

# Utjecaj koncentriranja membranskim procesom nanofiltracije na tvari arome konvencionalnog i ekološkog vina Cabernet Sauvignon

---

Tica, Mija

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:109:713859>

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

**Mija Tica**

**UTJECAJ KONCENTRIRANJA MEMBRANSKIM PROCESOM  
NANOFILTRACIJE NA TVARI AROME KONVENCIONALNOG I  
EKOLOŠKOG VINA CABERNET SAUVIGNON**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2021.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek  
Zavod za prehrambene tehnologije  
Katedra za prehrambeno inženjerstvo  
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

**Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo****Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti**Znanstveno polje:** Prehrambeno inženjerstvo**Nastavni predmet:** Tehnologija vina**Tema rada** je prihvaćena na VIII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2020./2021. održanoj 27. svibnja 2021.**Mentor:** izv. prof. dr. sc. *Anita Pichler***Pomoć pri izradi:** *Ivana Ivić, mag.ing.***Utjecaj koncentriranja membranskim procesom nanofiltracije na tvari arome konvencionalnog i ekološkog vina Cabernet Sauvignon***Mija Tica, 0113142283*

**Sažetak:** Aroma vina predstavlja jedan od glavnih parametara kvalitete vina. Spojevi arome nastaju prilikom dozrijevanja grožđa, tijekom procesa fermentacije i dozrijevanja vina. Aromatski profil vina se mijenja kada se vino podvrgava koncentriranju primjenom procesa nanofiltracije. Stoga, cilj ovog diplomskog rada jest ustanoviti kako koncentriranje vina nanofiltracijom utječe na tvari arome konvencionalnog i ekološki proizvedenog vina sorte Cabernet Sauvignon. Postupak koncentriranja proveo se primjenom i bez primjene hlađenja, pri radnim tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara na laboratorijskom uređaju LabUnit M20 s pločastom modulom i membranama kompozitne strukture tipa Alfa Laval NF M20. Uz pomoć mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME) i instrumentalne plinske kromatografije odredio se kvantitativni udio aromatičnih sastojaka. Na temelju dobivenih rezultata vidljivo je da primijenjeni procesni parametri, temperatura i tlak, uvelike utječu na zadržavanje spojeva arome u vinskim koncentratima. Najveće zadržavanje aromatskih spojeva u vinskim koncentratima (konvencionalnim i ekološkim) dobiveno je nanofiltracijom pri 55 bara uz hlađenje, dok su procesi koncentriranja konvencionalnog i ekološkog vina bez hlađenja rezultirali određenim gubitkom pojedinih tvari arome.

**Ključne riječi:** nanofiltracija, tvari arome, konvencionalno i ekološko vino, tlak, temperatura**Rad sadrži:** 58 stranica  
15 slika  
15 tablica  
0 priloga  
32 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:** 28. rujna 2021. 12 sati

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.**

## BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

**University Josip Juraj Strossmayer in Osijek**  
**Faculty of Food Technology Osijek**  
**Department of Food Technology**  
**Subdepartment of Food Engineering**  
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

### Graduate program of Food Engineering

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food technology

**Course title:** Wine Technology

**Thesis subject** was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VIII held on May 27, 2021.

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

**Technical assistance:** *Ivana Ivić*, mag.ing.

### **Influence of concentration by membrane process nanofiltration on aroma compounds of conventional and organic Cabernet Sauvignon wine**

*Mija Tica*, 0113142283

**Summary:** Wine aroma represents one of the main wine quality parameters. Aroma compounds are formed during maturation of grapes, fermentation process and wine aging. The aroma profile of wine changes when the wine is subjected to concentration process by nanofiltration. Therefore, the aim of this thesis was to establish the influence of concentration process by nanofiltration on the wine aroma compounds of conventionally and ecologically produced Cabernet Sauvignon wine. The concentration process was carried out with and without cooling, at working pressures of 25, 35, 45 and 55 bar, on a laboratory filter LabUnit M20 with a plate module and composite membranes Alfa Laval NF M20. Using solid-phase microextraction (SPME) and instrumental gas chromatography, quantitative content of aroma compounds was determined. Based on the obtained results, it can be observed that the applied processing parameters, temperature and pressure, greatly affect the retention of aroma compounds in wine concentrates. The highest retention of aroma compounds in wine concentrates (conventional and ecological) was obtained by nanofiltration at 55 bar with cooling, while the concentration processes of conventional and ecological wine without cooling resulted in a certain loss of individual aroma compounds.

**Keywords:** nanofiltration, aroma compounds, conventional and ecological wine, pressure, temperature

**Thesis contains:** 58 pages  
15 figures  
15 tables  
0 supplements  
32 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, assistant prof. | stand-in     |

**Defense date:** september 28, 2021, 12 pm

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

*Prije svega, zahvaljujem svojim roditeljima koji su mi omogućili ovo obrazovanje i bez kojih definitivno ne bih uspjela. Također, hvala bratu na pomoći i potpori.*

*Zahvaljujem mentorici izv. prof. dr. sc. Aniti Pichler na susretljivosti, sugestijama i na količini vremena izdvojenog pomažući mi prilikom izrade ovog diplomskog rada. Također, hvala asistentici mag.ing. Ivani Ivić.*

*Hvala mom dečku koji je tijekom svih ovih godina studiranja uz mene, na strpljenju kojega je zaista trebalo, razumijevanju i bezuvjetnoj ljubavi i podršci.*

*Posebna zahvala ide mojoj baki, koja je 'uskakala' kad god je bilo potrebno vozeći me na ispite i moleći se za mene.*

*Hvala rodbini, kumovima i prijateljima koji su tijekom cijelog ovog razdoblja bili uz mene i hrabрили me u teškim trenucima te dijelili sreću sa mnom u onim lijepim. Bez vas bi sve ovo bilo puno teže i gotovo nemoguće.*

## Sadržaj

<b>1. Uvod.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Teorijski dio.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Vinova loza.....</b>	<b>4</b>
2.1.1. Podrijetlo i botanička svojstva .....	4
2.1.2. Organografija vinove loze .....	4
<b>2.2. Razvojni ciklus loze.....</b>	<b>7</b>
<b>2.3. Ekološki uzgoj vinove loze.....</b>	<b>10</b>
<b>2.4. Konvencionalni uzgoj vinove loze.....</b>	<b>11</b>
<b>2.5. VINO.....</b>	<b>12</b>
2.5.1. Definicija i podjela vina .....	12
2.5.2. Kemijski sastav vina .....	16
<b>2.6. Proizvodnja crnih vina.....</b>	<b>20</b>
2.6.1. Cabernet sauvignon .....	24
<b>2.7. Membranski procesi.....</b>	<b>25</b>
2.7.1. Vrste membrana .....	28
<b>2.8. Kromatografske metode.....</b>	<b>29</b>
2.8.1. Plinska kromatografija .....	30
2.8.2. Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi .....	31
<b>3. Eksperimentalni dio.....</b>	<b>33</b>
<b>3.1. ZADATAK.....</b>	<b>34</b>
<b>3.2. MATERIJAL I METODE. ....</b>	<b>34</b>
3.2.1. Priprema koncentriranog vina Cabernet Sauvignon.....	34
3.2.2. Analiza tvari arome .....	35
<b>4. Rezultati i rasprava.....</b>	<b>38</b>
<b>4.1. TABLIČNI PRIKAZ ANALIZOM DOBIVENIH REZULTATA.....</b>	<b>39</b>
<b>4.2. GRAFIČKI PRIKAZ ANALIZOM DOBIVENIH REZULTATA.....</b>	<b>47</b>
<b>5. Zaključci.....</b>	<b>53</b>
<b>6. Literatura.....</b>	<b>55</b>

## **Popis oznaka, kratica i simbola**

SPME	Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi
GC	Plinska komatografija
MS	Maseni spektrometar (detektor)
RO	Reverzna osmoza
NF	Nanofiltracija
UF	Ultrafiltracija
MF	Mikrofiltracija
PKV	Početni uzorak konvencionalnog vina
PEV	Početni uzorak ekološkog vina

## **1. UVOD**



Jedno od najstarijih pića na svijetu, vino, datira i šest tisuća godina prije Krista. Među prvima u proizvodnji vina bili su Grci. Proizvodili su ga pomoću preša, miješali s vodom te dodavali smolu u svrhu zaštite vina od kvarenja jer u to vrijeme nije bilo sumpora. Oko 4000. godine prije nove ere započeo je uzgoj grožđa za proizvodnju vina na području Mezopotamije i oko Kaspijskog mora (Pichler, 2016).

