

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

Ivan Šantić

UTJECAJ SKLADIŠTENJA NA KAKVOĆU VINA OD MANDARINE

DIPLOMSKI RAD

Osijek, srpanj, 2019.

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

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 2018./2019. održanoj 30.05.2019.
Mentor: izv. prof. dr. sc. *Anita Pichler*

Utjecaj skladištenja na kakvoću vina od mandarine

Ivan Šantić, 0113138525

Sažetak: Voćno vino je prehrambeni proizvod dobiven fermentacijom soka ili masulja od svježeg i za to pogodnog koštičavog, jezgričavog, jagodičastog, bobičastog ili ostalog voća. U njemu se nalazi nekoliko stotina različitih kemijskih spojeva koji svojim sadržajem utječu na kakvoću vina. Osim navedenih spojeva, na kakvoću i organoleptička svojstva vina velik utjecaj imaju i uvjeti koji vladaju pri procesu proizvodnje i skladištenja. Zbog obilja vitamina i minerala mandarina djeluje kao antioksidans te jača imunitet, sudjeluje u sintezi kolagena, karnitina i masnih kiselina. Aroma vina od mandarine potječe jednim dijelom iz voća, jedan dio proizvode kvasci tijekom alkoholne fermentacije, a dio nastaje odležavanjem i njegovanjem mladoga vina. Kontroliranom fermentacijom zadržava se svježina i mladost vina. Flavonoidi su polifenolni spojevi, široko rasprostranjeni u biljnim organizmima, odgovorni za boju voća, povrća i cvijeća, te imaju antioksidacijsko djelovanje. U ovom radu ispitivan je utjecaj skladištenja na osnovni kemijski sastav, tvari boje i arome u vinu dobivenog fermentacijom soka mandarine sa i bez korekcije ukupnih kiselina. Istraživanja su pokazala da korekcija kiselina u procesu fermentacije i odležavanja vina od mandarine doprinosi boljem razvoju arome.

Ključne riječi: voćno vino, mandarina, boja, aroma

Rad sadrži: 44 stranice
15 slika
6 tablica
28 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. doc. dr. sc. <i>Ante Lončarić</i> | zamjena člana |

Datum obrane: 18. srpanj 2019.

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

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

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 05, 2019
Mentor: *Anita Pichler*, PhD associate prof.

The Influence of Storage on the Quality of Tangerines Wine

Ivan Šantić, 0113138525

Summary: Fruit wine is a alimentary product obtained by the fermentation of juice or a mullet of fresh and suitable for tuberous, corrugated, berry or other fruits. It contains hundreds of different chemical compounds that affect the quality of wine with their contents. In addition to the above mentioned compounds, the quality and organoleptic properties of wine are also influenced by the conditions that govern the production and storage process. Due to the abundance of vitamins and minerals, tangerine acts as an antioxidant and strengthens immunity, participates in the synthesis of collagen, carnitine and fatty acids. The aroma of tangerine fruit comes partly from fruit, one part is produced by yeasts during alcoholic fermentation, and part is formed during aging and nurturing young wine. Controlled fermentation retains freshness and youthfulness of wine. Flavonoids are polyphenolic compounds, widely distributed in plant organisms, responsible for the colour of fruits, vegetables and flowers, and have antioxidant activity.

In this paper the influence of storage on the basic chemical composition, colour and aroma compounds in wine obtained by fermentation of tangerine juice with and without correction of total acids was investigated. Research has shown that acid correction during fermentation and aging of tangerine wine contributes to improved aroma development.

Key words: fruit wine, tangerines, colour, aroma

Thesis contains: 44 pages
15 figures
6 tables
28 references

Original in: Croatian

Defense committee:

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

Defense date: July 18, 2019

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

Zahvalio bih se svom sinu i supruzi koji su bili velika podrška i poticaj tijekom studija. Također se želim zahvaliti svojim roditeljima Vivijan i Jošku koji su mi omogućili da budem tu gdje jesam i bili mi podrška kroz sve godine školovanja te bih se zahvalio braći i sestri, a posebno bratu Marinu. Zahvaljujem i prijateljima koji su uljepšali studiranje i učinili ga nezaboravnim.

Posebno zahvaljujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Aniti Pichler koja je uložila velik trud, vrijeme i strpljenje pri izradi diplomskog rada i, također, jednako hvala asistentici Ivani Ivić.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO.....	3
2.1. MANDARINA.....	4
2.1.1. Hranjiva i zdravstvena vrijednost mandarine	5
2.2. VINO OD VOĆA.....	6
2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA.....	7
2.3.1. Ugljikohidrati	7
2.3.2. Kiseline.....	8
2.3.3. Alkohol.....	9
2.3.4. Aledihidi i ketoni	10
2.3.5. Esteri.....	11
2.3.6. Tvari arome.....	11
2.3.7. Enzimi	11
2.3.8. Fenolni spojevi	12
2.3.9. Mineralne tvari (pepeo).....	13
2.3.10. Ekstrakt vina	13
2.3.11. Dušične tvari	13
2.3.12. Parametri kakvoće vina.....	14
2.4. PROIZVODNJA VOĆNIH VINA.....	15
2.4.1. Pranje i usitnjavanje voća	15
2.4.2. Prešanje	15
2.4.3. Posuđe	16
2.4.4. Prerada	17
2.4.5. Vrenje	17
2.4.6. Završne faze	17
2.5. ODREĐIVANJE AROMATIČNIH SPOJEVA	18
2.5.1. Plinska kromatografija	18
2.5.2. Spektrometrija masa.....	18
2.5.3. Mikroekstrakcija u čvrstoj fazi	19
3. EKSPERIMENTALNI DIO	21
3.1. ZADATAK.....	22
3.2. MATERIJALI I METODE.....	22
3.2.1. Skladištenje uzoraka	22
3.2.2. Kemijska analiza vina	22
3.2.3. Analiza arome vina plinskom kromatografijom primjenom SPME analize.....	27
4. REZULTATI	29
5. RASPRAVA.....	35
6. ZAKLJUČCI	39
7. LITERATURA	41

Popis oznaka, kratica i simbola

SPME	Mikroekstrakcija u čvrstoj fazi
GC	Plinski kromatograf
MS	Spektar masa

1. UVOD

Mandarina, slatko voće i vjesnik jeseni, bogatog je okusa te blagotvornog djelovanja na ljudski organizam. Hrvatska vina imaju snažnu povijest proizvodnje vina koja datira još od vremena prije Krista. Do danas je proizvedeno mnogo različitih vrsta vina u našoj regiji. Uzimajući u obzir bogatu Hrvatsku vinarsku povijest i dugogodišnju tradiciju bila bi dobro obogatiti je s nekim novim vrstama vina.

Voćno vino predstavlja složen proizvod dobiven fermentacijom koji se sastoji od mnogo kemijskih spojeva specifičnih za svaku vrstu. U njemu je prisutno mnogo kemijskih spojeva zaslužnih kako za arome i okuse tako i za pozitivan utjecaj na ljudski organizam.

Tvorba aromatičnih sastojaka je dinamičan proces koji započinje s fazom dozrijevanja, da bi se karakteristična aroma razvila tek po završetku faze zrenja voća. Tijekom tvorbe aromatičnih sastojaka odvijaju se metaboličke promjene katabolizma, aromatični sastojci nastaju iz određenih biljnih sastojaka i prekursora preko različitih biokemijskih putova, pri čemu pojedini enzimi ili skupine enzima, također, imaju važnu ulogu.

Polifenoli ukupnom zastupljenošću i brojnošću različitih spojeva, predstavljaju vrlo značajan dio kemijskog sastava voća. Preradom, ovisno o tehnologiji, polifenoli se u većoj ili manjoj mjeri prenose u vino i na taj način sudjeluju u stvaranju kompleksa fizikalno-kemijskih karakteristika koje utječu na kakvoću vina. Danas se, s druge strane, polifenolnim spojevima posvećuje velika pozornost sa stajališta nutritivne i zdravstvene vrijednosti vina (Andabak, 2017.).

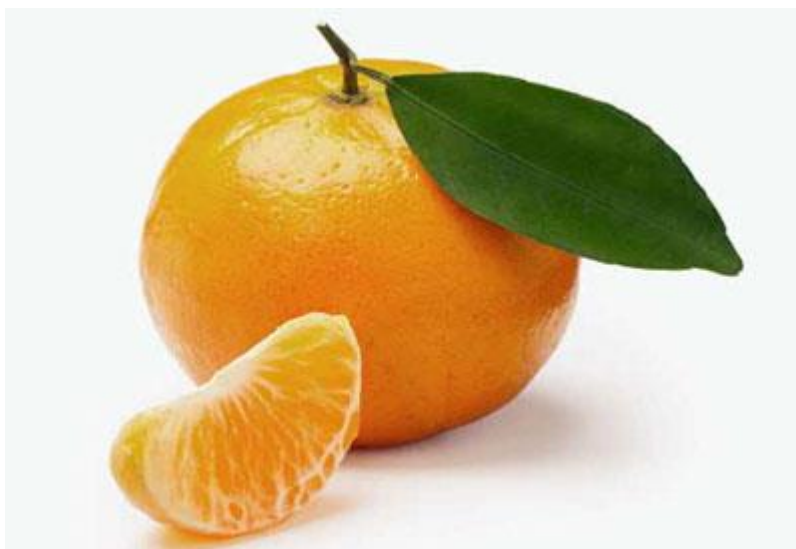
Zadatak rada bio je ispitati utjecaj skladištenja na osnovni kemijski sastav, tvari boje i arome u vinu dobivenog fermentacijom soka mandarine sa i bez korekcije ukupnih kiselina.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. MANDARINA

Mandarina (**Slika 1**) je trajno zelena biljka koja pripada porodici *Reticulata*, a rodu Citrusa. Stablo raste do 3 metra visine, razgranato, s tamnozelenim, duguljastim i uskim listovima. Plod je kuglast, spljošten i žuto-narančaste boje, specifičnog i ugodnog mirisa. Mesni dio (endokarp) ima od 9 do 14 kriški u kojima može biti do 27 sjemenki, ovisno o sorti. Između krišaka isprepleću se mrežaste niti zbog kojih je smještena u porodicu agruma *Reticulata*. Podrijetlom iz Kine, na našem području pojavila se tek početkom 20. stoljeća (Poljoprivredna enciklopedija, 1970.).

Mandarina u Hrvatskoj raste u mediteranskom području. Razlog tome je prosječna godišnja temperatura od oko 15 °C i velik broj sunčanih dana. Sorte se prema vremenu dozrijevanja dijele u četiri osnovne skupine: vrlo rane, rane, srednje i kasne zriobe (Popović i Vego, 2010.).



Slika 1 *Mandarina* (Web 1)

2.1.1. Hranjiva i zdravstvena vrijednost mandarine

Tablica 1 Energetska vrijednost pojedinih hranjivih tvari u 100 g ploda mandarine (*Citrus reticulata* Blanco) (Ferenčić i sur., 2016.)

Hranjive tvari	Energetska vrijednost (kcal)
Ugljikohidrati	47,7
Masti	2,6
Bjelančevine	2,7
Alkoholi	0,0

Zbog obilja vitamina i minerala mandarina je voće s brojnim dokazanim zdravstvenim blagodatima. Vitamin C u udjelu od 26,7 mg/100 g zadovoljava 80% dnevnog unosa. Djeluje kao antioksidans sprječavajući prijelaz stabilnih slobodnih radikala u nestabilne, a osim toga jača imunitet, sudjeluje u sintezi kolagena, karnitina i masnih kiselina. Mandarina sadrži i antioksidanse u obliku β -karotena iz kojega nastaje vitamin A. U mandarini je prisutno i šezdesetak flavonoida koji se nalaze u bijelom dijelu kore, a imaju antioksidativni učinak. Neki flavonoidi poput nobiletina smanjuju nakupljanje masti u jetri i sudjeluju u prevenciji srčanih bolesti. Mandarine također sadržavaju visok udio folata, željeza, kalija, magnezija, te vitamina topljivih u vodi poput vitamina B.

