EV – ekološko vino; ER – retentat ekološkog vina; 25, 35, 45 i 55 – primijenjeni tlakovi (bar); H i BH – hlađenje i bez hlađenja

**Tablica 8** Udio [mg/L] fenolnih spojeva i antocijanina u početnom uzorku i koncentratima konvencionalnog vina sorte Cabernet Sauvignon uz procesne parametre tlaka od 25, 35, 45 i 55 bara, s procesom hlađenja i bez hlađenja

	KV	KR25H	KR35H	KR45H	KR55H	KR25BH	KR35BH	KR45BH	KR55BH
Galna kiselina	42,22± 0,65	37,37± 0,18	38,96± 0,08	37,55± 0,25	41,34± 0,05	28,99± 0,11	34,45± 0,11	37,16± 0,69	36,33± 0,09
Kafeinska kiselina	2,71± 0,01	2,24± 0,01	2,39± 0,01	2,34 ±0,00	2,53± 0,01	1,73± 0,01	2,35± 0,34	2,28± 0,05	2,25± 0,02
Kaftarna kiselina	11,18± 0,11	9,47± 0,02	9,94± 0,01	9,92± 0,12	10,77± 0,02	7,08± 0,03	8,87± 0,01	9,52± 0,31	9,38± 0,02
(+) - katehin	88,71± 0,60	73,06± 0,80	76,70± 0,61	70,14± 0,25	82,95± 0,69	53,50± 0,28	66,25± 0,05	74,20± 0,49	74,38± 0,43
(-) - epikatehin	34,63± 0,16	28,88± 0,14	30,53± 0,09	30,33± 0,36	30,6± 0,10	27,36± 0,23	32,51± 0,04	30,23± 0,15	30,82± 0,15
Rutin	0,95± 0,02	0,90± 0,19	1,07± 0,02	1,17± 0,00	1,20± 0,00	0,85± 0,00	1,05± 0,01	0,99± 0,02	1,03± 0,06
Kvercetin	1,18± 0,01	0,83± 0,00	1,19± 0,01	0,92± 0,04	1,18± 0,00	0,49± 0,01	0,60± 0,01	0,66± 0,02	0,54± 0,02
Derivat kvercetina (1)	2,02± 0,04	1,26± 0,12	1,25± 0,01	1,48± 0,02	1,57± 0,00	1,00± 0,00	1,32± 0,01	1,16± 0,02	1,21± 0,01
Derivat kvercetina (2)	1,11± 0,01	0,88± 0,00	0,92± 0,00	0,96± 0,01	1,02± 0,00	0,68± 0,00	0,85± 0,01	0,85± 0,03	0,86± 0,01
Malvidin - 3 – glukozid	38,57± 0,01	35,28± 0,35	36,83± 0,03	36,35± 0,05	36,65± 0,11	34,99± 0,03	36,00± 0,72	36,66± 0,11	36,84± 0,83
Derivat malvidin – 3 – glukozida	8,27± 0,01	7,35± 0,08	7,41± 0,03	7,36± 0,03	7,64± 0,03	7,26± 0,04	7,40± 0,07	7,60± 0,09	7,50± 0,03

KV – konvekcionalno vino; KR – retentat konvencionalnog vina; 25, 35, 45 i 55 – primijenjeni tlakovi (bar); H i BH – hlađenje i bez hlađenja

**Tablica 9** Udio [mg/L] fenolnih spojeva i antocijanina u početnom uzorku i koncentratima ekološkog vina sorte Cabernet Sauvignon uz procesne parametre tlaka od 25, 35, 45 i 55 bara, s procesom hlađenja i bez njega