Danas postoji velik broj sorti vinove loze. O sorti vinove loze uvelike ovisi prinos grožđa, sastav i sadržaj kiselina, sadržaj ugljikohidrata, fizikalno-kemijska, senzorska svojstva vina, aroma, sadržaj polifenola, boja (antocijani i drugi) i okus (sadržaj fenolne kiseline, katehina, tanina i dr.). Kod bijelih sorti grožđa dozrijevanjem nastaju ksantofili i karotenoidi koji daju žute i narančaste nijanse boje, dok kod crnih sorti nastaju antocijani koji daju crvene do ljubičaste nijanse boje (Pichler, 2016).

Cabernet sauvignon jedna je od najpoznatijih sorti crnog grožđa u svijetu koja je nastala križanjem sorti grožđa sauvignon bijeli i cabernet franc. Francuskog je podrijetla (Bordeaux), a u našim vinogradima nalazi se od 1880. godine. Grozdovi su cilindrično-konusnog oblika, a bobice su pravilnog okruglog oblika, tamnoplave boje i sočne pulpe (web 1).

Najnoviji trendovi u vinarstvu uključuju proizvodnju vinskih koncentrata te njihovu daljnju upotrebu za razvoj novih proizvoda te za moguću korekciju vina (Ivić i sur., 2021a; Ivić i sur., 2021b). Za koncentriranje se najčešće primjenjuju membranski procesi, reverzna osmoza i nanofiltracija. Prilikom nanofiltracijskog procesa koncentriranja vina na membrani se, pored većih, zadržavaju i one manje molekule (anorganske soli i neki šećeri). Potreban tlak za proces nanofiltracije jest između 10 i 40 bara.

Cilj ovog rada je ispitati utjecaj koncentriranja nanofiltracijom te istražiti utjecaj tlaka i temperature na tvari arome konvencionalnog i ekološkog vina Cabernet Sauvignon, uz primjenu i bez primjene hlađenja pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara.

## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. VINOVA LOZA

### 2.1.1. Podrijetlo i botanička svojstva

Vinova loza je veoma stara kultura. To potvrđuju i fosilni ostaci stari šezdeset milijuna godina, što smatramo jednim od važnijih znanstvenih dokaza o postojanju vinove loze u tako dalekoj prošlosti (Pichler, 2016).

Prema Zakonu o vinu, za proizvodnju istog koriste se sorte vinove loze koje pripadaju vrsti *Vitis vinifera* ili križancima *Vitis vinifere* s drugim vrstama roda *Vitis* (Zakon o vinu, 32/2019).

Vinova loza je grmolika penjačica iz porodice *Vitaceae* ili *Ampelideae*. Postoji deset rodova, a za vinogradarstvo je najvažniji rod *Vitis*. Podrodovi su *Euvitis* i *Muscadinia*. *Euvitis* se sastoji od trideset američkih, četrdeset azijskih i jedne euroazijske vrste – *Vitis vinifere*. *Vitis viniferu* dijelimo na europsku divlju lozu (*Vitis vinifera* var. *sylvestris*) i europsku kulturnu lozu (*Vitis vinifera* var. *sativa*). Podloge za vinovu lozu moraju biti otporne na jednu od najučestalijih štetnika vinove loze – trsnu uš. Filoksera ili trsna uš je štetnik koji raste na korijenu loze i hrani se njegovim sokovima. Najpogodnije podloge su američke vrste jer imaju deblje korijenje, otpornije su i sigurnije od europskih vrsta koje imaju puno malih korijena te ih nametnik s lakoćom pregrize.

Kao podloge koriste se:

- američke loze,
- križanci američkih loza,
- križanci američkih i europskih loza (europsko-američki hibridi) i
- kompleksni hibridi (Zoričić, 2013).

Poznato je više od 5000 sorti vinove loze. Mnoge od tih sorti uzgajaju se na području vinogorja kontinentalne i primorske Hrvatske, a neke su nastale na tim područjima pa ih nazivamo autohtonim (Zoričić, 2013).

### 2.1.2. Organografija vinove loze

Čokot ili trs čine podzemni i nadzemni dio vinove loze. Podzemni dio je korijen, a nadzemni stablo, krakovi, ogranci, jednogodišnja rozgva, pupovi, listovi, zaperci, vitice, cvatovi, grozdovi i bobice. Korijen daje stabilnost trsu, čuva hranjive tvari te prenosi vodu i hranjiva do nadzemnog dijela trsa. Rast mu je najintenzivniji u proljeće i jesen. Stablo je nadzemni dio trsa

koji na sebi nosi ogranke i krakove. Uz rozgvu i lišće, spada u vegetativne organe vinove loze. Rozgva na sebi nosi ostale organe: list, zaperak, pup, cvat i viticu (Mirošević i sur., 2009).

### Korijen

Kao vegetativni organ, korijen prema Miroševiću i sur. (2009) ima razne uloge u životu loze:

- osigurava stabilnost vinovoj lozi,
- opskrbljuje s vodom i hranjivim tvarima nadzemne dijelove trsa,
- apsorbira određenu količinu ugljične kiseline iz tla za fotosintezu,
- sintetizira organske spojeve i
- pohranjuje rezervne hranjive tvari (bjelančevine i ugljikohidrate).

### Pupovi

Pupovi se prema Miroševiću i Karoglan Kontić (2008) dijele na:

- zimski,
- ljetni i
- spavajući pup (pričuvni, pritajeni).

Zimski se pup oblikuje uz ljetni u pazušcu lista tijekom vegetacije. Prekrivaju ga dva lista ljuskaste strukture koji su presvučeni smolastom tvari koja ga ujedno štiti od oštećenja i vlage. Ljetni se pup tijekom vegetacije pretvara u zaperak, a nastaje isto kada i zimski, odnosno glavni pup. Spavajući pup nastaje od pupova i suočica s osnovne rozgve. Takvi se pupovi s vremenom uklope u drvo i miruju pokriveni korom sve dok uvjeti ne budu povoljni za ponovno pupanje. Što se tiče rodnosti pupova, ona se povećava od osnove do sredine, a smanjuje prema vrhu. Radi primjene reza, važno je znati da postoje razlike među kultivarima. Primjerice, kod nekih kultivara rodni su pupovi pri osnovi, dok kod drugih rodnost počinje u 3. ili 4. koljencu (Mirošević i sur., 2009).

### List

Listovi se nalaze na koljencu mladice, a sastoje se od peteljke i plojke. Razlikujemo: male listove (10 – 12 cm), srednje duge (17 – 20 cm) i velike (veći od 20 cm). List obavlja vrlo važnu funkciju, fotosintezu. Ona se odvija u kloroplastima, gdje uz pomoć sunčeve energije iz CO<sub>2</sub> i vode stvara ugljikohidrate. Produkti koji nastaju fotosintezom nazivaju se asimilati i služe kao izvor energije za metaboličke procese. Kako bi vinova loza mogla rasti i razvijati se, potrebni su asimilati tijekom cijelog vegetacijskog razdoblja. Najveći dio asimilata usmjerava se u

grozdove, a ostatak skladišti. Nužno je da trs bude opskrbljen vodom kako bi se fotosinteza pravilno odvila. Također, voda je važna za prijenos asimilata u ostale dijelove biljke. Prilikom visokih temperatura dobra opskrbljenost vodom omogućuje transpiraciju (fiziološki proces ispuštanja vode u obliku pare) čime dolazi do smanjenja topline lista te većeg intenziteta fotosinteze (Mirošević i sur., 2009).



**Slika 1** Različiti oblici listova vinove loze (web 2)

### Cvat, cvijet i vitice

Generativne organe čine cvat, cvijet, grozd, bobica i vitica. Cvat je skup cvjetova koji se nalazi na koljencu nasuprot lista, a oblikuju se u zimskim i zaperkovim pupovima. Na cvatu može biti od 100 do 1500 cvjetova. Cvijet se nalazi na tankoj zelenoj stapci, a građen je od pet krugova: 5 zakržljalih lapova (čашka), vjenčić od 5 sraslih kapica (cvjetna kapica), prašnici, žlijezde nektarine i tučak. Tri su osnovna tipa cvijeta:

- dvospolni ili hermafroditni,
- u funkciji ženski, a morfoloijom dvospolan i
- muški.

Najčešći je dvospolan cvijet, no pojavljuju se i vrste s funkcionalno ženskim tipom cvijeta: grk bijeli, blatina crna, muškat crveni, cetinka bijela i drugi. Muške cvjetove imaju mnoge američke vrste vinove loze (Mirošević i sur., 2009).