Izvor su vlakana i u prosjeku sadrže 1,8 g/100 g ploda. Konzumacijom vlakana regulira se tjelesna masa i stvara se osjećaj sitosti. Preporučuje se unos mandarine i osobama koje imaju problema s ulkusom i gastritisom, jer sastojci mandarine inhibiraju rast bakterije *H. Pylori* (Ferenčić i sur., 2016.).

2.2. VINO OD VOĆA

Prema *Pravilniku o voćnim vinima*, voćno vino je proizvod dobiven fermentacijom soka ili masulja od svježeg i za to pogodnog koštičavog, jezgričavog, bobičastog ili ostalog voća s minimalnim sadržajem prirodnog alkohola od 1,2%. Postoje i druge vrste voćnih vina u koje spadaju: desertno voćno vino, aromatizirano voćno vino, biser voćno vino, pjenušavo voćno vino i druge vrste određene pravilnikom.

Voćno vino predstavlja potpuno drugačiji proizvod od tipičnog vina koje se dobije fermentacijom grožđa. Voćno vino nudi novu paletu aroma i okusa od klasičnog vina. Vino od voća je specifične boje, arome i kiseline koja ovisi prije svega o voćki, a onda i o mikroklimatskim uvjetima kao i uvjetima uzgoja voća (Vine i sur., 1999.).

2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA

Fermentacija kao složeni biokemijski proces mijenja sastav soka, čime se neki sastojci mijenjaju samo djelomično, a neki prelaze u sasvim nove spojeve (Radovanović, 1986.).

Kemijski sastav nije uvijek isti, on može varirati iz godine u godinu ovisno o sorti, uzgoju, ekološkim uvjetima itd. Kvaliteta sastava sirovine za proizvodnju vina uglavnom ovisi o sadržaju šećera i kiseline (Blesić i sur., 2013.), no postoje i drugi parametri kakvoće koji mogu utjecati na proizvodnju vina poput kakvoće samog voća, ekološki faktori, vremenske prilike te tehnologija proizvodnje voća i vina (Pozderović, 2013.).

2.3.1. Ugljikohidrati

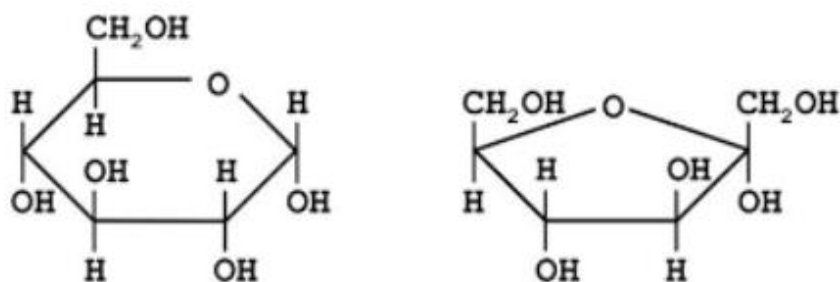
Udio ugljikohidrata u svim biljkama je rezultat fotosinteze. Proces fotosinteze kod vinove loze, a i ostalih biljaka, djelomično se odvija u listu, a djelomično u ostalim zelenim dijelovima biljke, odnosno dijelovima koji imaju u sebi klorofil. Utjecajem sunčeve svjetlosti i ugljikovog dioksida i vode koju biljka crpi iz zemlje nastaje organska molekula (ugljikohidrat) i oslobađa se kisik.



Monosaharidi koji su prisutni su pentoze koji su od manjeg značaja i heksoze koje imaju veći značaj jer su najviše zastupljene u obliku glukoze i fruktoze. Disaharidi su također prisutni u obliku saharoze koja od disaharida jedina ima značaj u tehnologiji vina. Od ostalih ugljikohidrata još su prisutni neki polisaharidi poput celuloze te smolaste i pektinske tvari (Radovanović, 1986.).

Na samom početku dozrijevanja grožđa viši je udio glukoze dok se s vremenom dozrijevanja omjer glukoze i fruktoze izjednači. Udio šećera glukoze i fruktoze ovisi o sorti, te vremenskim uvjetima. Taj udio može iznositi od 18% do 28% (Pozderović, 2013.).

Saharoza je također prisutna u grožđu, ali je njezin omjer mali u odnosu na glukozu i fruktozu (**Slika 2**). Saharoza je disaharid sastavljen od D-glukoze i D-fruktoze koji su u molekuli povezani glikozidnim vezama (Radovanović, 1986.).



Slika 2 Glukoza i fruktoza (Web 2)

2.3.2. Kiseline

Kiseline u vinu uglavnom potječu iz samog ploda, a manji dio njih nastaje alkoholnom fermentacijom i za vrijeme čuvanja vina. Prisustvo nehlapljivih kiselina je odlučujuće za kiselost vina, dok su hlapljive kiseline od manjeg značaja (Radovanović, 1986.).

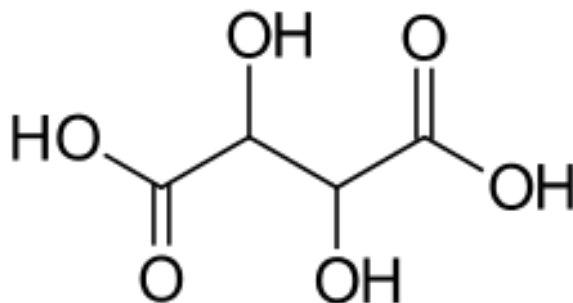
Kiseline koje se nalaze u vinu:

- vinska kiselina,
- jabučna kiselina,
- limunska kiselina,
- askorbinska kiselina,
- oksalna kiselina,
- glikolna kiselina,
- glukonska kiselina.

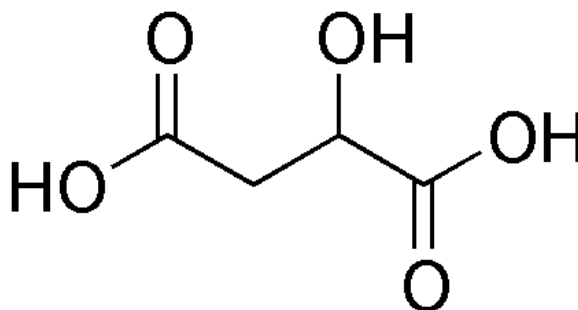
Najviše zastupljene kiseline u vinu su vinska (**Slika 3**) i jabučna (**Slika 4**) te u nešto manjoj mjeri limunska, dok u još manjoj količini nalazimo ostale. Vinska je najvažnija i najviše utječe na pH vrijednost vina. Jabučna je prisutna u početku dozrijevanja, a kasnije njen udio opada oksidacijom u procesu disanja (Pozderović, 2013.). Limunska kiselina je prisutna u manjoj mjeri i nju uglavnom proizvode različite plijesni iz šećera. Ona se kasnije u vinu razgradi djelovanjem bakterija mliječne fermentacije. Oksalna kiselina zaostaje u komini, dok se glikolna kiselina

nalazi samo u nezrelom grožđu. Glukonska kiselina se ne javlja u zdravom voću, ona je uglavnom uzrok plijesni koje mogu dospjeti na grožđe (Radovanović, 1986.).

Kiseline imaju veliki utjecaj na kvalitetu vina. Grožđe s dovoljno kiseline lakše je vinificirati, a i vino koje se dobije lakše je stabilizirati i čuvati. Kiseline utječu na svježinu okusa i zato je bitan njihov udio. Jabučna kiselina prilikom dozrijevanja vina podliježe malolaktičkoj fermentaciji koja stvara mliječnu kiselinu, a ona daje nježniji okus vinu (Blesić i sur., 2013.).



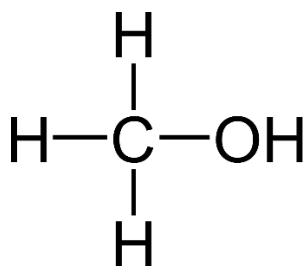
Slika 3 Vinska kiselina (Web 3)



Slika 4 Jabučna kiselina (Web 4)

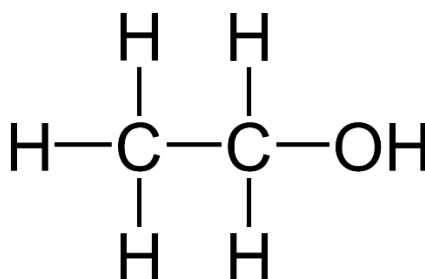
2.3.3. Alkohol

Vino je prije svega alkoholno piće koje sadrži etanol, no ipak ima i drugih alkohola poput metanola te viših alkohola. Metanol (Slika 5) prelazi u vino iz grožđa gdje se nalazi u sastavu pektinske tvari, te može biti i u sastavu eteričnih ulja nekih vrsta grožđa.



Slika 5 Metanol (Web 5)

Etanol (Slika 6) je glavni proizvod alkoholne fermentacije, ali također je i jedan od glavnih sastojaka vina. On je i jedan od parametara kod ispitivanja kvalitete vina. Njegov udio u vinu se kreće od 7% do 12%. Najveći udio koji može nastati putem alkoholne fermentacije je 18% pod određenim uvjetima (Radovanović, 1986.).



Slika 6 Etanol (Web 6)

Viši alkoholi sadrže više C atoma i produkt su fermentacije. Proizvode ih kvasci iz šećera i aminokiselina koje su prirodno prisutne u grožđu. Među više alkohole ubrajamo izobutanol, amilalkohol, izoamilalkohol. Viši alkoholi imaju značajan utjecaj na aromu te su oni odgovorni za sortni miris (Pozderović, 2013.).

2.3.4. Aldehidi i ketoni

Aldehidi i ketoni imaju utjecaj na senzorska svojstva vina poput arome i karakterističnog bouquetu vina, ali također mogu uzrokovati i nepoželjne mirise. Imaju veliku sposobnost oksidacije te se njih može ukloniti vezivanjem sumporne kiseline. Zbog prisutnosti aldehida i ketona vrši se sumporenje. Među najzastupljenijima u vinu je acetaldehid (Perić, 2018.). Acetaldehid nastaje kao međuprodukt alkoholne fermentacije. Najveći njegov dio redukcijom prelazi u etanol, ali kasnijom ponovnom oksidacijom dozrijevanjem vina može prijeći nazad u acetaldehid (Radovanović, 1986.).

2.3.5. Esteri

Esteri su spojevi koji nastaju međusobnom reakcijom između kiselina i alkohola.



Esteri u vinu mogu biti neutralni i kiseli, ovisno koja kiselina ulazi u reakciju. Neutralni ester vina su hlapljivi i nastaju biološkim putem za vrijeme ili poslije fermentacije, dok kiseli nisu hlapljivi i oni nastaju kemijskim putem za vrijeme čuvanja i starenja vina. Proces njihovog nastajanja je veoma spor, traje godinu do dvije dana i nikada ne završava. Njihova količina može ovisiti i o kvascima koji se koriste za fermentaciju. Neki ester u vino mogu dospjeti iz grožđa u kojem su u sastavu eteričnog ulja. Neki autori navode i estere kao sudionike u karakterističnom bouquetu vina (Radovanović, 1986.).

2.3.6. Tvari arome

Arome u vinu dolaze od estera, fenola i drugih aromatskih spojeva koje iz mošta mogu doći u vino. Možemo ih podijeliti na primarne, sekundarne i tercijarne arome. Iz grožđa potječu primarne cvjetne i voćne arome. Sekundarne arome se stvaraju tijekom fermentacije, a tercijarne nastaju odležavanjem vina u bocama (Pichler i sur. 2015.).

Monoterpeni su najbitniji predstavnici primarnih aroma, a s njima i skupine spojeva norizoprenoida i pirazina koje vinu daju specifičnu sortnu aromu (Pozderović, 2013.).

2.3.7. Enzimi

Grožđe, mošt i vino sadržavaju enzime koji provode vrlo složene reakcije. Prema podjeli u vinu, moštu i grožđu možemo pronaći oksidoreducirajuće i hidrolizirajuće.