	EV	ER25H	ER35H	ER45H	ER55H	ER25BH	ER35BH	ER45BH	ER55BH
Galna kiselina	43,95± 0,60	39,60± 0,10	40,65± 0,02	41,86± 0,31	41,45± 0,23	34,29± 0,97	37,28± 0,67	37,11± 0,29	37,35± 0,52
Kafeinska kiselina	2,10± 0,01	1,78± 0,00	1,83± 0,00	1,90± 0,01	1,93± 0,03	1,56± 0,03	1,87± 0,01	1,80± 0,07	1,77± 0,03
Kaftarna kiselina	4,05± 0,01	3,59± 0,01	3,75± 0,15	3,74± 0,02	3,79± 0,03	3,06± 0,03	3,48± 0,02	3,45± 0,05	3,48± 0,02
(+) - katehin	42,18± 0,34	38,61± 0,14	39,89± 0,03	39,94± 0,15	41,29± 0,12	33,07± 2,95	36,31± 0,10	35,03± 0,08	35,99± 0,57
(-) - epikatehin	69,80± 1,61	49,40± 0,07	50,37± 0,49	52,49± 0,08	52,44± 0,10	46,15± 0,06	50,70± 0,40	50,93± 0,51	50,87± 0,43
Rutin	1,59± 0,01	1,30± 0,01	1,33± 0,04	1,38± 0,04	1,34± 0,01	1,14± 0,02	1,35± 0,04	1,32± 0,01	1,26± 0,01
Kvercetin	3,57± 0,04	1,63± 0,03	2,07± 0,01	2,42± 0,01	2,43± 0,01				0,39± 0,01
Derivat kvercetina (1)	1,43± 0,01	0,80± 0,01	1,06± 0,06	1,02± 0,01	1,01± 0,03	0,83± 0,01	0,93± 0,00	0,98± 0,01	0,97± 0,01
Derivat kvercetina (2)	1,20± 0,01	0,98± 0,03	1,06± 0,01	1,04± 0,05	1,02± 0,04	0,84± 0,01	0,98± 0,01	0,99± 0,01	0,93± 0,05
Malvidin - 3 – glukozid	16,12± 0,10	14,42± 0,09	14,21± 0,03	15,53± 0,09	15,26± 0,01	13,08± 0,12	14,62± 0,19	14,60± 0,03	14,79± 0,01
Derivat malvidin – 3 – glukozida	3,07± 0,01	2,43± 0,01	2,41± 0,03	3,08± 0,03	3,12± 0,04	2,21± 0,02	2,46± 0,01	2,48± 0,00	3,10± 0,06

EV – ekološko vino; ER – retentat ekološkog vina; 25, 35, 45 i 55 – primijenjeni tlakovi (bar); H i BH – hlađenje i bez hlađenja



## **5. RASPRAVA**

Proces koncentriranja može se provoditi na više načina poput koncentriranja zamrzavanjem, pervaporacije te membranskih procesa. Budući da koncentriranje nije specifična operacija koja se provodi tijekom postupka proizvodnje vina, zadatak ovog diplomskog rada je bio ispitati utjecaj procesnih parametara (temperatura, tlak) korištenih tijekom koncentriranja membranskim procesom reverzne osmoze na tvari boje ekološkog i konvencijalnog vina sorte Cabernet Sauvignon. Koncentracija pojedinih komponenata konvekcionalno i ekološki proizvedenog vina prikazane su **Tablicama 2 – 8**. Membranski proces reverzne osmoze provodio se pri različitim tlakovima (25, 35 45 i 55 bara), s hlađenjem i bez njega. Pokusi su se provodili kako bi se vidjelo pri kojim procesnim parametrima dolazi do najboljeg zadržavanja (koncentriranja) polifenola, flavonoida, polimerne boje, monomernih antocijana te antioksidacijska aktivnost, koja je određena DPPH, FRAP, ABTS i CUPRAC metodama, također se pratio udio galne kiseline, kafeinske kiseline, kaftarne kiseline, (+) - katehina i (-) - epikatehina.