### Grozd

Nakon završetka cvatnje, cvat postane grozd. Prema Miroševiću (1996), grozd po zbijenosti može biti: vrlo zbijen, zbijen, rastresit i vrlo rastresit odnosno rehljav. Bobice su kod vrlo zbijenog grozda toliko zbijene da dolazi do promjene njihova oblika, dok kod zbijenog nema promjena jer se bobice ne razmiču jedna od druge. Rastresit grozd mijenja oblik razmicanjem bobica i krilca, a vrlo rastresit grozd ima bobice koje su međusobno udaljene.



**Slika 2** Zbijeni grozd vinove loze (web 3)

### Bobice

Bobica je građena od sjemenke, mesa i pokožice. Meso je sočno i mesnato, a kožica može biti tanke ili debele strukture i prekrivena voskom koji štiti od prodiranja vode i evaporacije. Bobice mogu biti plosnate, jajolike, ovalne i okrugle, a što se tiče boje postoje u tamnoplavoj, ljubičastoj, sivoj, crvenoj, zelenoj, žuto zelenoj i druge (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008).

Smještena je na peteljčici iz koje u bobicu ulaze snopovi koji joj omogućuju hranu. Kada se otkine s peteljčice prekinu se i provodni snopovi koje nazivamo četkice. Najveći dio bobice čini meso, a njegov udio ovisi o randmanu, odnosno tehnološkom iskorištenju pojedine sorte grožđa (Mirošević i sur., 2009).

Unutar svake bobice trebale bi biti 4 sjemenke, ali uslijed nepotpune oplodnje taj broj varira između 1 i 4. Postoje i sorte bez sjemena, a koriste se za sušenje i za konzumaciju u svježem stanju kao što je stolno grožđe. Na veličinu i sastav bobice utječe razvoj sjemenke i veličina, dok je broj sjemenki ovisan o težini bobica, sadržaju kiselina i ugljikohidrata (Paunović i Daničić, 1976).

## **2.2. RAZVOJNI CIKLUS LOZE**

Faze razvoja vinove loze su:

- sušenje;
- pupanje, rast i razvoj vegetacije;

- cvatnja i oplodnja;
- razvoj bobica;
- dozrijevanje bobice;
- pripremanje za zimski odmor;
- zimski odmor.

### Suzenje

Suzenje ili plač vinove loze najava je početka vegetacije. Dolazi do istjecanja soka ukoliko se zareže rozgva ili na oštećenjima starog drveta. Uvjet za početak faze suzenja je temperatura tla od 7 do 10 °C i temperatura zraka 8 do 10 °C. Tijekom faze suzenja trs izgubi od 0,3 do 2,5 L soka koji sadrži nisku koncentraciju suhe tvari pa iz tog razloga nema većih gubitaka mineralnih i organskih tvari iz trsa (Mirošević i sur., 2009).



**Slika 3** Prikaz suzenja vinove loze (web 4)

### Pupanje, rast i razvoj vegetacije

Dolaskom vode i hranjivih tvari u pup, embrionalna mladica raste te iz pupa rastu mladi listići. U ovoj fazi bitne etape su: rast mladica i listova, otvaranje pupova, pojava i razvoj cvatova i cvijeta i oblikovanje peluda i plodnice. Potrebna je srednja dnevna temperatura između 7 i 12 °C, a trajanje faze iznosi od 40 do 60 dana te mladica u tom razdoblju naraste 60% od svoje ukupne dužine (Mirošević i sur., 2009).

### Cvatnja i oplodnja

Cvatnja započinje potkraj svibnja, a završava u drugoj polovici lipnja. Minimalna potrebna temperatura iznosi 15 °C, a optimalna od 20 do 25 °C. Vrijeme trajanja cvatnje: jedan cvijet 4 dana, jedan cvat od 5 do 10 dana, čokot od 8 do 12 dana, a cijeli vinograd od 12 do 20 dana.

Od oplođenih cvjetova nastaju bobice, a jedan grozd može imati od 100 do 700 bobica. Ukoliko su uvjeti oplodnje nepovoljni nastaju rehljaviji grozdovi. Uzroci nastajanja rehljavih grozdova i osipanja cvatova:

- meteorološki uvjeti koji su nepovoljni,
- nedostaci u građi cvijeta,
- slaba gnojidba te
- napad štetnika i bolesti (Pichler, 2016).

### Razvoj bobice

Razvoj traje između 30 i 60 dana. Bobice su zelene boje te obavljaju asimilaciju, transpiraciju i disanje. Na kraju rasta bobica ima 0,5 – 3% šećera i 3 – 4% kiselina. Faza razvoja započinje oplodnjom, a završava početkom dozrijevanja grožđa. Bobice se tijekom faze razvoja povećavaju nekoliko puta ovisno o nizu čimbenika vanjske i unutrašnje prirode. Za postizanje odgovarajuće veličine kritična je dovoljna količina vlage (Pichler, 2016; Mirošević i sur., 2009).

### Dozrijevanje bobice

Prestankom rasta bobice započinje njeno dozrijevanje. Dolazi do promjene boje kožice i bobica počinje mekšati. Kod bijelih sorti umjesto klorofila nastaju ksantofili i karoteni koji daju žute i narančaste nijanse boje. S druge strane, kod crnih sorti nestaje zelena boja klorofila, a nastaju antocijani koji daju crvene nijanse boje. Prilikom dozrijevanja koje traje između 20 i 50 dana, ovisno o sorti i vremenskim uvjetima, povećava se količina šećera dok se sadržaj kiselina smanjuje (Pichler, 2016).

Ukoliko se odnos kiselina i šećera nakon nekog vremena ne mijenja znači da je nastupila puna zrelost. Prema Mirošević i sur. (2009) razlikujemo:

- punu zrelost,
- fiziološku zrelost i
- tehnološku zrelost.

### Priprema za zimski odmor

Ova faza traje od fiziološke zrelosti do opadanja lišća. Tijekom pripreme za zimski odmor drvo mladice potpuno dozrijeva. Dozrela rozgva sadrži: od 52 do 58% suhe tvari (10 – 18% škroba, 4 – 8% šećera) i od 45 do 48% vode. Ukupno trajanje vegetacije: vrlo rane i rane sorte oko 150



dana, srednje kasne i kasne sorte oko 180 dana i vrlo kasne sorte od 190 do 210 dana (Pichler, 2016).

### Zimski odmor

Zimski odmor traje do početka prve faze tj. završava pojavom plača ili suženja vinove loze. Faza traje od 120 do 180 dana. Tijekom odmora sve su funkcije vinove loze potpuno prekinute (Mirošević i sur., 2009).

## **2.3. EKOLOŠKI UZGOJ VINOVE LOZE**

Posljednjih se nekoliko desetljeća daje prednost ekološkom uzgoju vinove loze pred konvencionalnim u većini zemalja koje se bave vinogradarstvom. Ekološki uzgoj vinove loze posebno je razvijen u zapadnoeuropskim zemljama, Njemačkoj, Austriji i Švicarskoj. Ekološki i konvencionalni uzgoj razlikuju se u segmentu ishrane vinove loze, pripreme i održavanja tla kao i zaštite vinograda od bolesti i insekata.

Prema Znaoru (1996) osnovna ekološka načela su:

- pravilno gospodarenje glede raznolikosti i izbora kultura, sorti, obrade tla, primjene gnojiva te jačanje otpornosti prema različitim bolestima i štetnicima u vinogradima. Isto tako, važna je i aktivnost bioloških procesa unutar gospodarstva (mikroorganizmi);
- pravilno održavanje tla te očuvanje njegove plodnosti, borba protiv erozije;
- gospodarenje u kojem se isključuje ili dopušta u iznimnim situacijama uporaba agrokemikalija (mineralnih gnojiva);
- mjere koje smanjuju ovisnost poljoprivrednog gospodarstva o industriji;
- smanjenje utroška fosilnih goriva i drugih resursa koji se ne obnavljaju u prirodi.

Prema svemu navedenom moglo bi se reći da je eko-poljoprivredni sustav onaj koji teži, prije svega, gospodarski vrlo isplativoj poljoprivrednoj i ekološki čistoj proizvodnji (Znaor, 1996).

### Eko-vinogradarstvo

Kako bi ekološka proizvodnja grožđa bila uspješna, potrebno je odabrati dobru podlogu i sortu grožđa te pogodno mjesto za vinograd. Vrlo dobre rezultate daje zatravljivanje eko-vinograda. Upotrebljavaju se smjese trava i mahunarki koje se trebaju redovno kositi. Prskanje propolisom učinkovito je u zaštiti od bolesti i nametnika. Naime, propolis sadrži tvari koje djeluju fungicidno. Obzirom na stoljetnu tradiciju vinogradarstva i vinarstva Hrvatske, ukoliko bi samo dio proizvođača prešao na eko-vinogradarstvo, zacijelo bi se vidjeli pozitivni rezultati.