Oksidoreducirajući enzimi su prisutni u grožđu i moštu i oni vrše prijenos vodika s jedne molekule na drugu. Jedni od predstavnika ovih enzima su tirozinaza koja sudjeluje u reakcijama posmeđivanja mošta uslijed prisustva kisika, i lakaza koju luči *Botrytis* na grožđu, a ona ima sposobnost oksidacije antocijana i tanina čime uzrokuje mrki prijelom vina. Sumporenjem mošta smanjuje se udio tirozinaze, dok sumpor ne djeluje na smanjenje udjela lakaze. Od oksidoreducirajućih enzima u vinu još su prisutni askorbinoksidaza koja katalizira

oksidaciju askorbinske kiseline, a koja onda prelazi u dehidroaskorbinsku kiselinu i vodu te peroksidaze i katalaze koji sudjeluju u oksidaciji organskih molekula, naročito fenolnih spojeva.

Hidrolizirajuće enzime dijelimo na saharazu, pektolitičke i proteolitičke enzime. Saharaza katalizira hidrolizu saharoze i kao produkt nastaje glukoza i fruktoza. U mošt dospijeva iz kvasaca koje dodajemo kao preparate za proces fermentacije. Pektolitičke enzime dijelimo na esteraze koje pektin razgrađuju u metil i poligalakturonsku kiselinu i depolimerizirajuće enzime koji djeluju na pektin i pektinsku kiselinu. Proteolitički enzimi su proteaze koje hidroliziraju protein do peptida i peptidaze koje s proteina uklanjaju po jednu aminokiselinu (Radovanović, 1986.).

2.3.8. Fenolni spojevi

Fenolni spojevi su prisutni u grožđu i ekstrakcijom prelaze u vino. Oni utječu na boju i okus vina, posebno crnih. Fenoli imaju antioksidativna, baktericidna i vitaminska svojstva. Možemo ih podijeliti na fenolne kiseline i njihove derivate, flavonoide, antocijane i tanine (Pozderović, 2013.).

Od fenolnih kiselina u vinu je utvrđeno sedam benzojevih i tri cimetne kiseline. Benzojeve kiselinu su p-hidroksibenzojeva, protokatehinska, vanilinska, galna, siringinska, silicinska i gentisinova kiselina. Njihovo nastajanje nije poznato, ali se smatra da nastaju degradacijom antocijana tijekom starenja vina. Cimetne kiseline su p-kumarna, kava kiselina i ferulna kiselina. One se nalaze u vinu spojene s antocijanima i vinskim kiselinama.

Flavonoidi su spojevi žute boje i u grožđu se nalaze kao hidroksi-3-flavoni ili flavonoli. Oni se javljaju kao glikozidi. U crnim vinima su prisutni kampferol, kvarcitin i miricitin, a u bijelima su prisutni isti osim miricitina. Njihov udio je bitan jer daje boju bijelim vinima (Radovanović, 1986.).

Antocijani su pigmenti crvene, narančaste i plavocrvene boje koji se nalaze u kožici grožđa. Oni su glikozidi antocijanidina. Od antocijanidina u vinu se nalaze malvidin, delfinidin, pentunidin, peonidin i cijanidin. Tijekom starenja vina stvara se plava boja koja nastaje reakcijom derivata antocijana i drugih tvari te se i time smanjuje njihov udio u vinu.

Tanini su polifenolni spojevi koji se u grožđu nalaze u kondenziranom obliku kao polimeri flavonoidnih fenola. Odgovorni su za trpkost i gorčinu vina čime direktno djeluju na senzorska

svojstva vina. Sastoje se od katehina i epikatehina. Osim što dolaze iz ploda mogu se ekstrahirati iz drveta bačvi (Pozderović, 2013.).

2.3.9. Mineralne tvari (pepeo)

Mineralne tvari biljka apsorbira iz tla i raspoređuje ih u različite dijelove biljke koje kasnije služe za životne funkcije. One su važan dio biokemijskih procesa koji se odvijaju u biljci. Dio mineralnih tvari prelazi u plod odakle dalje može završiti u moštu pa i u samom vinu. Mineralne tvari imaju i veliku biološku vrijednost u ljudskoj prehrani. Mineralne tvari u moštu služe kao hrana kvascima i samim time određuju smjer alkoholne fermentacije.

U sastavu grožđa i mošta ulaze minerali kalija, kalcija, magnezija, željeza, bakra, cinka te nadalje fosforne, sumporne, jodovodične kiseline i neki od mikroelemenata poput mangana, bora, molibdena, rubidija (Radovanović, 1986.).

2.3.10. Ekstrakt vina

Ekstrakt vina je skup svih nehlapljivih komponenti vina. Spojevi koji se nalaze u ekstraktu vina su ugljikohidrati, nehlapljive kiseline, tvari boje, viši alkoholi, mineralne tvari, polifenoli. U vinu razlikujemo ukupni suhi ekstrakt koji predstavlja sastojke vina koje ne hlape pod specifičnim fizikalnim uvjetima, nereducirani ekstrakt bez šećera koji je dobiven oduzimanjem šećera iz ukupnog suhog ekstrakta i reducirajući ekstrakt koji se dobije kad se od ukupnog suhog ekstrakta oduzme sadržaj ukupnih šećera umanjen za 1 g, ako je sadržaj šećera preko 1 g/L. Osim ovih ekstrakata još se izračunava i ekstrakt bez šećera i bez hlapljivih kiselina.

Ekstrakt je jedan od parametara kakvoće vina i on može ovisiti o vrsti vina, sorti grožđa, vanjskim uvjetima i samoj tehnologije prerade (Pozderović, 2013.).

2.3.11. Dušične tvari

Dušične tvari u moštu i vinu obuhvaćaju niz spojeva značajnih za brojne biokemijske i fizikalno-kemijske procese. Njihov udio ovisi o sorti, stupnju zrelosti i uvjetima uzgoja, a naročito gnojenja. Dušični spojevi služe kao ishrana kvascima, a koriste je i drugi predstavnici mikroorganizama. Zdravo grožđe ima veći udio dušičnih spojeva od trulog i pokvarenog.

Proteini su dušični spojevi prisutni u vinu u obliku glikoproteina kao koloidi pozitivnog naboja. Oni se talože u vinima posebno u prisustvu tanina. Polipeptidi su manje jedinice od proteina i za njih vrijedi taloženje u prisustvu tanina. I jedni i drugi predstavljaju koloidne čestice u vinu. Nadalje, amini, koji su zapravo aminokiseline i njihov sadržaj u vinu varira. Od dušičnih tvari u vinu još se mogu pronaći amidi, biološki amini, heksozamini i nukleinski dušik (Radovanović, 1986.).

2.3.12. Parametri kakvoće vina

Prema *Zakonu o vinu*, kakvoća se utvrđuje prema sljedećim elementima:

Kemijske analize: relativne gustoće, stvarnog alkohola, ukupnog suhog ekstrakta, ukupnog suhog ekstrakta bez šećera, ukupnog reducirajućeg šećera, ukupnih kiselina, hlapljivih kiselina, nehlapljivih kiselina, pepela, alkaliteta pepela, 2,3-butandiola, glicerola, saharoze, pH, ukupne sumporne kiseline, slobodne sumporne kiseline, ostalih sastojaka specifičnih za određenu kvalitetu vina.

Mikrobiološkog ispitivanja: vina i taloga.

Ispitivanja ponašanja vina: pri izlaganju zraku, pri izlaganju niskim i visokim temperaturama.

Organoleptičkog ispitivanja: boje, bistroće, mirisa i okusa.

2.4. PROIZVODNJA VOĆNIH VINA

2.4.1. Pranje i usitnjavanje voća

Sama proizvodnja započinje berbom koja mora biti kad je voće u potpunoj zrelosti. Svo voće prije prerade mora biti oprano uz lagano četkanje ukoliko je potrebno. Jagodičasto, bobičavo i koštičavo voće je najbolje samo oprati mlazom vode. Treba paziti i na peteljke koje treba ukloniti ukoliko su prisutne, jer iz peteljki i listova u sok dospijevaju tvari koje uzrokuju gorčinu i neugodan okus. Voće treba usitniti kako bi se procesom prešanja izdvojila što veća količina soka. Za usitnjavanje se koriste različiti mlinovi (**Slika 7**). Na tržištu se mogu pronaći brojni uređaji za mljevenje i usitnjavanje voća poput miksera za voće, vretenaste preše i drugih uređaja. Mlin koji je najčešće korišten u praksi je mlin koji radi na principu noževa i plašta. Noževi stoje horizontalno i pritišću voće na nazubljeni plašt. Novija tehnologija sve češće koristi takozvane centrifugalne freze sastavljene od koluta koji voće pritišće uz plašt. Plašt je spojen na elektromotor koji ga pokreće. Kod usitnjavanja voća se još koriste valjci, čiji se razmak lako mijenja, a mogu biti napravljeni od drveta, kamena ili metala (Kolb i sur., 2007.).



Slika 7 Valjci za usitnjavanje voća (Web 7)

2.4.2. Prešanje

Uređaji za prešanje (**Slika 8**) koji su predviđeni za manje količine imaju na sebi metalni valjak i laneno platno u koje se stavlja voće. To platno treba dobro ispirati radi moguće kontaminacije mikroorganizmima. Platno mora izdržati veliki pritisak zbog čega se koriste lanena platna. Na tržištu su prisutne i vertikalne preše s metalnim plaštem, a one mogu postići veće tlakove. Po

načinu stvaranja tlaka mogu biti ručne i hidrauličke. Svi materijali koji se koriste u prešama moraju biti od nehrđajućeg čelika. Pri samom prešanju treba paziti na pritisak koji treba biti lagan kako bi sok jednoliko istjecao (Kolb i sur., 2007.).



Slika 8 Preša za voće (Web 8)

2.4.3. Posuđe

Isprešani sok se prebacuje u razno posuđe pogodno za daljnje procese poput drvenih bačava, posuda premazanim indiferentnim premazom ili posude od poliestera pojačane staklom koje su se iskazale kao jako dobre za vrenje, čuvanje i kupažiranje. Izvan toga koju posudu koristimo ona bi trebala biti održavana, jer pri nepažljivom održavanju postoji mogućnost nastajanja raznih bakterija i gljiva. Nakon pražnjenja i temeljitog čišćenja može se spaliti i sumporna trakica ukoliko je riječ o drvenoj bačvi. Nadalje posudu (**Slika 9**) napunimo sokom, a prije samog vrenja treba je zatvoriti vrenjačom (**Slika 10**) koja nam pokazuje intenzitet vrenja i sprječava ulazak kisika u bačvu što bi pogodovalo razvitku nepoželjnih bakterija i pljesni (Kolb i sur., 2007.).



Slika 9 Fermentor (Web 9)



Slika 10 Vrenjača (Web 10)

2.4.4. Prerada

Dobiveni sok, kako je ranije već opisano, treba što prije prebaciti u posude. Svaki voćni sok u sebi sadrži čestice taloga koje je potrebno ukloniti prije vrenja. Sok se propusti kroz sito od najlona ili nehrđajućeg čelika i ostavi se da se istaloži uz dodatak sumpora. Još je moguć dodatak enzima za bistrenje ukoliko se želi ubrzati proces.

Većina voća sadrži dovoljnu količinu šećera, ali također sadrži i veću količinu kiselina. Iz tog razloga potrebno je dodati vodu ili otopinu šećera u vodi. Udio kiselina u soku prije same fermentacije ne smije biti manji od 5 g/L. Šećer se regulira po želji ovisi o tome koliku količinu alkohola želimo dobiti u konačnom proizvodu. Količina šećera se određuje refraktometrijski u stupnjevima Oechsle (°Oe). Šećer se u sok dodaje postepeno, razrijeđen s vodom. Ukoliko su ukupne kiseline manje od 5 g/L one se moraju nadoknaditi dodavanjem mliječne ili limunske kiseline (Kolb i sur., 2007.).