Udio ukupnih polifenola u početnom uzorku konvencijalnog vina (**Tablica 2**) iznosio je 3,19 g/L, dok je u početnom uzorku ekološkog vina (**Tablica 3**) bilo 3,34 g/L ukupnih polifenola. Procesom koncentriranja dolazi do malog pada koncentracije što se može predočiti. Iz grafa (Slika 11.) može se vidjeti da se ukupni polifenoli, prilikom procesa reverzne osmoze, najbolje zadržavaju pri tlaku od 55 bara uz proces hlađenja. Udio ukupnih polifenola uz procesne parametre tlaka od 55 bara, prilikom procesa hlađenja, kod konvencijalnog vina je iznosio 2,88 g/L, dok je isti udio kod ekološkog vina iznosio 3,13 g/L.

Kako je navedeno kod polifenola, udio flavonoida se također snizio prilikom procesa reverzne osmoze. Iz **Tablice 3** može se vidjeti kako je uzorak konvencijalnog vina koncentraciju flavonoida najbolje održao pri procesnim parametrima tlaka od 45 bara, bez procesa hlađenja, dok su se kod uzorka ekološkog vina, što se vidi iz **Tablice 3**, najbolji rezultati očitali pri procesnim parametrima tlaka od 45 bara, s procesom hlađenja. Tako je koncentracija ukupnih flavonoida, u konvencijalnom vinu, pala 1,55 g/L na 1,32 g/L ukupnih flavonoida. Dok je kod ekološkog vina znatno manji gubitak flavonoida te je vrijednost pala za svega 0,04 g/L, sa 1,64 g/L u početnom uzorku do 1,60g/L uz procesne parametre tlaka od 45 bara uz proces hlađenja. Koncentracija polimerne boje varira oko početne vrijednosti u oba uzorka, kako je prikazano **Tablicom 2 i 3**. Tako kod uzorka konvencijalnog vina dolazi od malog povišenja koncentracije, te se najkvalitetniji proces koncentriranja proveo pri procesnim parametrima tlaka od 55 bara, bez procesa hlađenja, prilikom čega koncentracija polimerne boje „skače” sa 61,50%, iz

početnog uzorka, pa sve do 64,87% pri navedenim uvjetima. Kod ekološkog vina rezultati variraju oko početne vrijednosti, ali također dolazi do blagog porasta koncentracije. Udio polimerne boje se najbolje zadržao pri procesnim parametrima tlaka od 25 bara, bez procesa hlađenja. Tako je udio polimerne boje u početnom uzorku ekološkog vina iznosio 68,62%, dok je koncentracije iste pri navedenim uvjetima, od 25 bara bez procesa hlađenja, iznosio 70,52%. Tokom provođenja reverzne osmoze došlo je do znatnog smanjenja koncentracije monomernih antocijana. Isti rezultati se mogu očitovati za oba uzorka, što je vidljivo iz **Tablice 2 i 3**. Tako je udio u početnom uzorku konvencijalnog vina (Tablica 2.) iznosio 151,51 mg/L, dok se u ekološkom vinu (Tablica 3.) nalazilo 103,83 mg/L monomernih antocijana. Prema tabličnim i grafičkim rezultatima može se primijetiti da se udio antocijana, kod konvencijalnog vina, najbolje održao pri procesnim parametrima tlaka od 55 bara, s procesom hlađenja, te je iznosio 90,19 mg/L. Kod uzorka ekološkog vina najkvalitetniji je proces proveden pri procesnim parametrima od 55 bara, bez procesa hlađenja, prilikom čega količina monomernih antocijana iznosi 79,53 mg/L.

Antioksidacijsku aktivnost određivali smo upotrebom više metoda. Korištene su DPPH, FRAP, ABTS i CUPRAC metoda. Kod sve četiri metode najbolji rezultati se mogu detektirati pri procesnim parametrima tlaka od 55 bara, s hlađenjem, što se može očitati iz **Tablica 3 i 4**.