Pravi je primjer otok Vis; kada bi sa svojih 600 ha prešao na eko-vinogradarstvo postao bi najveći ekološki vinograd u Europi. Zbog suhe klime na našim bi otocima bilo daleko lakše ostvariti eko-zaštitu nego u zemljama koje imaju kontinentalnu klimu. Iz razloga što svi naši otoci imaju po jednu vinariju, bilo bi vrlo jednostavno organizirati kontrolu cijele proizvodnje (web 5).

#### *Posebnosti gnojidbe i zaštita ekoloških nasada*

Iako ekološko vinogradarstvo zabranjuje uporabu sintetičkih sredstava, to ne znači striktno da nije dopušteno nikakvo „prskanje“. Moguće je tretiranje loze sredstvima koja jačaju nespecifičnu otpornost biljaka i sustava agroekologije, a nisu izravno usmjerene protiv bolesti i organizama životinjskog podrijetla, kao što su preparati od algi, propolis, mlijeko i proizvodi od sirutke, biljni preparati, homeopatski i biološko-dinamički preparati. Jedna od najznačajnijih mjera u regulaciji bolesti i štetnika u vinogradu obzirom na izraziti monokulturni karakter je povećanje broja i raznolikosti biljnih i životinjskih vrsta pri čemu zatravljivanju pripada počasno mjesto. Prilikom izbora zaštitnih sredstava bitno je odabrati ona koja ne ugrožavaju okoliš otrovnim kemijskim tvarima i ne narušavaju prirodnu ravnotežu u sustavu agroekologije (web 5).

## **2.4. KONVENCIONALNI UZGOJ VINOVE LOZE**

Uspjeh konvencionalne poljoprivrede leži u velikim prinosima koji nastaju uz pomoć mehanizacije, pesticida, mineralnih gnojiva, novostvorenih sorti, te vrlo velikih količina energije. Štoviše, konvencionalna se poljoprivreda potpuno udaljila od osnovnih bioloških procesa. Ako klima nije prikladna za uzgoj pojedine kulture, proizvodnja se provodi u grijanim staklenicima. Ako tlo nije odgovarajuće, moguće ga je zamijeniti s vodom u hidroponskoj proizvodnji prilikom koje biljke ne rastu iz tla nego iz vode s dodanim hranjivima.

Uz industriju i promet, konvencionalna je poljoprivreda najveći onečišćivač okoliša. Uslijed proizvodnje i učestale upotrebe mineralnih gnojiva, pesticida, hormona i veterinarskih preparata dolazi do enormnog onečišćenja okoliša. Osim izravnih onečišćenja, konvencionalna poljoprivreda uzrokuje i smanjenje raznovrsnosti te mogućeg smanjenja flore i faune, erozije, salinizacije tla i eutrofikacije voda. Shodno tome, dolazi do gubitka humusnog sloja, strukture tla te onečišćenja tla pesticidima, teškim metalima i drugim nepoželjnim tvarima. Drastično smanjenje količine humusa te prisutnost teških metala u tlu problemi su koje nije lako riješiti.

Naročito je opasna prisutnost kadmija u tlu. Naime, temeljem studija radnika koje su bili izloženi kadmiju u industrijskim uvjetima putem respiratornog trakta, ovaj je element svrstan u skupinu dokazanih karcinogena za ljude. Naposljetku, teški metali ne dospijevaju u tlo samo primjenom mineralnih gnojiva i pesticida, nego i utjecajem prometa i industrije (Znaor, 1996; Klavec i sur., 2021).

## 2.5. VINO

### 2.5.1. Definicija i podjela vina

Prema Zakonu o vinu (NN 32/2019), vino je poljoprivredno prehrambeni proizvod, dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta od svježeg ili za preradu u vino pogodnog grožđa. Prema ovom Zakonu, groždem se smatra zdrav, zreo, prezreo, prosušen ili prirodno smrznut plod vinove loze poznatih kultura namijenjen proizvodnji vina ili drugih proizvoda od grožđa i vina čiji sok sadrži minimalnu količinu šećera od 64 °Oechsle. Iste zakon kaže da su vina prema kakvoći:

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

*Stolno vino* proizvedeno je od jedne ili više sorti grožđa vinove loze te ne može nositi oznaku sorte.

*Stolna vina s oznakom kontroliranog podrijetla* su vina proizvedena od jedne ili više sorti grožđa koje potječe iz jedne vinogradarske regije. Oznaka kontroliranog podrijetla stolnih vina ustanovljava se za vinogradarsku regiju, podregiju odnosno vinogorje. Punjenje stolnih vina s oznakom kontroliranog podrijetla obavlja se na području regije.

*Kvalitetna vina s oznakom kontroliranog podrijetla* mogu se proizvoditi od jedne ili više preporučenih i dopuštenih sorata vinove loze utvrđenih Pravilnikom o proizvodnji vina (NN 02/2005), koje potječu iz jedne podregije, vinogorja ili položaja čiju oznaku nosi.

*Vrhunska vina s oznakom kontroliranog podrijetla* mogu se proizvoditi od preporučenih sorata vinove loze utvrđenih Pravilnikom, koje potječu iz jednog ili više vinogradarskih položaja u okviru jednog vinogorja. Za proizvodnju vrhunskih vina s kontroliranim podrijetlom dopušta je randman do 60% koji se računa nakon prvog pretakanja.

*Predikatna vina* su ona koja u dobrim godinama i prikladnim uvjetima dozrijevanja grožđa na trsu, a ovisno o postignutom stupnju zrelosti grožđa te vremenu berbe i prerade, postižu posebnu kakvoću.

Predikatna vina su:

- vino kasne berbe proizvedeno od grožđa ubranog u stanju zrelosti i mošta koji sadrži najmanje 94 °Oechsla;
- vino izborne berbe proizvedeno isključivo od posebno izabranog grožđa kojemu mošt sadrži najmanje 105 °Oechsla;
- vino izborne berbe bobica proizvedeno od izabranih, zrelih i plemenitom plijesni napadnutih bobica i mošt koji sadrži najmanje 127 °Oechsla;
- vino izborne berbe prosušenih bobica proizvedeno od izabranih prosušenih bobica i mošt koji sadrži najmanje 154 °Oechsla;
- ledeno vino proizvedeno od grožđa koje je ubrano pri temperaturi od najmanje -7 °C i prerađeno u smrznutom stanju, a mošt kojega sadrži najmanje 127 °Oechsla.

*Arhivska vina* su vina koja su odležala najmanje 5 godina, a od toga 3 godine u boci. Namjeru za arhiviranje proizvođač mora prijaviti Hrvatskom zavodu za vinogradarstvo i vinarstvo prije stavljanja u arhivu.

*Specijalna vina* su vina koja se proizvode posebnim načinom prerade grožđa, mošta ili vina bez dodatka ili s dodatkom vinskog alkohola, vinskog destilata, šećera, koncentriranog mošta i mirisnih ili drugih tvari biljnog podrijetla.

Specijalna vina su:

- likersko vino,
- desertno vino i
- aromatizirano vino.

*Pjenušava vina* su vina koja uz ostale propisane sastojke sadrže i povećanu količinu ugljičnog dioksida, a zbog čega se prilikom otvaranja boce razvija pjena.

Pjenušava vina su:

- prirodno pjenušava vina,
- prirodno biser vino i
- gazirana pjenušava vina.

Vina u užem smislu riječi su:

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

Po boji ih dijelimo na:

- crna,
- bijela i
- ružičasta (rose).

S obzirom na sadržaj neprevrelog šećera mogu biti:

- mirna – suha, polusuha, poluslatka i slatka;
- pjenušava, gazirana i biser – vrlo suha, suha, polusuha, poluslatka i slatka.

### Sorte grožđa

Vinske sorte dijele se na preporučene, dopuštene i privremeno dopuštene sorte. Prema Pravilniku o vinu (NN 96/1996):

1. Preporučene sorte su one od kojih se mogu dobiti vrhunska i kvalitetna vina s oznakom kontroliranog podrijetla;

2. Dopuštene sorte su one koje se posebno ne ističu prilikom proizvodnje vina, ne narušavaju njegovu kvalitetu i nadopunjuju ga u određenim agroekološkim uvjetima;
3. Privremeno dopuštene sorte su one koje su pronađene u nekim vinogorjima na dan stupanja na snagu Pravilnika, a zbog gospodarskih i organoleptičkih svojstava nisu predviđene Pravilnikom. Uzgoj je dopušten samo do biološkog iskorištenja.