2.4.5. Vrenje

Prerađenom soku se još prije vrenja može, a i ne mora, dodati sumporna kiselina. Poslije svega se stavlja u posude za vrenje, napunjene 2/3 sokom i zatvara vrenjačom. Prije samog zatvaranja u sok se ubacuju selekcionirani kvasci. Stanice selekcioniranog kvasca se nalaze u stanju mirovanja i ako ga samo usipamo u posudu sa sokom kvasci koju su prirodno prisutni u soku će ih ugušiti. Zato ih prije dodavanja treba razmnožiti u 1-2 litre soka. Sok u koji se dodaju kvasci prethodno treba prokuhati i ohladiti da bi se inaktivirali ostali mikroorganizmi u njemu. Temperatura samog vrenja bi trebala biti na 18 do 20°C. Vrenjem se stvara toplina koju je potrebno kontrolirati. Pri vrenju koje se odvija na nižim temperaturama voćne arome ostaju očuvanije.

2.4.6. Završne faze

Četiri do šest tjedana nakon završetka vrenja potrebno je vino skinuti s taloga. Ukoliko bi vino ostalo duže od pola godine na starim kvascima njihovim raspadanjem bi nastale nepoželjne arome. Dodatno nakon pretoka može se dodati sumpor. Šest do osam tjedana nakon prvog pretoka radi se drugi pretok nakon kojega se vino puni u boce. Vino se nakon drugog pretoka

može dodatno filtrirati da se izbistri ukoliko je to potrebno, no postoji pravilo da je vino utoliko bolje što se manje tretira (Kolb i sur., 2007.).

2.5. ODREĐIVANJE AROMATIČNIH SPOJEVA

2.5.1. Plinska kromatografija

Kromatografija je metoda odvajanja i analiziranja tvari, a temelji se na različitoj adsorpciji sastojaka smjese na određenom adsorbensu. Uređaj radi na principu dvije faze od koje je jedna pokretna (tekućina ili plin), a druga nepokretna. Nepokretna faza mora biti izabrana tako da je zadržavanje molekula na njoj selektivno tj. da različiti sastojci putuju različitom brzinom i tako se odvajaju.

U plinskoj kromatografiji mobilna faza je plin i ovakvu kromatografiju moguće je jedino provesti u zatvorenom sustavu (koloni) tako da se vrši eluiranje (ispiranje). Eluiranjem se sastojci smjese potpuno odvoje, a pri izlasku iz kolone pomiješani su samo s plinom. Takvi odvojeni sastojci nam olakšavaju kvalitativno i kvantitativno određivanje istih.

Za provedbu plinske kromatografije potrebno je stalno strujanje plina nosioca, kromatografska kolona u prostoru sa stalnom temperaturom, injektor, detektor i uređaj za obradu podataka.

Određena količina smjese uvodi se strujom plina u uređaj (injektorom). U koloni se sastojci razdjeljuju između pokretne i nepokretne faze. Samo eluiranje može se pospješiti povećanjem temperature kolone. Detektor utvrđuje eluirani sastojak kao funkciju vremena izraženu u obliku kromatograma. Kromatogram je linija koja sadrži krivulje nastale kao odaziv detektora na određene sastojke koji izlaze iz kolone. Krivulje se nazivaju pikovi (eng. *peak* = vrh).

T_r predstavlja vrijeme zadržavanja i on je karakterističan za pojedini sastojak smjese, a visina pika T_m je proporcionalna količini sastojka u smjesi. Krivulja je u principu Gaussova krivulja raspodjele (Tehnička enciklopedija, 1979.).

2.5.2. Spektrometrija masa

Maseni spektrometar daje spektar masa koji proizlazi iz strukture molekule. U grafičkom prikazu na x-osi su mase iona analiziranog spoja, a na y-osi je prikazana količina određenog

iona. Princip rada masenog spektrometra je taj da se molekula bombardira strujom elektrona visoke energije i time se iz molekule izbije elektron, a molekula postaje ionizirana. Nakon izbijanja elektrona ostaje tzv. molekulski ion, ion s nesparenim elektronom. Suvišak energije koju primi molekulski ion uzrokuje cijepanje koja je karakteristična za analiziranu molekulu. Fragmenti se nakon cijepanja raspodijele prema omjeru mase i naboja te se detektiraju. Kod analiza je bitno poznavati i Dušikovo pravilo, prema kojemu spojevi s neparnim brojem N atoma moraju imati neparnu molekulsku masu, a spojevi s parnim brojem N atoma moraju imati parnu molekulsku masu ili spoj ne sadrži dušik. Ovim pravilom mogu se detektirati nepoznate molekule (Škorić, 2016.).

2.5.3. Mikroekstrakcija u čvrstoj fazi

SPME (eng. *solid phase microextraction*) ili mikroekstrakcija na čvrstoj fazi je postupak čiji osnovni dio sustava predstavlja SPME šprica na kojoj je smješteno 1 cm dugo vlakno napravljeno od posebnog polimera. Princip se temelji na tome da se šprica s vlaknom spušta u posudu koja sadrži uzorak, ne smije se dodirivati s uzorkom, a nakon nekog vremena vlakno na sebe apsorbira analit. Vlakno se izvlači iz bočice i prebacuje u uređaj gdje se analit pomoću injektora ubacuje u kolonu kromatografa.

S obzirom na jednostavnost i efikasnost ova tehnika se sve više koristi u usporedbi s ostalim metodama. SPME metoda zahtjeva kratko vrijeme analize i male količine uzorka za rad (Đurović, 2011.).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak rada je ispitati utjecaj skladištenja na osnovni kemijski sastav, tvari boje i arome u vinu dobivenog fermentacijom soka mandarine sa i bez korekcije ukupnih kiselina. U tu svrhu provedena je fermentacija soka od mandarine (1.) te fermentacija soka od mandarine s korekcijom ukupnih kiselina sa 21,8 g/L na 12 g/L (2.) te je određen kemijski sastav, sadržaj tvari boje i arome u uzorcima vina nakon fermentacije. Nakon toga uzorci su skladišteni na temperaturi od 12°C kroz dva mjeseca. Nakon provedenog skladištenja u uzorcima će se odrediti kemijski sastav, sadržaj tvari boje i arome te će se isti usporediti s početnim, neskladištenim uzorcima vina. Polifenoli, antocijani i antioksidacijska aktivnost odredit će se upotrebom spektrofotometra, a 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. Određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka provest će se primjenom instrumentalne plinske kromatografije i mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME). U radu će biti korišten plinski kromatograf tvrtke Agilent 7890 B s maseno-selektivnim detektorom Agilent 5977 A.

3.2. MATERIJAL I METODE

3.2.1. Skladištenje uzoraka

Neskladištenim uzorcima vina od mandarine određen je kemijski sastav, sadržaj tvari boje i arome. Nakon toga su uzorci skladišteni na temperaturama od 4 °C i 15 °C kroz dva mjeseca. Nakon skladištenja uzorcima je ponovno određen kemijski sastav, sadržaj tvari boje i arome, te su rezultati uspoređeni s rezultatima neskladištenih uzoraka.

3.2.2. Kemijska analiza vina

Određivanje slobodnog i ukupnog SO₂

Sumpor dioksid u vinu se određuje kao slobodni i ukupni SO₂ pa se na temelju njihove razlike dobiva podatak o količini vezanog. Postupak se temelji na titraciji s jodom pri čemu dolazi do oksidacije SO₂, a količina SO₂ se izračuna na osnovu utroška joda koje se reducira.

Određivanje slobodnog SO₂

U Erlenmeyer-ovu tikvicu s brušenim grlom se stavi 50 mL vina, zatim se dodaje 10 mL H₂SO₄ (1:4) i 3 mL otopine škroba (w = 0,01) kao indikator. Vršiti se titracija otopinom joda (c(I₂) = 0,02) do pojave plave boje koja mora biti postojana minimalno 30 sekundi. Količina utrošenog joda se množi s faktorom 12,8 i rezultat je količina slobodnog SO₂ izražena u mg/dm³ vina.

Određivanje ukupnog SO₂

U Erlenmeyer-ovu tikvicu s brušenim grlom se stavi 50 mL vina, zatim se dodaje 25 mL otopine NaOH (c = 1 mol/L) i ostavlja da stoji 10 do 15 min. NaOH oslobađa vezani SO₂ stvarajući alkalnu sredinu. Nakon istjecanja zadanog vremena dodaje se 15 mL otopine H₂SO₄ (1:4) i 3 mL otopine škroba (w = 0,01). Vršiti se titracija otopinom joda (c(I₂) = 0,02) do pojave plave boje koja mora biti postojana minimalno 30 sekundi. Količina utrošenog joda se množi s faktorom 12,8 i rezultat je količina ukupnog SO₂ izražena u mg/dm³ vina.

Određivanje prirodnih šećera u vinu

U odmjernu tikvicu od 200 mL odvaže se 25 g vina. U odvagani uzorak stavlja se 1 do 2 g CaCO₃ s ciljem postizanja slabo kisele reakcije, zatim se dodaje 5 mL reagensa I i 5 mL reagensa II, promiješa i nadopuni destiliranom vodom do oznake. Još jednom se sadržaj homogenizira. Kad se odvoje faze u tikvici sadržaj se profiltrira preko nabranog filter papira u tikvicu. Filtrat koji je dobiven se naziva F1.

U tikvicu od 300 mL pipetom se stavlja 25 mL Luffove otopine i doda se otopina šećera (F1) koja treba sadržavati manje od 100 mg šećera. Nadalje pipetom dodajemo destiliranu vodu da ukupni volumen u tikvici bude 50 mL. Sadržaj se stavlja na kuhanje preko azbestne mrežice s dodatkom staklenih kuglica. Na tikvicu se stavlja povratno hladilo i kuha 10 min od početka ključanja. Nakon kuhanja sadržaj se hladi na sobnu temperaturu pod mlazom vode. U tikvicu se dodaje redom otopina kalijevog jodida, 20 mL 25% sumporne kiseline i 10 mL kalijevog tiocijanata. Tikvica se miješa do prestanka šumova. Sadržaj tikvice se titrira s natrijevim tiosulfatom, uz dodatak otopine škroba kao indikatora, do nestanka plave boje.

$$\% \text{reducirajućih šećera} = \frac{a * 100}{\text{mg uzorka}}$$

a – mg šećera izračunatih iz tablice po Schoorl-Luff-u

Određivanje ukupnih šećera

U odmjernu tikvicu od 100 mL pipetom se stavlja 50 mL filtrata F1 i 5 mL HCl-a. Sadržaj se zagrijava u vodenoj kupelji na 70 °C 10 min, a nakon zagrijavanja se brzo hladi uz stalno miješanje. Dodaje se indikator metiloranž i neutralizira se sadržaj s 20% NaOH. Ponovno se vrši hlađenje do sobne temperature i dopuni se tikvica s destiliranom vodom do oznake. Dobiveni sadržaj u tikvici zove se F2.

Daljnji postupak određivanja ukupnih šećera je jednak kao i kod određivanja prirodnih šećera.

Određivanje ukupnog ekstrakta i alkohola

Provodi se destilacija vina na uzorku od 50 mL. Suhi ekstrakt ili ostatak je sve ono što zaostane tijekom destilacije i ne prijeđe u destilat zagrijavanjem na 100°C. Suhi ekstrakt se nakon provedene destilacije stavlja u piknometar i važe te se može izračunati relativna gustoća ekstrakta.

$$\gamma(\text{ekstrakta}) = \frac{Q_1 - Q}{Q_2 - Q} * K$$

γ – relativna gustoća ekstrakta

Q – masa praznog piknometra

Q₁ – masa piknometra s ekstraktom

Q₂ – masa piknometra s destiliranom vodom

K – faktor korekcije (0,99823)

Iz Tablice za proračunavanje se očitava količina ekstrakta koja odgovara dobivenoj relativnoj gustoći i izražava se u g/L. Nadalje se ekstrakt bez šećera izračunava pomoću formule.