Iz priloženih podataka DPPH metode iz tablica i grafova se može očitati kako je koncentracija početnog uzorka, u konvencijalnom vinu, iznosila 14,92  $\mu\text{mol}/100\text{mL}$ , dok je najveća vrijednost, kako je gore navedeno, zabilježena pri tlaku od 55 bara s hlađenjem iznosila 12,40  $\mu\text{mol}/100\text{mL}$ . Kod početnog uzorka ekološkog vina antioksidacijska aktivnost iznosila je 14,77  $\mu\text{mol}/100\text{mL}$ . U slučaju ekološkog vina, pri istim procesnim parametrima (55 bara s hlađenjem), vrijednost antioksidacijske aktivnosti je iznosila 13,16  $\mu\text{mol}/100\text{mL}$ .

U slučaju ABTS metode, antioksidacijska aktivnost u početnom uzorku konvencijalnog vina je iznosila 35,18  $\mu\text{mol}/100\text{mL}$ , dok je kod ekološkog vina bila 33,46  $\mu\text{mol}/100\text{mL}$ . Kod procesnih parametara tlaka od 55 bara, s procesom hlađenja, iz tablica se može očitati kako je antioksidacijska aktivnost, kod konvencijalnog vina, jednaka  $31,20 \pm 0,06 \mu\text{mol}/100\text{mL}$ , dok je kod ekološkog vina vrijednost jednaka  $32,18 \pm 0,41 \mu\text{mol}/100\text{mL}$ .

FRAP metoda pokazuje najmanje vrijednosti antioksidacijske aktivnosti. Tako je u slučaju konvencijalnog vina, početni uzorak pokazivao vrijednost od 3,04  $\mu\text{mol}/100\text{mL}$ , a uzorak ekološkog vina 3,10  $\mu\text{mol}/100\text{mL}$ . Pri procesnim parametrima tlaka od 55 bara, s procesom

hlađenja te vrijednosti padaju, te je vrijednost antioksidacijske aktivnosti za konvencijalno vino iznosila 2,65  $\mu\text{mol}/100\text{mL}$ , a uzorak ekološkog vina 2,66  $\mu\text{mol}/100\text{mL}$ .

CUPRAC metoda pokazuje znatno veće vrijednosti antioksidacijske aktivnosti u odnosu na ostale metode. Vrijednost antioksidacijske aktivnosti kod početnog uzorka konvencijalnog vina iznosila je 174,77  $\mu\text{mol}/100\text{mL}$ , dok se kod ekološkog vina vrijednost mogla očitati u veličini od 170,85  $\mu\text{mol}/100\text{mL}$ . Kod gore navedenih procesnih parametara (55 bara, s hlađenjem), iz tablica možemo očitati kako je vrijednost kod konvencijalnog vina iznosila 171,20  $\mu\text{mol}/100\text{mL}$ , dok je kod ekološkog vina vrijednost iznosila 161,47  $\mu\text{mol}/100\text{mL}$ .

Iz **Tablica 5 i 6** možemo očitati kao je  $L^*$  vrijednost jednaka u oba uzorka te je iznosila 19,70. Također možemo očitati kako ista vrijednost blago raste nakon provedenog procesa. Također, može se vidjeti kako se  $a^*$  vrijednost nije promijenila tokom procesa hlađenja, dok dolazi do blagog pada vrijednosti kod procesa bez hlađenja. Može se primijetiti kako se  $b^*$  vrijednost, također, zamjetno ne mijenja. Kod  $^{\circ}h$  vrijednosti se može primijetiti kako dolazi do zamjetnog pada, te da se kod konvencijalnog vina najveća vrijednost može očitati pri procesnim parametrima tlaka od 25 i 45 bara, s procesom hlađenja, dok se, isto, kod ekološkog vina može vidjeti pri procesnim parametrima tlaka od 35 i 55 bara, s procesom hlađenja. U slučaju  $c^*$  vrijednosti dolazi do povišenja numeričkih vrijednosti. Može se očitati kako, kod uzorka konvekcionalnog vina, najveća vrijednost se javlja kod procesnih parametara tlaka od 45 i 55 bara bez procesa hlađenja, dok se kod ekološkog vina najviši rezultati mogu primijetiti kod procesnih parametara tlaka od 55 bara, s hlađenjem, te 55 bara bez hlađenja. Za  $\Delta E^*$  vrijednost možemo vidjeti kako ne dolazi do promjene vrijednosti, bilo da je riječ o procesu s hlađenjem ili bez njega, ali se može primijetiti kako proces bez hlađenja pokazuje nešto veće rezultate za razliku od procesa s hlađenja.