Vinogradarsko područje Hrvatske dijeli se na tri regije:

- Istočna kontinentalna Hrvatska,
- Zapadna kontinentalna Hrvatska i
- Primorska Hrvatska.

Najvažnije sorte bijelog grožđa kontinentalne Hrvatske:

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

Najvažnije sorte crnog grožđa kontinentalne Hrvatske:

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

Najvažnije sorte bijelog grožđa primorske Hrvatske:

- grk bijeli,
- pošip bijeli,
- žilavka bijela,
- malvazija istarska bijela,

- maraština bijela,
- žlahtina bijela i
- kujundūša bijela.

Najvažnije sorte crnog grožđa primorske Hrvatske:

- merlot crni,
- plavac mali,
- babić crni,
- teran crni,
- plavina crna,
- cabernet sauvignon crni i
- crljenak.

## 2.5.2. Kemijski sastav vina

### 2.5.2.1. Ugljikohidrati

Udio šećera ovisan je o sorti te okolišnim i vremenskim uvjetima. Šećeri nastaju procesom fotosinteze najvećim dijelom u listu dok se manji dio proizvodi u bobicama.

Prema složenosti dijelimo ih na:

- monosaharide,
- disaharide i
- polisaharide.

Iz skupine monosaharida najveći udio u vinu čine glukoza i fruktoza čiji je omjer tijekom razvoja bobice različit, a tek kada grožđe dosegne tehnološku zrelost taj je omjer izjednačen. Tijekom sazrijevanja u većoj je mjeri prisutna glukoza, a krajem sazrijevanja se taj omjer mijenja u korist fruktoze. Fruktoze u prezrelom grožđu ima nešto više. U zreлом grožđu se količina šećera u prosjeku kreće od 12 do 25%, a najčešće od 17 do 22% (Mirošević i sur., 2009).

### 2.5.2.2. Kiseline

Nastaju prilikom nepotpune oksidacije ugljikohidrata u bobicama grožđa iz kojih prelaze putem mošta u vino. Samo vino je manje kiselosti od mošta jer prilikom vrenja i dozrijevanja u vinu dolazi do reduciranja pojedinih kiselina (Andabak, 2017).

Kiseline u vinu dijele se na organske koje mogu biti hlapive ili nehlapive, anorganske kiseline i na soli raznih kiselina. Jedan od najznačajnijih sastojaka grožđa su organske kiseline koje uglavnom potječu iz grožđa, odakle preko mošta prelaze u vino, a manji dio nastaje u vinu tranzicijom nekih sastojaka mošta prilikom alkoholne fermentacije ili nakon nekog vremena tokom čuvanja vina (Paunović i Daničić, 1976; Zoričić, 1996.).

Organske kiseline grožđa važan su sastojak mošta i vina, a najzastupljenije su: limunska, jantarna, vinska i jabučna. Osnovni kiselni okus daje vinska kiselina. Jabučnu kiselinu nalazimo u svim plodovima voća, neharmonična je okusom za razliku od mliječne u koju se transformira tijekom mliječne fermentacije. Jantarnu kiselinu nalazimo u vrlo malim količinama u grožđu, nastaje kao sekundarni produkt prilikom alkoholnog vrenja (Mirošević i sur., 2009).

Osim organskih, zastupljene su i kiseline koje nastaju alkoholnom fermentacijom, a to su: piruvična, fumarna, mliječna, octena, oksalna i sukcininska kiselina (nema kiselni okus, ima antimikrobno djelovanje i pojačava djelovanje arome) (Pichler, 2016).

### 2.5.2.3. Alkoholi

Najniži sadržaj stvarnog alkohola u vinu koje se stavlja u promet, ovisno od kakvoće i zone proizvodnje, varira između 8,5 i 11,5 vol.% (Pravilnik o vinu, NN 96/1996).

Metanol i etanol su jednovalentni alkoholi koji se nalaze u vinu. Metanol ili metilni alkohol prelazi iz vina u grožđe hidrolizom pektinskih spojeva pomoću pektinesteraze. U vinu se nalazi u vrlo malim količinama i to u:

- crnim vina (oko 150 mg/L),
- ružičastim vinima (oko 90 mg/L) te
- bijelim vinima (oko 60 mg/L).

Za razliku od bijelih, crna vina imaju veći sadržaj metanola zbog dužeg kontakta tekuće faze s krutom prilikom maceracije masulja (Pichler, 2016).

Etanol je glavni proizvod alkoholne fermentacije te drugi po količini zastupljeni spoj nakon vode u vinu. Nastaje alkoholnom fermentacijom prirodnih šećera, a njegova količina ovisi o tome koliko je prisutnog šećera u grožđu i moštu.

Viši alkoholi se u vinima nalaze u vrlo malim količinama, a s kiselinama daju estere koji poboljšavaju kakvoću vina. Njihova koncentracija ovisi o vrsti kvasca, sorti grožđa i uvjetima prerade (Vrdoljak, 2009).

Glavni predstavnici viših alkohola su :



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

Viši alkoholi u koncentraciji do 300 mg/L doprinose razvoju željene arome vina, dok koncentracije veće od 400 mg/L negativno utječu na aromu vina (Pichler, 2016).

#### 2.5.2.4. Esteri

Esteri su organski spojevi koji nastaju esterifikacijom, odnosno reakcijom alkohola i kiselina uz izdvajanje vode. Uglavnom su hlapive tekućine, netopive u vodi, a topive u alkoholu i eteru. Esteri octene kiseline daju svježinu vinu i ugodnog su mirisa, a to su: etil acetat, propil acetat, izopropil acetat, izobutil acetat, izoamil acetat i 2-feniletal acetat (Vrdoljak, 2009).

Postoje dvije grupe estera u vinu: voćni esteri (nastaju tijekom fermentacije) koji daju svjež, voćne arome i esteri koji nastaju tijekom dozrijevanja. S obzirom na to da su vrlo hlapivi, prilikom prve godine dozrijevanja, posebice ako se dozrijevanje odvija u neodgovarajućim uvjetima, njihova koncentracija se znatno smanjuje. Najzastupljeniji ester je etil-acetat koji u količinama do 60 mg/L pridonosi voćnosti, ali u većim količinama i ukoliko je riječ o laganom vinu daje dojam octikavosti (Alpeza, 2008).

#### 2.5.2.5. Tvari arome

Osim što su tvari arome hlapive (hlapivost je uzrokovana evaporacijom ili sublimacijom) vrlo je bitan i njihov intenzitet. Prag osjetljivosti važan je za kvantifikaciju intenziteta arome, a definira se kao minimalna koncentracija stimulansa koju možemo detektirati, razlikovati ili prepoznati, stoga postoje tri različita praga osjetljivosti (Kopjar, 2014).

Arome u vinu, ovisno o njihovom podrijetlu i načinu formiranja možemo podijeliti na:

- primarne (sortne) arome,
- sekundarne (fermentativne) arome i
- tercijarne arome (bouquet) (Ivić i sur., 2021b).

Aromatske tvari u glavnini nalazimo u pokožici dok je manji dio u sjemenci i mesu grožđa. Među njih ubrajamo vrlo lako hlapive spojeve kao što su: alkoholi, esteri, aldehidi, hlapive karboksilne kiseline, eterična ulja, terpeni i tvari nalik smolama i voskovima. Aromatski profil

vina određujemo pomoću instrumentalnih metoda: tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti, plinskom kromatografijom, senzoričkom i analitičkim metodama (Vrdoljak, 2009).

#### **2.5.2.6. Aldehidi i ketoni**

Ekstrakcijom sastojaka koji su podrijetlom iz hrastovih bačvi u vino dospijevaju različiti spojevi arome: aldehidi, ketoni, laktoni i hlapivi fenoli (Pichler, 2016).

Jedan od redovitih sastojaka vina jest acetaldehid (etanal) koji nastaje tijekom alkoholnog vrenja mošta odnosno dekarboksilacijom pirogroždane kiseline. Količina acetaldehida u vinu koje nije sumporeno iznosi od 15 do 390 mg/L, a u sumporenom vinu od 100 do 150 mg/L. Ketoni su znatno manje zastupljeni u vinu, njihova se količina kreće od 40 do 60 mg/L. Najzastupljeniji ketoni su aceton, acetoin i diacetil. Većina ih ima miris po svježem maslacu što u većim količinama uzrokuje nastajanje neugodne užegle arome (Vrdoljak, 2009).