Ekstrakt bez šećera (g/L) = ekstrakt (g/L) – količina šećera (g/L)

Iz dobivenog destilata kod ove metode određujemo količinu alkohola prema istoj formuli, ali je razlika što se preko dobivene relativne gustoće alkohola iz Tablice za proračunavanje očitaju g alkohola u litri koji nam ukazuju volumni udio alkohola.

Određivanje ukupnih kiselina u vinu

Ukupne kiseline u vinu izražavaju se u vinskoj kiselini. Koristi se metoda neutralizacije titracijom uz indikator. Ukupne kiseline u vinu se uglavnom kreću između 4 i 7 g/dm³.

U čašu od 100 mL se stavi 25 mL vina. Vino se zagrije do vrenja radi uklanjanja CO₂ i nakon hlađenja uz dodatak fenolftaleina se titrira sa 0,25 N NaOH do promjene boje. Količina ukupnih kiselina se dobije tako da se utrošeni NaOH pomnoži s faktorom 0,75 ili očitavanjem iz tablice.

Određivanje količine pepela u vinu

Talog koji zaostaje nakon isparavanja i žarenja vina predstavlja količinu pepela u vinu. Žarenjem na 500 do 550 °C svi se kationi pretvaraju u karbonate i druge anorganske soli.

U porculansku zdjelicu za žarenje poznate mase pipetom se stavlja 25 mL vina. Prije pipetiranja potrebno je homogenizirati vino u boci. Prvo vino isparava na vodenoj kupelji temperature 100°C dok se ne dobije gusta otopina. Nadalje se zdjelica stavlja u sušionik 1 sat da ispari zaostala voda, a potom se stavlja u mufolnu peć na spaljivanje. Početna temperatura spaljivanja je 200°C, a svaki sljedeći sat se povećava za 100°C sve dok se ne postigne temperatura od 500°C na kojoj se još spaljuje 1 sat. Na kraju se dobije pepeo koji mora biti bijele boje čime se zna da je spaljivanje završeno. Pepeo s posudom se stavlja u eksikator na 1 sat i važe.

$$m_{\text{ pepela }} \left(\frac{g}{25 \text{ cm}^3 \text{ vina}} \right) = m_2 - m_1$$

$$m_{\text{ pepela }} \left(\frac{g}{l} \right) = m_{\text{ pepela }} \left(\frac{g}{25 \text{ cm}^3 \text{ vina}} \right) * 40$$

m_1 – masa prazne porculanske zdjele (g)

m_2 – masa porculanske zdjele s pepelom (g)

Određivanje sadržaja polifenola

Koncentracija ukupnih polifenola određuje se Folin-Ciocalteu metodom. Ova metoda se temelji na reakciji promjene boje uslijed reakcije fenola s Folin-Ciocalteu reagensom. Nastalo obojenje mjeri se na valnoj duljini 765 nm. Folin-Ciocalteu reagens je smjesa fosfowolframove i fosfomolibden kiseline koje se reduciraju pri oksidaciji fenolnih spojeva i tvore wolframov i molibdenov oksid koji su plave boje. Folin-Ciocalteu reagens se priprema tako da se u odmjernu tikvicu od 100 mL otpipetira 3,3 mL Folin-Ciocalteu reagensa i do oznake nadopuni destiliranom vodom. U epruvetu se stavlja 0,2 mL uzorka soka određenog razrjeđenja, 1,8 mL destilirane vode, 10 mL Folin-Ciocalteu reagensa te nakon stajanja do 8 min se dodaje 8 mL

7,5 % Na₂CO₃. U slijepu provu se dodaje 2 mL destilirane vode, 10 mL Folin-Ciocalteu reagensa i 8 mL 7,5 % Na₂CO₃. Sadržaj treba ostaviti u mračnom prostoru 2 do 20 sati da bi se razvila boja. Nakon razvijanja boje mjeri se absorbanca sa spektrofotometrom na valnoj duljini od 765 nm. Sadržaj polifenolnih spojeva interpolira se pomoću kalibracijske krivulje galne kiseline i izražava se u g galne kiseline/L uzorka.

Određivanje ukupnih flavonoida

Metoda za određivanje ukupnih flavonoida je Kim, Jeong i Lee s modifikacijom. Kalibracija se radi s različitim koncentracijama kvarcetina, a linearnost je 0,9953. U epruvete se stavlja 1 mL otopine vina promiješanog s 0,3 ml 5 % NaNO₂, a nakon 5 minuta dodaje se 0,3 mL 10 % AlCl₃. Nadalje se nakon 6 minuta sadržaj neutralizira s 2 mL 1M otopine NaOH. Pri čemu sadržaj mijenja boju, a zatim se mjeri absorbanca na 510 nm. Izvodi se kvantifikacija koristeći kalibracijsku krivulju. Rezultat je izražen u mg ekvivalenta kvarcetina (QE)/100 g vina, a izražava se kao srednja vrijednost tri ponavljanja.

Određivanje antioksidacijske stabilnosti

Postoji više metoda određivanja antioksidacijske stabilnosti koje se temelje na djelovanju antioksidanasa na sintetske radikale, a najčešće korišteni radikali su 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) i 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-sulfonska kiselina) (ABTS). Primjenom 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) reagensa prati se smanjivanje absorbancije na 517 nm. Smanjenje dolazi zbog smanjenja količine antioksidansa koji reagira s radikalima.

Za određivanje antioksidacijske stabilnosti vina od mandarine korištena je metoda po Shimadu i sur. (1992.) uz određene modifikacije. U Epruvetu je stavljeno 0,2 mL uzorka, 2 mL metanola i 1 mL otopine DPPH. Sadržaj je ostavljen 15 minuta i nakon toga je mjerena absorbancija na 517 nm. U slijepu probu dodan je metanol umjesto uzorka.

$$\alpha\alpha (\%) = \left(1 - \frac{A_1}{A_0}\right) * 100$$

A₀ – absorbancija slijepa probe

A₁ – absorbancija uzorka

3.2.3. Analiza arome vina plinskom kromatografijom primjenom SPME analize

Metoda koje je korištena je mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (SPME). Unutar aparata je igla unutar koje se na polimernu stacionarnu fazu apsorbiraju aromatični sastojci. Punilo koje je korišteno je polidimetilsiloksan-divinilbenzen debljine 65 μm . U bočicu od 10 mL odvagano je 5 g vina. Za poboljšanje adsorpcije dodaje se 1 g NaCl. U bočicu se stavlja magnet te se hermetički zatvara s teflonskim čepom. Bočicu se stavlja u vodenu kupelj i uz miješanje se aromatične tvari adsorbiraju unutar igle koja se ubode u teflonski čep. Igla ne smije dodirivati uzorak. Prije ispuštanja igle u nadprostor uzorak se miješa i zagrijava 5 minuta radi boljeg zasićenja nadprostora i time bolje adsorpcije aromatičnih sastojaka. Postupak se provodi na temperaturi od 40°C u trajanju od 45 minuta. Nakon završetka adsorpcije igla se stavlja u injektor plinskog kromatografa nakon čega se događa toplinska desorpcija.

Prilikom izrade ovog rada korišten je plinski kromatograf tvrtke Agilent 7890 B s maseno-selektivnim detektorom Agilent 5977 A.

Uvjeti rada plinskog kromatografa:

Parametri ekstrakcije:

- Temperatura ekstrakcije: 40°C
- Vrijeme ekstrakcije: 45 minuta
- Tip mikroekstrakcijske igle: 65 μm PDMS/DVB (Supelco).

GC-MS analitički uvjeti:

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

- Početna temperatura: 40°C (2 minute)
- Temperaturni gradijent: 3°C/min do 120 °C, zatim 10 °C/min do 250 °C

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

- Konačna temperatura: 250°C
- Temperatura injektora: 250°C
- Temperatura detektora 280°C
- Desorpcija uzorka u injektoru: 7 min

U izradi kromatografske analize korišten je splitless mod.

Praćenje sastojaka arome

Komponente vina identificirane su na osnovu njihovih spektara masa i na osnovi njihovih vremena zadržavanja, odnosno retencijskih indeksa. Svaka točka na kromatogramu osim vremena zadržavanja i intenziteta sadrži i spektar masa. Dobiveni spektri masa na vrhovima kromatografskih pikova uspoređeni su s bazom podataka NIST 2.0 i s bazom koja je kreirana na instrumentu tijekom prijašnjih analiza vina. Obzirom da su spektri masa komponenata vina jako slični i ovisе o instrumentu i uvjetima snimanja, dodatni kriterij za identifikaciju su retencijski indeksi komponenata koji se izračunavaju usporedbom vremena zadržavanja komponenata s vremenom zadržavanja ravnolančanih ugljikovodika. Iz tog razloga je analizirana smjesa ravnolančanih ugljikovodika C7-C20 priređena u laboratoriju prema istim uvjetima analize. Određena su vremena zadržavanja pojedinih ravnolančanih ugljikovodika te su izračunati retencijski indeksi komponenata vina prema jednadžbi:

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

gdje je:

- I retencijski indeks zadržavanja,
- n broj ugljikovih atoma u manjem n-alkanu,
- N broj ugljikovih atoma u većem n-alkanu,
- t'_r prilagođeno vrijeme zadržavanja.

Dobiveni retencijski indeksi uspoređeni su s literaturom i dodatno potvrdili identifikaciju komponenata.

4. REZULTATI

Tablični prikaz rezultata

Tablica 2 *Kemijski sastav soka od mandarine*

	Sok
Suha tvar (%)	14,20
Kiseline (g/L)	21,80
Polifenoli (mg/L)	550,02
Flavonoidi (mg/L)	36,54
Antioksidacijska aktivnost (mg/100g)	23,13

Tablica 3 *Kemijski sastav vina od mandarine sa i bez korekcije ukupnih kiselina nakon završene fermentacije*

	1.*	2.*
Suha tvar (%)	10,10	8,30
Kiseline (g/L)	15,48	8,33
Slobodni SO ₂ (mg/L)	76,80	55,04
Ukupni SO ₂ (mg/L)	99,84	67,84
Alkohol (vol.%)	15,97	13,22
Ukupni ekstrakt (g/L)	34,10	26,60
Reducirajući šećeri (g/L)	4,57	1,83
Ukupni šećeri (g/L)	10,51	8,69
Pepeo (g/L)	4,31	3,69

*1. vino bez korekcije ukupnih kiselina

*2. vino sa korekcijom ukupnih kiselina

Tablica 4 *Kemijski sastav vina od mandarine sa i bez korekcije ukupnih kiselina nakon odležavanja*

	1.	2.
Suha tvar (%)	11,40	9,80
Kiseline (g/L)	12,95	8,01
Slobodni SO ₂ (mg/L)	51,20	30,70
Ukupni SO ₂ (mg/L)	67,80	40,96
Alkohol (vol.%)	18,30	15,61
Ukupni ekstrakt (g/L)	48,20	41,40
Reducirajući šećeri (g/L)	2,13	1,83
Ukupni šećeri (g/L)	11,73	10,06
Pepeo (g/L)	4,31	3,69
Polifenoli (mg/L)	409,45	268,52
Flavonoidi (mg/L)	28,58	20,81
Antioksidacijska aktivnost (mg/100g)	6,07	1,74

Tablica 5 *Kemijski sastav vina od mandarine nakon skladištenja na temperaturama 4°C i 15°C kroz 2 mjeseca*

	1. (4°C)	1. (15°C)	2. (4°C)	2. (15°C)
Suha tvar (%)	11,60	11,60	10,00	10,00
Kiseline (g/L)	10,80	10,84	8,06	8,06
Slobodni SO ₂ (mg/L)	50,56	49,92	24,32	23,04
Ukupni SO ₂ (mg/L)	69,76	69,76	47,36	48,64
Alkohol (vol.%)	18,50	18,78	16,06	16,17
Ukupni ekstrakt (g/L)	48,70	49,00	41,9	42,20
Reducirajući šećeri (g/L)	5,12	5,44	8,00	8,8
Ukupni šećeri (g/L)	8,96	8,32	5,87	5,33
Pepeo (g/L)	4,68	4,42	3,92	3,78
Polifenoli (mg/L)	445,56	442,96	318,39	304,63
Flavonoidi (mg/L)	27,08	27,26	19,91	19,24
Antioksidacijska aktivnost (mg/100g)	7,41	7,06	3,73	3,82