Fenolne kiseline i ostale tvari vina su prikazane **Tablicama 7 i 8**. Prema tabličnim prikazima može se utvrditi kako je udio galne kiseline, u uzorku konvencijalnog vina, iznosio 42,22 mg/L, dok je ista vrijednost kod uzorka ekološkog vina bio 43,95 mg/L. Iz rezultata se također može očitati kako se najbolji rezultati javljaju pri tlaku od 55 bara s procesom hlađenja, kod konvencijalnog vina, te je vrijednost iznosila 41,34 mg/L. Kod uzorka ekološkog vina, najveći rezultat se može očitati pri tlaku od 45 bara, s procesom hlađenja, te je iznosio 41,86 mg/L.

Udio kafeinske kiseline je u uzorku konvencijalnog vina iznosio 2,71 mg/L, dok je ekološko vino sadržavalo 2,10 mg/L navedene kiseline. Iz rezultata se može primjetiti kako dolazi do smanjenja udjela kafeinske kiseline prilikom provedbe procesa reverzne osmoze, te da se

najbolji rezultati, za konvencijalno vino mogu primijetiti pri tlaku od 55 bara, s procesom hlađenja, te je dobivena vrijednost iznosila 2,53 mg/L. Kod ekološkog vina najbolje rezultate prikazuju tlakovi od 45 i 55 bara, s procesom hlađenja, pri čemu gotovo da nema razlike. Tako je vrijednost kafeinske kiseline pri 45 bara iznosila 1,90 mg/L, dok je ista kod 55 bara bila 1,93 mg/L

Kaftarne kiseline ima nešto više u vinima, mada rezultati pokazuju kako konvencijalno vino ima veće količine za razliku od ekološkog vina. Iz tih saznanja se može vidjeti kako se provedbom procesa reverzne osmoze više kiseline gubi u ekološki proizvedenim vinima. Iz tablica se može vidjeti kako je udio kaftarne kiseline u konvencijalnom vinu iznosio 11,18 mg/L, dok je udio u ekološkim vinima bio 4,05 mg/L. Najkvalitetniji proces koncentriranja može se očitati pri procesnim parametrima tlaka, za konvencijalna vina, od 55 bara, s procesom hlađenja, te je udio kaftarne kiseline iznosio 10,77 mg/L. Kod uzorka ekološkog vina dolazi do neznatnog pada koncentracije. Može se primijetiti kako se najbolji proces koncentriranja proveo pri tlaku od 55 bara, s hlađenjem, te je udio kaftarne kiselina iznosio 3,79 mg/L.

Iz tabličnih i grafičnih prikaza rezultata vidljivo je kako se udio (+) - katehina smanjuje provođenjem reverzne osmoze. Početni uzorak konvencijalnog vina sadržavao je 88,71 mg/L katehin, dok je uzorak ekološkog vina imao 42,18 mg/L navedenog spoja. Iz grafa se može primijetiti kako se najviše katehina zadržava pri procesu reverzne osmoze koja se provodila korištenjem procesnih parametara tlaka od 55 bara, s procesom hlađenja, kod oba uzorka. Tako je udio katehina kod uzorka konvencijalnog vina, pri zadanim najpovoljnijim uvjetima, iznosio 82,95 mg/L, dok je ekološko vino pri navedenim procesnim parametrima sadržavalo 41,29 mg/L katehina.