#### **2.5.2.7. Enzimi**

Enzimi su pokretači kemijskih reakcija tijekom proizvodnje vina. U najvažnije enzime ubrajamo saharazu, tanazu, katalazu i pektazu. Invertaza (saharaza) hidrolizira saharozu u fruktozu i glukozu, dok pektaza hidrolizira pektinske tvari na poligalakturonsku kiselinu i metanol. Također, pektaza ima značajnu ulogu prilikom bistrenja vina. Katalazom se oslobađa kisik iz peroksidnih spojeva i time se njihovo toksično djelovanje suzbija. Tanaza katalizira stvaranje taninskih spojeva, a u vino tanaza dospijeva iz plijesni grožđa koje je istrunulo (Vrdoljak, 2009).

#### **2.5.2.8. Fenolni spojevi**

Fenolni spojevi imaju značajnu ulogu u tvorbi organoleptičkih svojstava vina, u procesu stabilizacije i starenja vina. Vrlo lako oksidiraju u dodiru s kisikom. Djelovanjem polifenol oksidaze oksidacija je intenzivnija i dolazi do posmeđivanja vina. Najznačajniji fenolni spojevi su fenolne kiseline i njihovi derivati, flavonoidi, tanini i antocijani koji potječu iz čvrstih dijelova grožđa. Alkoholnom fermentacijom iz masulja se ekstrahiraju fenolni spojevi i prelaze iz mošta u vino (Vrdoljak, 2009).

### 2.5.2.9. Ekstrakt vina

Ukupni suhi ekstrakt vina tvore sve organske i mineralne tvari (pepeo, tanin, glicerol, bojila) nehlapive pod specifičnim fizikalnim uvjetima. Ukupni suhi ekstrakt čine: tvari boje, polifenoli, ugljikohidrati, nehlapive kiseline, viši alkoholi i mineralne tvari (Pichler, 2016).

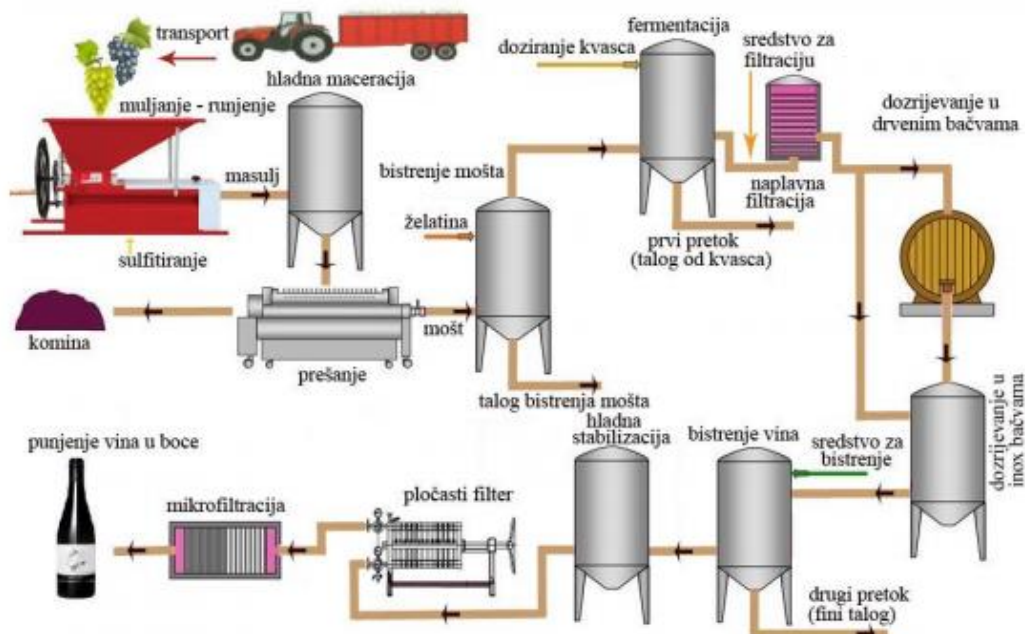
Na temelju količine suhog ekstrakta vino označavamo kao jako puno, puno, prazno. S obzirom na sadržaj alkohola vino može biti:

- slabo – nizak sadržaj alkohola (8 – 10 vol.%);
- lagano – sadržaj alkohola 7 – 9 vol.%;
- srednje jako – sadržaj alkohola 10 – 12 vol.%;
- jako vino – više od 12 vol.%;
- vrlo jako – vino s alkoholom 13 – 14 vol.% (visoki ekstrakt);
- prema količini tanina: trpkasta, trpka i vrlo trpka;
- prema količini ugljičnog dioksida: izvjetreno, svježe mlado vino i resko vino (Mirošević i sur., 2009).

## 2.6. PROIZVODNJA CRNIH VINA

Faze u proizvodnji crnih vina su:

- muljanje - runjanje i punjenje posuda,
- maceracija i alkoholna fermentacija,
- odvajanje mošta od taloga ocjeđivanjem i prešanjem te
- završna alkoholna i eventualno malolaktična fermentacija (Pichler, 2016).



Slika 4 Shematski prikaz proizvodnje crnog vina (web 6)

### Runjanje-muljanje

Prva faza, muljanje, obavlja se na ručnim ili motornim strojevima – muljačama. Cilj je zdrobiti grožđe kako bi sok lakše odvojili od krute faze. Runjačama je poželjno odvojiti peteljku iz razloga što ona sadrži tanine i daje vinu gorčinu. Efekt runjanja bitan je radi promjene koncentracije tanina. Iz istraživanja proizlazi da 54% ukupnih tanina dolazi iz pokožice, 25% iz sjemenke i 21% iz peteljkovine (Pichler, 2016).

Korist peteljkovine, koja čini 3 – 5% grozda očituje se u ravnomjernom vrenju, odnosno ne dolazi do vrenja koje je burno. Ona je kapilarni prolaz za djelomično odvreli mošt prilikom prešanja odvrelog tropa, iz toga proizlazi veći prinos budućeg vina. Budući da centrifugalna sila lomi peteljkovinu i tako negativno utječe na svojstva vina, ne preporučuju se centrifugalne muljače prilikom prerade visoko kvalitetnih sorti. Centrifugalne muljače uzrokuju trganje kožica bobice te time i povećanu količinu taloga u moštu (Mirošević i sur., 2009).

### Maceracija

Maceracija je proces kojim fenolne tvari, tanini, aromatične tvari, mineralne tvari i dr. migriraju iz grožđa u vino. Intenzitet boje se prilikom maceracije smanjuje zbog adsorpcije antocijana za drvenaste dijelove peteljke. Kako bi se ekstrakcija svih fenolnih komponenti provela što uspješnije preporuča se temperatura viša od 30 °C.

Razlikujemo nekoliko načina maceriranja:

- klasična maceracija,
- maceracija zagrijavanjem,
- karbonska maceracija,
- flash ekspanzija i
- delestage (oksidacijom) (Jakobi, 2019).

Vrijeme trajanja maceracije utječe na kakvoću vina. Za vrijeme burnog vrenja, između 4. i 6. dana nastaje najveća količina boje, a od 8. do 10. dana stagnira. Pad intenziteta boje ovisi o apsorpciji od strane čvrstih dijelova grozda. Dio antocijana prelazi u netopivo stanje i taloži se, a taninske tvari tijekom maceracije masulja prelaze u tekući dio. Samo ako je grožđe zrelo i zdravo od njega možemo očekivati maksimum ekstrakcije svih tvari koje sadržavaju meso, kožica i sjemenke bobica, a posebno antocijana. Temperatura također utječe na uspješnost maceracije, posebice na izdvajanje antocijana iz kožice bobice. Ne smije biti previsoka, a idealna je od 20 do 25 °C (Mirošević i sur., 2009).

#### Vrenje masulja

Vrenje većine crnih vina odvija se u inoks cisternama, no i dalje se koriste velike, otvorene drvene kace jer imaju sposobnost zadržavanja topline i izlučivanja boje. Kada se radi o materijalu od kojega je izrađena bačva, neosporno je, da od svih vrsta drveća, hrast daje najbolje rezultate. Američki se hrast smatra robusnijim, no ukoliko se pažljivo preradi u bačve može dati i nježnije note. Kod proizvodnje crnih vina kožice predstavljaju problem jer izrone na površinu te ih se stalno treba potiskivati prema dolje kako se ne bi stvorila kora na površini vina. Iz tog razloga, crno vino obično dozrijeva u bačvama, ali u njima ne fermentira. Moguće je i dodavanje hrastovine u kace ili cisterne tijekom fermentiranja i starenja vina kao i krute ili tekuće taninske proizvode koji su dobiveni iz hrasta, a poboljšavaju vijek trajanja, boju i teksturu vina. Ukoliko vino dugo stari u hrastovim bačvama trebati će manje bistrenja i filtriranja jer će se većina čestica nataložiti prirodnim putem. Bjelančevine, mikroflora vina (kvasci i bakterije), sluzne i taninske tvari mogu izazvati mutnoću vina te je u vino potrebno dodati bistrila. Potrebno je od 7 do 15 dana kako bi se vino izbistriilo. Prilikom bistrenja vina dodajemo svježije bjelanjke, želatinu, gelita klar, kombi gel, bentonit i druge. Najstarije sredstvo za bistrenje vina je bjelance od jajeta. Uzimaju se dva svježja jaja na 100 L vina. Osim alkoholne, crna vina podvrgavaju se i malolaktičnoj fermentaciji jer bi u protivnom bila oporog okusa.