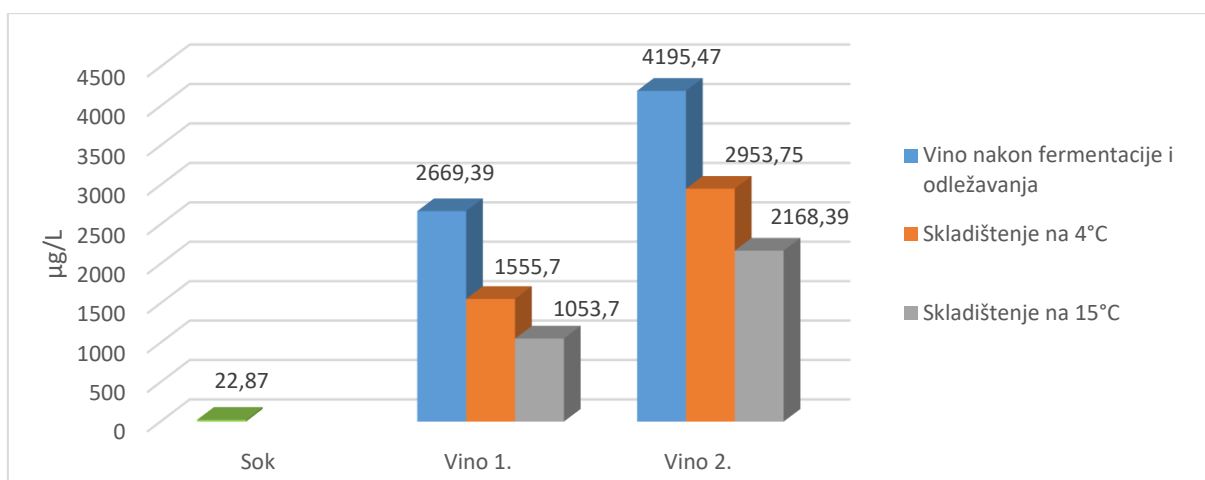
Tablica 6 *Retencijski indeks i sadržaj aromatičnih spojeva (µg/L) identificiranih u soku i ispitivanim uzorcima vina od mandarine nakon završene fermentacije te nakon dva mjeseca skladištenja na 4 °C i 15 °C*

Spoj	RI	Sok	1.	1. (4°C)	1. (15°C)	2.	2. (4°C)	2. (15°C)
Kiseline		22,87	2669,39	1555,70	1053,70	4195,47	2953,75	2168,39
Octena kiselina	622		261,27	204,08	524,32	324,31	463,34	627,14
Oktanska kiselina	1183		98,36	115,78	175,77	125,26	116,05	91,49
Nonanska kiselina	1277	22,03						
Dekanska kiselina	1376	0,84	1585,73	942,57	279,65	2289,05	1491,48	49,05
Laurinska kiselina	1558		554,79	190,15	32,67	1217,47	716,81	1136,58
Miristinska kiselina	1749		144,79	73,17	14,35	155,67	111,30	177,43
Palmitinska kiselina	2004		24,47	29,95	26,93	83,70	54,78	86,72
Alkoholi		16,64	20956,76	24434,58	9670,28	8012,73	6567,58	5505,56
Izoamil alkohol	734		17797,53	21136,29	6586,20	4830,23	2672,45	2297,95
2,3-butandiol	804		1669,37	1577,96	1469,15	1810,91	1883,45	1108,24
Metionol	979		35,94	32,15	4,26	32,35	27,98	16,42
Etil heksanol	1029	10,57						
Oktanol	1071	6,07						
Fenetil alkohol	1103		1453,92	1688,17	1610,67	1339,24	1983,70	2082,96
Aldehidi i ketoni		119,65	324,06	244,02	163,35	91,73	122,65	110,59
Heksanal	800	35,70						
2-heksenal	851	3,63						
Heptanal	897	2,05						
2-nonenal	1155	12,23						
Dekanal	1200	13,69						
α-metil cinamal	1200	8,38						
2,4-nonadienal	1205	25,28						
2-decenal	1255	3,34						
4-propilbenzaldehyd	1261	8,51						
2,4-dekadienal	1307	4,31						
Geranil aceton	1448	1,70	45,55	24,64	25,34	16,53	12,68	28,84
Miristaldehid	1601		109,82	197,82	113,44	22,09	30,78	15,57
Heksilcinamal	1738	0,83	62,59			11,53		
Palmitaldehid	1804		106,09	21,56	24,57	41,58	79,19	66,18
Esteri		41,71	55403,89	39547,33	44296,21	44084,93	38089,99	43341,05
Izoamil acetat	874		2287,31	3111,27	1377,54	97,15	905,48	572,82
Etil heksanoat	997		663,36	916,68	1580,06	539,57	611,23	480,90
Etil 4-hidroksi butanoat	1058		27,10	35,58	16,27			

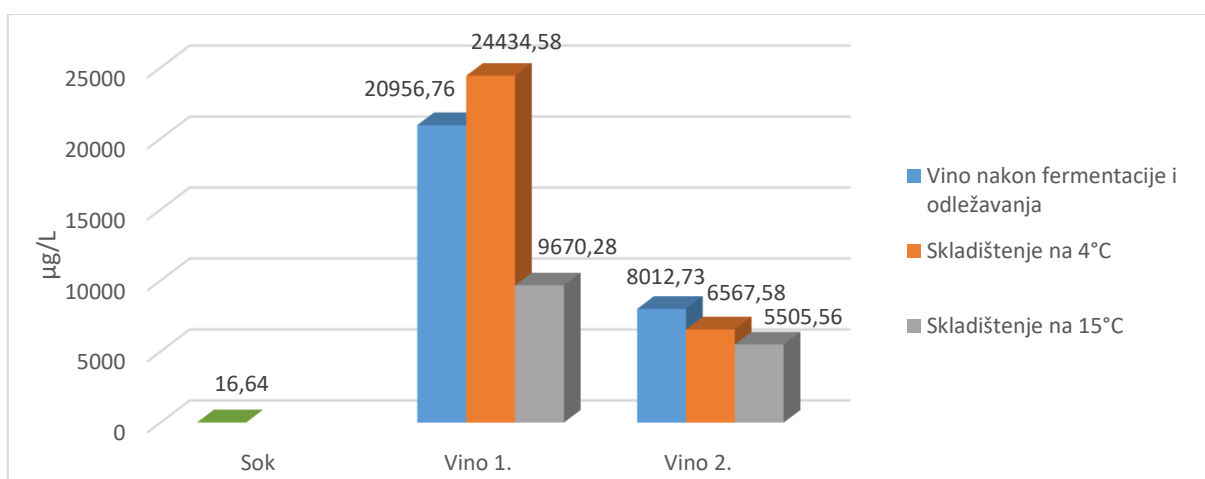
Spoj	RI	Sok	1.	1. (4°C)	1. (15°C)	2.	2. (4°C)	2. (15°C)
Dietil sukcinat	1179		458,62	524,94	927,25	499,82	642,91	892,05
Etil oktanoat	1191		3287,49	4552,40	8411,53	2995,37	2784,21	3287,44
Feniletil acetat	1248		388,49	327,67	16,54	274,75	255,09	18,14
Etil dekanooat	1391	3,81	12091,35	13081,80	14914,85	11420,47	15248,56	15505,10
Etil laurat	1585	4,83	16584,18	10363,15	8363,26	13561,39	8539,38	8248,88
Izoamil dekanooat	1632		1010,43	339,17	64,69	414,76	266,83	773,44
Metil dihidrojasmonat	1644	0,93	195,53	23,60	31,81	161,10		
Vinil miristat	1771		396,63	147,36	128,24	165,86	87,84	273,41
Etil miristat	1778		5664,83	2142,41	2494,87	4342,28	2597,14	3837,90
Izopropil miristat	1810	1,93	319,18	18,28	22,49	63,19	25,73	147,51
Izoamil laurat	1831		453,68	161,18	154,45	433,62	309,86	535,46
Diizobutil ftalat	1859	24,03	110,17	54,59	23,72	77,53	76,07	129,10
Etil pentadekanoat	1880		129,84	15,54	39,26	61,90	41,22	97,83
Metil palmitat	1907	0,91	325,23	96,79	22,15	114,14	89,32	56,07
Dibutil ftalat	1953	3,56	490,24	22,98	21,90	55,80	34,00	34,83
Vinil palmitat	1969		522,23	176,76	219,31	343,37	287,02	566,59
Etil palmitat	1978		7389,25	1973,39	3914,04	6407,00	3929,28	5171,04
Etil heptadekanoat	2049		51,23	12,06	21,90	47,57	22,18	46,87
Metil linoleat	2084		84,67	24,27	29,31	44,24	12,52	47,77
Metil oleat	2088		104,33	38,19	18,01	39,65	37,36	15,96
Metil stearat	2108	1,70	39,85	13,89	14,72	25,60	13,81	34,68
Etil linoleat	2146		737,19	489,19	415,92	569,19	372,42	921,14
Etil oleat	2152		944,82	602,25	603,47	651,34	447,65	993,99
Etil stearat	2176		646,68	281,95	448,65	678,27	452,87	652,13
Terpeni		816,32	147,66	92,98	63,62	154,51	118,08	148,88
β-mircen	988	4,52						
p-cimen	1015	72,03						
Limonen	1018	141,21						
Terpinen	1051	15,17						
Pinol	1066	8,35						
Linalool	1096	71,03						
Trans-pinokarveol	1127	20,73						
Pulegon	1165	16,78						
Terpineol	1169	5,32						
Izopiperitenol	1193	24,08						
Karveol	1213	14,94	62,29	72,94	45,56	85,24	99,05	91,84
Karvon	1235	304,70						
Perrila alkohol	1286	1,87						
Karvakrol	1296	9,93						
α-kopaen	1369	6,00						
β-damascenon	1377	0,53						
β-elemen	1385	30,10						
β-kariofilen	1406	2,35						
α-jonon	1417	4,56						
β-patkoulen	1443	2,03						
α-humulen	1445	1,09						
α-murolen	1469	11,39						
Germakren D	1473	6,52						
β-jonon	1477	2,92						
Valencen	1484	17,63						
Farnesen	1487	16,59	85,37	20,04	18,06	69,27	19,03	57,04
δ-kadinen	1514	2,78						
Fenantren	1772	1,17						