Kako je navedeno u slučaju katehina, razina (-) - epikatehina također opada provedbom reverzne osmoze. Kod uzorka konvencijalnog vina, nakon provedbe procesa, utvrđen je puno manji gubitak navedenog spoja za razliku kod ekološkog vina, te nema pretjerano velike razlike u numeričkim vrijednostima rezultata. Tako je koncentracija epikatehina u početnom uzorku konvencijalnog vina iznosila 34,63 mg/L, dok se u uzorku ekološkog vina nalazilo 69,80 mg/L. Za uzorak konvencijalnog vina najpovoljniji učinak reverzne osmoze bio je prilikom korištenja procesa pri 55 bara, s procesom hlađenja, te je ta vrijednost iznosila 30,6 mg/L. Uzorak ekološkog vina najbolji rezultat pokazuje prilikom korištenja postupka od 45 bara, s procesom hlađenja, mada se numerička vrijednost rezultata vrlo malo razlikuje od procesa pri 55 bara, s hlađenjem, te je vrijednost rezultata bila 52,49 mg/L.

## **6. ZAKLJUČCI**

Iz dobivenih tabličnih i grafičkih rezultata može se zaključiti:

1. Sam proces reverzne osmoze, bez obzira da se većinom ne koristi tokom provedbe proizvodnje vina je prilično uspješna metoda koncentriranja.
2. Najuspješniji proces reverzne osmoze zabilježen je prilikom korištenja procesnih parametara tlaka od 55 bara, s procesom hlađenja.
3. Prema rezultatima se može utvrditi kako se antioksidacijska aktivnost povećava povećanjem tlaka.
4. Što se tiče polifenola, flavonoida, polimerne boje i antocijana vidljivo je kako se polifenoli najbolje zadržavaju pri tlaku od 55 bara s procesom hlađenja, ali da nema velikog odstupanja tijekom provedbe procesa bez hlađenja. Flavonoidi se najbolje održavaju pri tlaku od 45 bara s procesom hlađenja, te se također može provoditi i proces bez hlađenja.
5. Polimerna boja se najbolje održava u procesu bez hlađenja, pri čemu tlak nije od pretjeranog značaja jer je pri svim provedenim procesima, uz različite tlakove, numerička vrijednost rezultata ne mijenja u prevelikom rasponu.
6. Za razliku od ostalih tvari, dolazi do znatnog smanjenja antocijana, te se najbolji rezultati mogu očitati pri procesu od 55 bara s procesom hlađenja.
7. Uzorak konvekcionalnog vina sadržava više monomernih antocijana, kaftarne kiseline, kafeinske kiseline i katehina, dok uzorak ekološkog vina sadržava više polifneola, flavonoida, polimerne boje i epitkatehina. Isto se može navesti i za dobivene koncentrate.
8. Iz provedenog pokusa može se zaključiti kako je razlika između konvekcionalnog i ekološkog vina relativno mala, te da je sam proces vrlo uspješan.

## **7. LITERATURA**



- Alpeza I: Temelji kemijskog sastava vina. *Glasnik zaštite bilja* 31:143-150, 2008.
- Andabak J: Utjecaj fermentacijske posude na aromatski profil i boju vina sorte Plavac mali. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2017.
- Arnao, M. B. (2000) Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends Food Sci. Technol.* **11**, 419–421.
- Barbarić B: Utjecaj skladištenja na kakvoću bojelih vina palava, pinot sivi i traminac. *Diplomski rad*. Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek. 2018.
- Bilan M. Projekt postrojenja za obradu sirove jezerske vode. *Diplomski rad*. Fakultet strojarstva i brodogradnje, Zagreb, 2017.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* **28**, 25-30.
- Červar M: Obrada vode nanofiltracijom. *Diplomski rad*. Prehrambeno biotehnološki fakultet, Zagreb, 2000.
- Čobanov A: Kakvoća domaćeg bijelog vina Pinot sivi iz podregije Slavonija. *Završni rad*, Prehrambeno biotehnološki fakultet u Zagrebu, 2016.
- Galić L: Fenolni spojevi u biljkama. *Diplomski rad*. Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Osijek, 2020.
- Grainger K i Tattersall H: *Wine production and quality*. Wiley-Blackwell, UK, 2016.
- Grubišić E: Određivanje antioksidativnog karaktera odabranih boroničnih kiselina CUPRAC metodom. *Diplomski rad*. Kemijsko tehnološki fakultet, Split, 2017.
- Habuda – Stanić M., Tehnologija vode i obrada otpadnih voda. *Nastavni materijali*. Prehrambeno – tehnološki fakultet, Osijek, 2021.
- Hausmann A, Duke MC, Demmer T: Principles of membrane filtration. U Tamime AY: Membrane processing, str. 17-51. Blackwell publishing Ltd, SAD, 2012.
- Herjavec S, Maslov Bandič L: Vinarstvo. *Udžbenik*. Nakladni zavod Globus. Zagreb, 2019.
- 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.