Tijekom malolaktične fermentacije jabučna kiselina prevodi se u mliječnu kiselinu te je time kiselost vina smanjena (Joanna Simon, 2004.; Zoričić, 2013).

### Vinifikatori

Uređaji za provođenje fermentacije i ekstrakcije boje te drugih sastojaka iz kožice. Proizvodnja crnog vina pomoću vinifikatora traje 1 – 2 dana, a boja nastane za 5 – 17 sati. Svrha je brza proizvodnja (niži troškovi) i veći prijam grožđa. Kvaliteta vina je bolja ili jednaka dobivenoj klasičnim postupkom, a vino zadržava tipičnu boju, miris, ekstraktne tvari i okus tj. kažemo da je zadržalo karakteristike kultivara od kojega potječe. Dodatak sumpornog dioksida, dovođenje ili odvođenje topline i dodatak inicijalne količine mošta u vrenju značajno skraćuju postupak vinifikacije te započinje dozrijevanje vina. Mijenjaju se organoleptička svojstva time što se talože novonastali sastojci kao što su vinski kamen, fenolni spojevi i drugi (Mirošević i sur., 2009).

### Otakanje

Otakanje predstavlja odvajanje tekućeg od krutih dijelova masulja (komine). Količina ekstrahiranih i aromatskih tvari, jačina boje te stabilnost ovise o tome koliko dugo traje proces maceracije masulja. Kada govorimo o boji crnih vina poželjna je granat ili crvena boja rubina, dok bi okus trebao biti pun i harmoničan. Ukoliko proizvodimo lagano vino (manji postotak alkohola, svjetlija boja) maceracija traje 3 – 4 dana. Prilikom tako kratke maceracije količina alkohola u trenutku otakanja iznosi 7 – 8 vol.%, a nakon otakanja, u tijeku tihog vrenja iz preostalog šećera stvori se 3 – 4 vol.% alkohola. Takvo vino nije pogodno za odležavanje već je za ranu konzumaciju. S druge strane, ukoliko proizvodimo vino robusne strukture, odnosno vino s velikom količinom tanina i antocijana maceraciju provodimo 8 – 10 dana. Nakon otakanja tiho vrenje traje 15 – 20 dana te nakon smirivanja provodimo hladno otakanje (Mirošević i sur., 2009).

Prije pretakanja vina, točnije dekantiranja, vino može ležati na talogu (ne predugo). Razlikujemo otvoreno (bačva – otvorena posuda – bačva) i zatvoreno pretakanje (bačva – bačva). Otvoreni pretok odvija se u prisustvu zraka, a svrha je odstraniti strane mirise. Prvi pretok, koji je najčešće u studenom, najbolje je obaviti što ranije kako bi vino zadržalo svježinu, okus i miris. Drugi pretok obavlja se u prvom ili drugom mjesecu. Za razliku od otvorenog pretoka, zatvoreni pretok odvija se bez prisustva zraka. Najčešće se primjenjuje kod vina koje

je proizvedeno od bolesnog ili oštećenog grožđa. Kod ovakvog načina pretakanja izbjegavamo oksidaciju aromatičnih i obojenih tvari vina (Jakobi, 2015).

### Tiho vrenje

S obzirom da u vinu u trenutku otakanja ostaje neprevrelog šećera, vrenje nije završeno te se nastavlja bez komine i taloga. Takvo vrenje nazivamo tiho vrenje. Otakanjem vina dolazi do zračenja što pridonosi aktiviranju vinskog kvasca te uklanjanju ugljičnog dioksida i stranih mirisa. Na dnu bačve ostaje talog – soli vinske kiseline, odumrli kvasci i bakterije, pektini, slobodne bjelančevine u sklopu tanina, ferofosfati, malati, ostaci kožice i drugo (Mirošević i sur., 2009).

### Njega mladog vina

Dozrijevanje vina započinje završetkom vrenja. Kroz pore hrastovih bačvi prodire kisik koji utječe na formiranje okusa i mirisa vina. Prilikom esterifikacije dolazi do spajanja alkohola vina i kiselina te nastaju esteri koji sudjeluju u stvaranju bukea vina (tercijarna aroma, miris po voću). Također, malolaktičkom fermentacijom, dolazi do prevođenja vinske u jabučnu kiselinu. Svi ti procesi, uključujući i pretok vina, pridonosi njegovoj njezi. Mlado vino treba čuvati na temperaturi između 12 i 15 °C kako bi se izbjegle promjene uzrokovane oksidacijom, posmeđivanjem ili nastankom bolesti vina (octikavost) (Zoričić, 2013).

## **2.6.1. Cabernet sauvignon**

Cabernet sauvignon je visoko kvalitetna sorta grožđa koja potječe iz Francuske. Nastao je križanjem sorte grožđa sauvignon bijeli i cabernet franc. Ovo grožđe raste u mnogim podregijama Republike Hrvatske: Moslavini, Podunavlju, Prigorju, Plešivici, Slavoniji te u većini vinogorja Primorske Hrvatske. Prve analize ovog vina u Hrvatskoj, potječu iz Poljoprivredne stanice u Poreču, gdje je analizirano sedam uzoraka iz perioda 1879. – 1889., a sadržaj osnovnih sastojaka bio je: alkohol od 11,75 vol.%, ekstrakt 20,44 g/L, ukupne kiseline 7,32 g/L (Zoričić, 2013).

### Botanička svojstva

Cvijet je dvospolan, a list je okrugao, srednje veličine. List može biti peterodijelan, šesterodijelan ili sedmerodijelan. Lice je tamnozeleno boje, a naličje rijetko paučinasto. Plojka je debela, valovita i naborana. Zreo grozd je malen, granat, stožast i na vrhu malo zakrenut, a

peteljka je srednje debela i srednje duga. Bobice su crnomodre boje, male do srednje veličine, okruglog oblika. Meso je sočno, specifičnog okusa i slatkog soka. Rozgva je kestenjaste boje, srednje veličine i srednje dugih članaka (Mirošević i sur.,2009).

#### Fenološki podaci

Što se tiče tla na kojem raste, najviše mu odgovaraju viši brežuljkasti krajevi koji nisu izloženi smrzavicama. Otpornost prema istima je vrlo dobra, dok je prema oidiumu (pepelnici) slaba, a otpornost prema truljenju grožđa i peronospori je bolja. Vrlo dobro podnosi sušu i kišna razdoblja u jesen, ukoliko ona ne traju dugo. Raste razmjerno kasno, otpornost prema cvatu je dobra, a dozrijeva krajem drugog razdoblja (Mirošević i sur., 2009).

#### Iskorištenje

Vina su visokokvalitetna, specifičnog sortnog okusa i mirisa, granatne boje. Dosta jakog okusa, male trpkosti i razmjerno niskih kiselina. Gospodarska vrijednost ovisi o plasmanu dobro odnjegovanih vina u bocama, po cijenama koje mogu izjednačiti manjak mase prinosa. S obzirom na to, cabernet sauvignon tipična je sorta grožđa malih grozdova visoke kakvoće (Mirošević i sur., 2009).



**Slika 5** Grozd sorte Cabernet Sauvignon (web 7)

## **2.7. MEMBRANSKI PROCESI**

Temelje se na primjeni polupropusnih membrana koje imaju selektivnu sposobnost propuštanja odnosno zadržavanja nekih iona i molekula. Ulazna otopina potiskuje se kroz



membranu djelovanjem tlaka i razdvaja se na permeat i retentat. Za razliku od permeata kojeg definiramo kao frakciju koja je sastavljena od svih komponenata početne faze koje su prošle kroz membranu, retentat je skup onih komponenata koje nisu prošle kroz membranu. Postoji niz prednosti primjene membranskih tehnologija u prehrambenoj industriji kao što su: mali troškovi, kontinuirano zadržavanje, minimalna potreba za dodatak aditiva, podesivost sustava, mogućnost rada na sobnoj temperaturi i drugo. S druge strane, neki od nedostataka su: začepljenost pora membrana, kratak radni vijek membrana, potreba za redovnim čišćenjem membrana i drugo. Među najznačajnije membranske procese koji se primjenjuju u prehrambenoj industriji ubrajamo:

- Nanofiltracija (NF) ,
- Ultrafiltracija (UF) ,
- Mikrofiltracija (MF) i
- Reverzna osmoza (RO) (Pichler, 2017).