*1. vino bez korekcije ukupnih kiselina

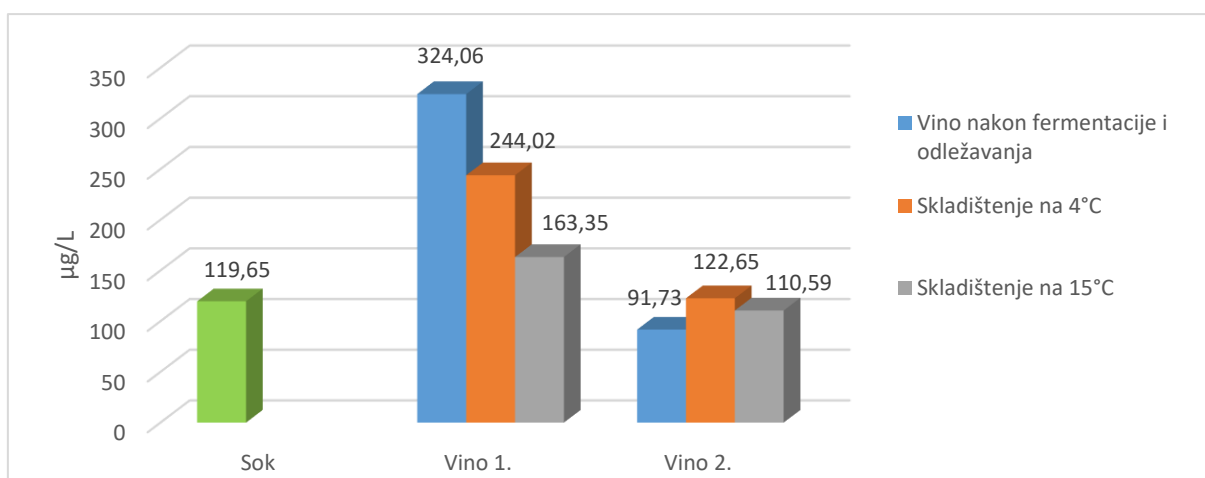
*2. vino sa korekcijom ukupnih kiselina



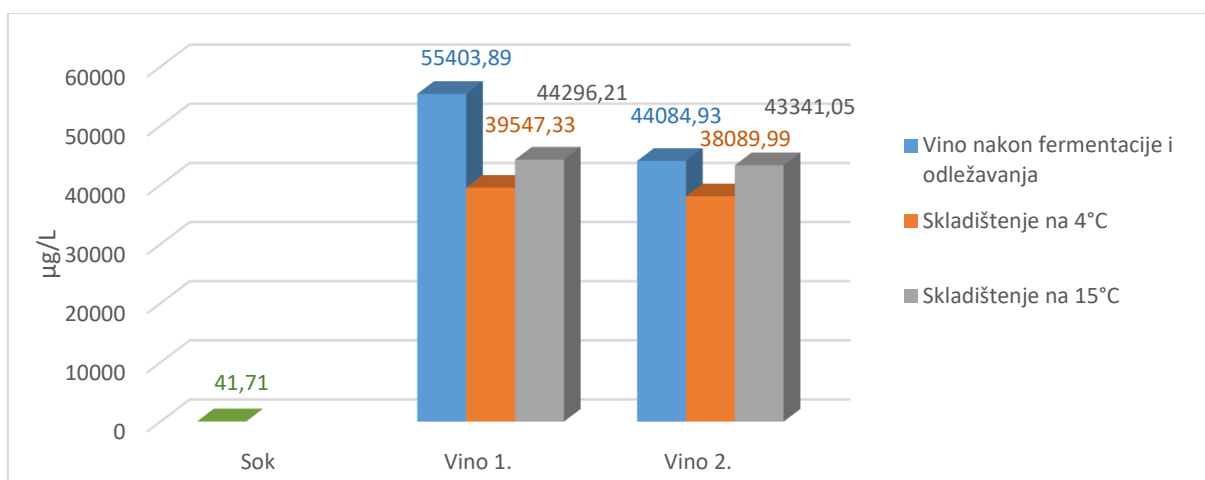
Slika 11 Sadržaj masnih kiselina u vinima od mandarine prije i nakon skladištenja na 4°C i 15°C kroz dva mjeseca



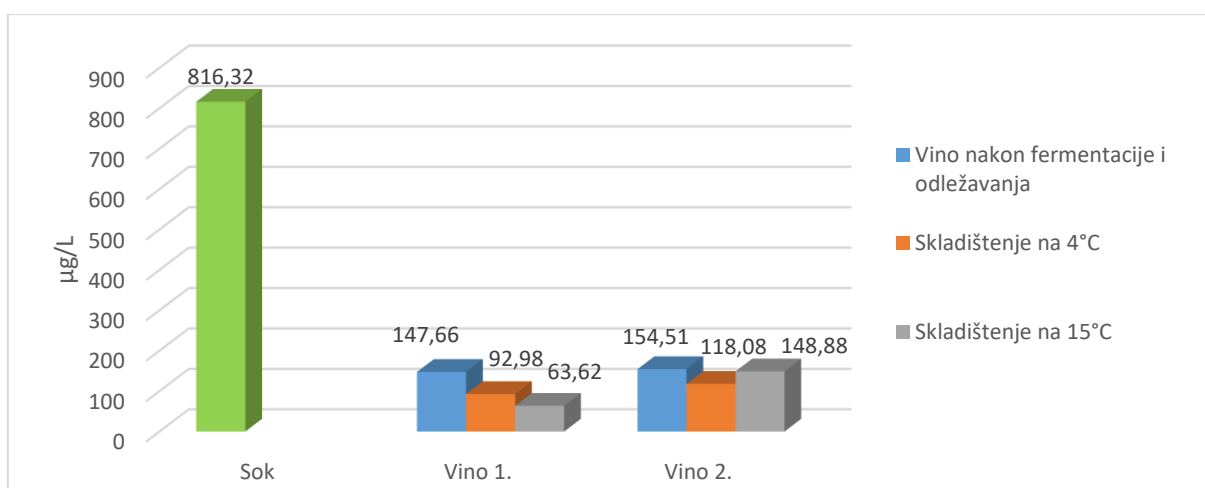
Slika 12 Sadržaj viših alkohola u vinima od mandarine prije i nakon skladištenja na 4°C i 15°C kroz dva mjeseca



Slika 13 Sadržaj aldehida i ketona u vinima mandarine prije i nakon skladištenja na 4°C i 15°C kroz dva mjeseca



Slika 14 Sadržaj estera u vinima mandarine prije i nakon skladištenja na 4°C i 15°C kroz dva mjeseca



Slika 15 Sadržaj terpena u vinima mandarine prije i nakon skladištenja na 4°C i 15°C kroz dva mjeseca

5. RASPRAVA

Voće za proizvodnju voćnog vina mora biti primjerene kakvoće. Najčešće se voćno vino proizvodi od jabuka, krušaka, kupina, ali je moguće upotrijebiti i drugo voće za proizvodnju, poput mandarina.

Sadržaj šećera u voću glavni je pokazatelj zrelosti, a pri proizvodnji voćnog vina vrlo je važan podatak kojim se utvrđuje količina šećera koja se mora dodati voćnom soku da bi se mogla provesti alkoholna fermentacija. Obzirom da su mandarine siromašne šećerom, navedenom korekcijom se regulira potrebna početna količina šećera. Iz **Tablica 2 i 3** vidi se da je sok od mandarine imao 14,2 % suhe tvari, dok je u vinima došlo do smanjenja suhe tvari (1. – 10,10 %, 2.- 8,3 %). Nakon dodatne korekcije šećera i odležavanja vina su sadržavala slijedeći udio suhe tvari: 1. – 11,4 %, 2. – 9,8 %.

Ukupne kiseline u vinu, osim što daju osvježavajući okus, djeluju i kao konzervansi. Izražavaju se kao grami vinske kiseline u litri vina. Sok od mandarine imao je 21,80 g/L ukupnih kiselina te se morala izvršiti korekcija kiselina dodatkom vode. Nakon alkoholne fermentacije došlo je do smanjenja količine ukupnih kiselina u vinu bez korekcije kiselina (1.) na 15,48 g/L, a u vinu s korekcijom kiselina (2.) na 8,33 g/L (**Tablica 3**). Ispitivani uzorci vina nakon odležavanja sadržavali su slijedeće količine ukupnih kiselina: uzorak 1. 12,95 g/L, a uzorak 2. 8,01 g/L (**Tablica 4**). Daljnjim skladištenjem vina na 4°C i 15°C došlo je u vinu 1. do dodatnog smanjenja kiselina na 10,8 g/L, dok se u vinu 2. kiseline nisu mijenjale (**Tablica 5**).

Ukupni suhi ekstrakt u vinu čine sve organske i mineralne tvari koje nisu hlapive pod specifičnim fizikalnim uvjetima (ugljikohidrati, nehlapive kiseline, tvari boje, neki viši alkoholi). Nakon alkoholne fermentacije vino bez korekcije kiselina (1.) sadržavalo je 34,1 g/L ukupnog ekstrakta, a vino s korekcijom kiselina (2.) 26,6 g/L ukupnog ekstrakta (**Tablica 3**). Ispitivani uzorci vina nakon odležavanja i zadnje korekcije šećera sadržavali su slijedeće količine ukupnog ekstrakta: uzorak 1. 48,2 g/L, a uzorak 2. 41,4 g/L (**Tablica 4**). Daljnjim skladištenjem vina na 4°C i 15°C ukupni ekstrakt u oba ispitivana vina nije se značajno mijenjao (**Tablica 5**). Dopusćeni udio alkohola u vinu kreće se od minimalno 8,5 % vol. (stolna vina) do maksimalno 18 % vol. Nakon alkoholne fermentacije vino bez korekcije kiselina (1.) sadržavalo je 15,97 vol. % alkohola, a vino s korekcijom kiselina (2.) 13,22 vol. % alkohola (**Tablica 3**). Ispitivani uzorci vina nakon odležavanja i zadnje korekcije šećera sadržavali su slijedeće količine alkohola: uzorak 1. 18,3 vol. % alkohola, a uzorak 2. 15,6 vol. % alkohola (**Tablica 4**). Daljnjim skladištenjem vina na 4°C i 15°C ukupni ekstrakt u vinu 1. nije se značajno mijenjao, dok je u vinu 2. došlo do malog povećanja alkohola (**Tablica 5**).

Osim alkohola i suhog ekstrakta, za kategorizaciju vina na stolno, kvalitetno i vrhunsko vino, važan je i sadržaj pepela. On se u oba ispitivana vina tijekom alkoholne fermentacije, odležavanja i skladištenja nije značajno mijenjao (**Tablice 3,4,5**).

Kako bi se spriječila oksidacija i kvarenje vina, potrebno je izvršiti sumporenje. Sumpor se u vinu nalazi u obliku sumpornog dioksida, i to kao vezani i slobodni. Količina slobodnog i ukupnog sumpornog dioksida u ispitivanim vinima mijenjala se tijekom fermentacije, odležavanja i skladištenja što je uobičajen tijek pri proizvodnji vina.

Fenolne tvari potječu iz čvrstih dijelova voća i imaju zaštitnu ulogu u organizmu, budući da sprječavaju štetno djelovanje slobodnih radikala. Osim toga, važni su za izgled, okus i kakvoću vina. U soku od mandarine nalazila se najveća količina polifenolnih spojeva (550,02 mg/L), dok je u ispitivanim vinima nakon odležavanja došlo do gubitka polifenola i to u vinu 1. na 409,45 mg/L, a u vinu 2. na 268,52 mg/L. Daljnjim skladištenjem vina na 4°C i 15°C dogodio se lagani porast polifenolnih spojeva u oba ispitivana vina (**Tablica 5**). Antioksidacijska aktivnost za sok i oba uzorka pratila je prije opisani trend.

Ukupna aroma vina predstavlja kombinaciju sortne arome (primarna aroma), arome koja nastaje alkoholnom fermentacijom (sekundarna aroma) te tijekom odležavanja i skladištenja (tercijarna aroma ili „bouquet“). Svi spojevi arome koji se pronađu u vinu, najčešće se dijele u sljedeće skupine: esteri, viši alkoholi, masne kiseline, aldehidi, ketoni i terpeni.

Esteri nastaju reakcijom acetil-CoA s višim alkoholima nastalim degradacijom aminokiselina ili ugljikohidrata, te imaju značajnu ulogu u ukupnoj aromi vina dajući voćne i cvjetne arome. Obzirom da su mandarine vrlo aromatične, u soku te oba ispitivana vina ukupno je nađeno dvadeset i sedam različitih estera. Esteri su najvećim dijelom nastali tijekom alkoholne fermentacije. Iz rezultata je vidljivo da je vino 1. nakon fermentacije i odležavanja sadržavalo najveću količinu ukupnih estera, dok je nakon skladištenja na dvije različite temperature došlo do značajnog smanjenja ukupne količine estera u vinu 1. te su se količine estera izjednačile u oba ispitivana vina. Od ukupno 27 pronađenih estera, sok od mandarine sadržavao je samo osam. Oba ispitivana vina sadržavala su gotovo sve nađene estere, gdje su najveću koncentraciju imali etil dekanat i etil laurat, a svoj udio u ukupnoj aromi dali su i esteri uljnih, mednih i voštanih aroma (etil miristat, izopropil miristat, metil palmitat, etil palmitat, etil linoleat, etil oleat i dr.).