- Ivić I, Kopjar M, Obhodaš J, Vinković A, Pichler D, Mesić J, Pichler A: Concentration with nanofiltration of red wine Cabernet Sauvignon produced from conventionally and ecologically grown grapes: Effect on volatile compounds and chemical composition. *Membranes* 11, 320, 26, 2021a.
- Ivić I, Kopjar M, Jukić V, Bošnjak M, Maglica M, Mesić J, Pichler A: Aroma profile and chemical composition of reverse osmosis and nanofiltration concentrates of red wine Cabernet Sauvignon. *Molecules* 26, 874, 19, 2021b.
- Jaffrin, M: Membrane filtration processes. Bookboon, 2015.
- Jakobek L, Šeruga M, Šeruga B, Novak I, Medvidovic-Kosanović M: Phenolic compound composition and antioxidant activity of fruits of Rubus and Prunus species from Croatia. *International Journal of Food Science and Technology* 44:860–868, 2009.
- Jakobi I: Proizvodnja crnih vina. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2015.
- Keser M: Ekološko vinogradarstvo u Republici Hrvatskoj. *Diplomski rad*. Agronomski fakultet, Zagreb, 2019.
- Korbar S: Utjecaj koncentriranja membranskim procesom reverzne osmoze na tvari boje vina Cabernet Sauvignon. *Diplomski rad*. Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek, 2020.
- Kotsanopoulos K i Arvanitoyannis I: Membrane processing technology in the food industry: food processing, wastewater treatment, and effects on physical, microbiological, organoleptic, and nutritional properties of foods. *Food science and nutrition* 55, 2013.
- Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva: *Pravilnik o proizvodnji vina*. Narodne novine 02/05, 2005.
- Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva: *Zakon o vinu*. Narodne novine 32/19, 2019.
- Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi: *Pravilnik o prehrambenim enzimima*. Narodne novine 86/10, 2010
- Mirošević N i suradnici: *Atlas hrvatskog vinogradarstva i vinarstva*. Golden marketing-tehnička knjiga, Zagreb, 2009.
- Mishra, K., Ojha, H., Chaudhury, N. K. (2012) Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chem.* **130**, 1036–1043.

- Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., Deemer, E. K. (2002) Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A Comparative Study. *J. Agr. Food Chem.* **50**, 3122-3128.
- Pichler A.: Tehnologija vina. *Nastavni materijali*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2018.
- Pozderović A: Tehnologija vina. *Interna skripta*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2010.
- Prakash, A. (2001) Antioxidant activity. *Med. Lab. Anal. Prog.* **19-2**, 1–6.
- Primorac Lj: Kontrola kakvoće hrane. *Nastavni materijali*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2020.
- Stoler, 2017 Stoler I: Određivanje udjela ukupnih fenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti u bezglutenskom kiselom tijestu i kruhu s dodatkom brašna žutog graška. *Diplomski rad*. Prehrambeno biotehnološki fakultet, Zagreb, 2017.
- 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, 2010.
- Zoričić M: *Podrumarstvo*. Nakladni zavod Globus, Zagreb, 1996.