Viši alkoholi nastaju kao sekundarni produkti metabolizma kvasaca. Što se tiče ukupne koncentracije alkohola u ispitivanim uzorcima, vino 1. imalo je značajno veću koncentraciju

alkohola u odnosu na vino 2. U aromi oba vina, pored izoamil alkohola, koji je imao najveću koncentraciju, pronađeni su i metionol, 2,3 - butandiol i fenetil alkohol. Oktanol (aroma naranče i ruže) identificiran je samo u soku od mandarine. Tijekom skladištenja u vinu 1. došlo je do značajnog smanjenja koncentracije alkohola na 15°C u odnosu na 4°C, dok u vinu 2. nije vidljiva tolika razlika u koncentraciji skladištenjem na dvije različite temperature.

Kiseline potječu iz sirovina, ali neke od njih nastaju i alkoholnom fermentacijom. Najveću ukupnu koncentraciju kiselina imalo je vino 2., koja se tijekom skladištenja dijelom smanjila. Oba uzorka imala su najviše dekanske kiseline koja zajedno sa miristinskom, laurinskom i palmitinskom daje masnu, slatkastu, uljnu te dijelom kiselu aromu. Tijekom skladištenja u oba vina došlo je do značajnog smanjenja koncentracije kiselina u odnosu na koncentraciju nakon završenog procesa proizvodnje vina.

Karbonilni spojevi, odnosno aldehidi i ketoni, u vinu nastaju u manjim količinama te nemaju važnu ulogu u stvaranju sortnih aroma. U soku te oba ispitivana vina ukupno je nađeno četrnaest različitih aldehida i ketona, od toga najviše u soku od mandarine. Vino 1. sadržavalo je veću koncentraciju karbonilnih spojeva tijekom fermentacije, odležavanja i skladištenja u odnosu na vino 2. Najveći udio među četiri pronađena karbonilna spoja u oba vina zauzimao je miristaldehid (tetradekanal) mliječnog, kremastog i voćnog mirisa s notom suhe kore citrusa.

Terpeni su skupina aromatičnih spojeva koji predstavljaju sortnu aromu, koja je karakteristična za svaku sortu grožđa. Dijeleg se na slobodne terpene koji su odgovorni za aromu grožđa i mošta, te vezane terpene (vezane najčešće za šećere) koji se oslobađaju tijekom procesa proizvodnje vina raznim tehnološkim postupcima (maceracija, ekstrakcija, enzimaska hidroliza itd.). Od ukupno 28 pronađenih estera, sok od mandarine sadržavao je dvadeset i šest. Samo dva terpena, karveol i farnesen nađena su u oba vina od mandarine. Vino 2. je nakon skladištenja očuvalo značajne količine navedenih terpena, dok je u vinu 1. došlo do velikog gubitka oba terpena tijekom skladištenja. Karveol i farnesen daju slatke, citrusne, cvjetne arome koje su u vinu 2. ostale očuvane tijekom proizvodnje i skladištenja.

6. ZAKLJUČCI

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

- Kemijski sastav, udio tvari boje i arome u vinu ovise, ne samo o tehnološkim postupcima proizvodnje, nego i o samoj vrsti voća od koje se vino proizvodi.
- Prema dobivenim rezultatima analize, u oba ispitivana vina nakon provedene fermentacije i odležavanja došlo je do smanjenja ukupnih kiselina, polifenola, flavonoida i antioksidacijske aktivnosti u odnosu na početni sok.
- Vino 1. dobiveno iz soka mandarine bez korekcije kiselina ima veći vol. % alkohola, više ekstrakta i šećera od vina 2., ali kušanjem oba vina utvrđeno je da vino 1. nije pitko zbog prevelike količine ukupnih kiselina.
- Što se tiče spojeva arome, u uzorku su pronađene visoke koncentracije estera voćne i cvjetne arome te nekolicina terpenskih spojeva koji pridonose slatkoj, voćnoj, citrusnoj i cvjetnoj aromi, karakterističnoj za mandarinu. Sok prije fermentacije i odležavanja ima malu količinu masnih kiselina, viših alkohola i estera u odnosu na oba vina nakon provedene fermentacije i odležavanja. Svi navedeni sastojci nastaju najvećim dijelom tijekom fermentacije. Aldehidi i ketoni su u najvećoj koncentraciji nađeni u vinu 1. u odnosu na početni sok i vino 2. Koncentracija terpena najveća je u soku u odnosu na oba ispitivana vina nakon fermentacije i odležavanja.
- Skladištenjem uzoraka na 4 °C i 15 °C došlo je do promjene u količini ukupnih i reducirajućih šećera. Naime, skladištenjem su se smanjili ukupni šećeri, jer je došlo do inverzije saharoze, a time se povećao sadržaj reducirajućih šećera u oba vina. Također, došlo je do povećanja sadržaja polifenola i antioksidacijske aktivnosti što može biti posljedica stabilizacije vina tijekom skladištenja mladih vina koja su vrlo nestabilna.
- Skladištenje je imalo za posljedicu smanjenje koncentracija pojedinih spojeva arome, posebice terpena. To je uobičajeno, jer su terpeni nositelji primarne arome koja potječe iz voća.

7. LITERATURA

- Andabak J: Utjecaj fermentacijske posude na aromatski profil i boju vina sorte Plavac mali. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2017.
- Blesić M, Mijatović D, Radić G, Blesić S: *Praktično vinogradarstvo i vinarstvo*. CRS, Sarajevo, 2013.
- Đurović R: Mikroekstrakcija u čvrstoj fazi (SPME) u određivanju ostataka pesticida u uzorcima zemljišta. *Journal Pesticides and Phytomedicine* 26(3):177-184, 2011.
- Ferenčić D, Gluhic D, Dudaš S: Hranjiva vrijednost mandarina (*Citrus reticulata* Blanco, *Citrus nobilis* Lour). *Glasnik zaštite biljaka* 3:46-52, 2016.
- Kolb E, Demuth G, Schurig U, Sennewald K: *Voćna vina (Proizvodnja u kućanstvu i obrtu); Fruitwine (Production of household and crafts)*. ITD Gaudeamus d.o.o., Požega, 2007.
- Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva: *Pravilniku o fizikalno-kemijskim metodama analize mošta, vina, drugih proizvoda od grožđa i vina te voćnih vina*. Narodne novine br. 106/04, 2004.
- Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva: *Pravilnik o voćnim vinima*. Narodne novine br. 59/13, 2013.
- Ministarstvo poljoprivrede i šumarstva: *Zakon o vinu*. Narodne novine br. 32/19, 2019.
- Perić K: Aromatski i fenolni sastojci u autohtonim vinima južne Dalmacije. *Diplomski rad*, Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek, 2018.
- Pichler A, Pozderović A, Prskalo A, Andrašek I, Kopjar M: Utjecaj geografskih i klimatskih uvjeta na sadržaj tvari arome, polifenola i antocijana u crnim vinima erduskog vinogorja istočne Slavonije. *Glasnik Zaštite Bilja* 38(6):34-43, 2015.
- Popović L i Vego D: Sortiment mandarine na području Opuzena. *Pomologia Croatica* 16(3-4):89-108, 2010.
- Pozderović A, Pichler A: Osnove prehrambene tehnologije - Osnove tehnologije vina. *Propisi za vježbe*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2009.
- Pozderović A: *Tehnologija vina*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2013.
- Poljoprivredna enciklopedija, str. 137-138, Zagreb, 1970.
- Radovanović V: *Tehnologija vina*. IRO Građevinska knjiga, Beograd, 1986.
- Škorić I: Molekulska spektroskopija. *Nastavni tekst*. Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2016.
- Tehnička enciklopedija. Zagreb, 1979. str. 387-395.
- Vine R, Harkness E, Browning T, Wagner C: *Winemaking from Grape Growing to Marketplace*. Chapman and Hall Enology Library, New York, 1997.

Web izvori:

Web 1

https://www.google.com/search?q=mandarina&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUK EwiMpead-pXiAhXNwosKHZ9KAMEQ_AUIDigB&biw=1536&bih=722&dpr=1.25#imgrc=aG6Xrr9u bJQtOM; pristupljeno 15.5.2019.

Web 2

https://www.google.com/search?biw=1536&bih=674&tbm=isch&sa=1&ei=5UPZXKyTOZCMI wTlq5-4Dg&q=glukoza+i+fruktoza&og=glukoza+i+fruktoza&gs_l=img.3..0j0i5i30j0i30l4j0i24l 3.76257.79749..79835...0.0..0.127.1916.0j17.....0....1..gws-wiz- img.....0i67j0i8i30.yctnl0jPiFs#imgrc=Ckm4x0qTv-ZG-M; pristupljeno 15.5.2019.

Web 3

https://www.google.com/search?q=vinska+kiselina&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0a hUKEwjn5qT2qZjiAhUktIsKHeT9DTsQ_AUIDigB&biw=1536&bih=722#imgrc=3Vb2eB9 auzSOQM; pristupljeno 15.5.2019.

Web 4

https://www.google.com/search?biw=770&bih=664&tbm=isch&sa=1&ei=gNHZXM- UAtaAjLsPsJWPEA&q=jabu%C4%8Dna+kiselina&og=jabu%C4%8Dna+kis&gs_l=img.1. 0.0j0i24l2.130128.132335..133550...0.0..0.154.1414.0j11.....0....1..gws-wiz- img.8do_QhAnMVs#imgrc=0Bf8cwNYyfcfn-M; pristupljeno 16.5.2019.

Web 5

https://www.google.com/search?q=metanol&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwi 5tZGnqpnAhWDtYsKHTcECbiQ_AUIDigB&biw=770&bih=714&dpr=1.25#imgrc=n_yK8 l1e4mZ7NM; pristupljeno 16.5.2019.

Web 6

https://www.google.com/search?biw=770&bih=664&tbm=isch&sa=1&ei=BtLZXNeEGcaSkwX 3pZ6QDw&q=etanol&og=etanol&gs_l=img.3..0l6j0i30l4.649058.649772..650032...0.0 ..0.118.691.0j6.....0....1..gws-wiz- img.....0i67.qVU9FptgeAg#imgrc=935QphndITuePM; pristupljeno 16.5.2019.

Web 7

https://www.google.com/search?safe=active&biw=1396&bih=657&tbm=isch&sa=1&ei=D3bmXJDoMlzoa8XujIAH&q=mill+for+grapes&oq=mill+for+grapes&gs_l=img.3...13605.14096..14410...0.0..0.138.480.0j4.....0....1..gws-wiz-img.VqXXwZRn_ec#imgrc=1l7FEbQqn1o5PM; pristupljeno 20.5.2019.

Web 8

https://www.google.com/search?q=pre%C5%A1a&safe=active&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjpg6DWv7HiAhVABBAIHe02AAkQ_AUIDigB&biw=1396&bih=612#imgrc=03WLoVadNC87ZM; pristupljeno 20.5.2019.

Web 9

https://www.google.com/search?biw=1396&bih=657&tbm=isch&sa=1&ei=OYzqXOjIHlutUruucAI&q=fermentor+za+vino&oq=fermentor+za+vino&gs_l=img.3..0i24.52288.53461..53756...0.0..0.129.879.0j8.....0....1..gws-wiz-img.....0j0i10i30j0i30j0i5i30.U3M0MTi4iqY#imgrc=TXUr2hm2Qe0_9M; pristupljeno 20.5.2019.

Web 10

https://www.google.com/search?q=vrenja%C4%8Da&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwj-h7zMn7niAhXrtYsKHeVqCm0Q_AUIDigB&biw=1396&bih=612&dpr=1.38#imgrc=CIGA BK9MaIVOTM; pristupljeno 20.5.2019.