### Nanofiltracija

Membranski proces, nanofiltracija, na membrani zadržava pored većih i manje molekule kao što su neke od anorganskih soli i manje organske molekule poput šećera, uglavnom monosaharidi i disaharidi. Veličina pora membrana je oko 1 nm. NF membrane su većih pora i imaju veću propusnost od membrana za RO, stoga je potreban manji tlak (Ivić i sur., 2021a). Tlak koji se primjenjuje kod nanofiltracije je od 20 do 40 bara, dok je princip separacije difuzija i otapanje. Membrane za nanofiltraciju propuštaju sitnije organske i anorganske molekule stoga permeat nije čista voda kao što je kod reverzne osmoze. Nanofiltraciju primjenjujemo za dobivanje pitke vode smanjene tvrdoće, bez organskih zagađenja i mikroorganizama, za demineralizaciju vode i koncentriranje otopina šećera i kiseline te za obradu površinskih i voda iz bunara koje imaju visoki udio otopljenih minerala (Pichler, 2016).

Membrane za RO i NF propuštaju vodu otapanjem i molekularnom difuzijom kroz tvar membrane. Otopljene molekule koje membrana zadržava manje su topivosti od vode u tvari membrane i difundiraju puno sporije kroz membranu. RO i NF membrane zadržavaju molekule koje su dovoljno male, a u otopini razvijaju znatan osmotski tlak i imaju dovoljno veliki termodinamički aktivitet te zbog tog razloga zahtijevaju primjenu visokih tlakova kako bi se nadvladao osmotski tlak (Pozderović, 2011).

### Ultrafiltracija

Membranski proces koji se upotrebljava za separaciju koloida, odnosno makromolekula koje imaju relativnu molekularnu masu veću od 500. One se zadržavaju na membrani zbog fizičke veličine, a anorganske soli, manje organske molekule i molekule otapala (vode) prolaze kroz membranu te ih pronalazimo u permeatu. Membrane koje se koriste prilikom ultrafiltracije su asimetrične membrane, a pore su veličine 1 – 100 nm. Debljina membrane iznosi 150  $\mu\text{m}$ , a debljina tankog gustog sloja na površini membrane je 1  $\mu\text{m}$ . Ultrafiltracija se odvija pri tlaku od 1 – 10 bara. U prehrambenoj industriji koristi se prilikom koncentriranja otopina makromolekula (u mljekarstvu), bistrenje tekućina (alkoholna pića i voćni sokovi) i tijekom pročišćavanja otpadnih voda.

### Mikrofiltracija

Proces koji je vrlo sličan klasičnom filtracijskom postupku. To je postupak odvajanja čestica iz dobavne tekućine korištenjem membrana simetrične strukture. Veličina pora mikrofiltracijskih membrana kreće se od 10 – 0,1  $\mu\text{m}$ , a debljina je 10 – 150  $\mu\text{m}$ . Radni tlak koji se primjenjuje vrlo je nizak zbog mikroporozne membrane (<1 bara). Mehanizam sita je princip separacije kod MF. Može doći do opadanja protoka kod filtracije zbog apsorpcije koja uzrokuje začepljenje membrana prilikom nakupljanja čestica na površini membrane. Mikrofiltracija se u prehrambenoj industriji koristi prilikom separacije čestica iz plinova i tekućina koji se koriste prilikom sterilizacije i bistrenja pića, sokova u prehrambenoj industriji, pročišćavanje voda, prilikom prekida fermentacije i za pročišćavanje otpadnih voda (Pichler, 2017).

### Reverzna osmoza

Drugi naziv za reverznu osmozu je hiperfiltracija (HF), proces se koristi prilikom uklanjanja mikromolekularnih otopljenih tvari čije su molekule jednake veličine kao molekule vode. To su anorganski ioni i male organske molekule koje razvijaju značajan osmotski na membrani tijekom filtracijskog procesa. Iz tog razloga se primjenjuju visoki tlakovi (30 – 60 bara) te se time omogućava nadvladavanje osmotskog tlaka nastalog zbog zadržanih čestica (Ivić i sur., 2021b). Veličina pora membrana iznosi 0,1 – 1 nm. Procesi reverzne osmoze primjenjuju se prilikom koncentriranje mlijeka i sirutke (prije uparavanja), u proizvodnji jogurta, za demineralizaciju sirutke, prilikom koncentriranja voćnih sokova (jabuka, naranča, agrumi,

ananas), pigmenta (antocijani, betalaini), u proizvodnji piva (s manjim udjelom alkohola), za koncentriranje rijetkog soka u proizvodnji šećera, za desalinizaciju morske i obradu otpadne vode (Pichler, 2017).

### 2.7.1. Vrste membrana

Membrane su selektivne barijere koje zbog svojih specifičnih svojstava omogućavaju razdvajanje pojedinih sastojaka bez ikakvih kemijskih promjena. Dijelimo ih na biološke i sintetičke membrane. S obzirom na kemijski sastav, geometrijski oblik, fizičku strukturu i mehanizam separacije postoje razne vrste sintetičkih membrana. Membrane su najčešće izrađene od raznih polimera i polimernih derivata, a karakteriziraju ih: odlična selektivna svojstva, bolja kemijska, termička i hidrolitička stabilnost od celuloznih estera, hidrofilni karakter itd. Za izradu polimernih membrana najčešće se primjenjuju: poliakrilonitril, polisulfon, celulozni acetat, polivinilidenfluorid, polietilen i drugi (Mulder, 1996).

S obzirom na kemijski sastav razlikujemo:

- organske (izrađene od organskih polimera) i
- anorganske (izrađene od metala i stakla ili keramike).

S obzirom na geometrijski oblik razlikujemo:

- ravne (planarne) membrane (oblik ravnih, tankih folija),
- cijevne membrane (oblik cijevi),
- kapilarne membrane (oblik kapilarnih cjevčica) i
- membrane u obliku šupljih vlakana (oblik poroznih niti).

S obzirom na fizičku strukturu razlikujemo:

- asimetrične,
- simetrične i
- kompozitne membrane.

S obzirom na mehanizam separacije razlikujemo:

- porozne,
- neporozne i
- membrane s ionskom izmjenom (Mulder, 1996.).

#### 2.7.1.1. Kompozitne membrane

Kompozitna membrane sastoji se od:

- tankog gornjeg površinskog selektivnog sloja,
- mikroporozne podloge i
- poliesterskog tkanja.

Svojstva kompozitnih membrana ponajviše ovise o površinskom selektivnom sloju pa se iz tog razloga konstantno radi na poboljšavanju svojstava tog sloja. Najkritičniji dio membrane je gornji gusti sloj koji ujedno određuje permeabilnost, hidrofobnost, selektivnost i hrapavost površine. Tanki gornji površinski selektivni sloj sastavljen je od umreženih aromatskih poliamida proizvedenih međufaznom polimerizacijom. Na mikroporoznoj podlozi naknadno je lijevan vrlo tanki sloj na gornjoj površini. Podloga može podnijeti vrlo visoke tlakove, debela je, porozna i neselektivna. S obzirom na kemijski sastav kompozitne membrane mogu biti anorganske i organske. Za razliku od organskih, anorganske membrane bolje su termičke i kemijske stabilnosti. Međutim, veliki je nedostatak takvih membrana je krhkost i veća cijena od organskih membrana. Upravo zbog svih navedenih razloga najviše se primjenjuju u kemijskoj industriji prilikom visoko temperaturnih tretmana. Za organske membrane je zbog tehničke primjene izbor polimera vrlo sužen no mogu se koristiti razne vrste polimera (Dolar, 2009).

## 2.8. KROMATOGRFSKE METODE

Fizikalnu metodu separacije prilikom koje su sastojci raspodijeljeni između dviju faza nazivamo kromatografija. Jedna od tih faza je nepokretna odnosno stacionarna faza, a za drugu kažemo da je pokretna faza. U pokretnoj fazi koja može biti tekuća, plinovita ili fluidna pri superkritičnim uvjetima otopljen je uzorak koji se kreće uzduž nepokretne faze koja može biti na plohi koja je ravna ili u koloni.

Prema obliku kromatografske podloge razlikujemo:

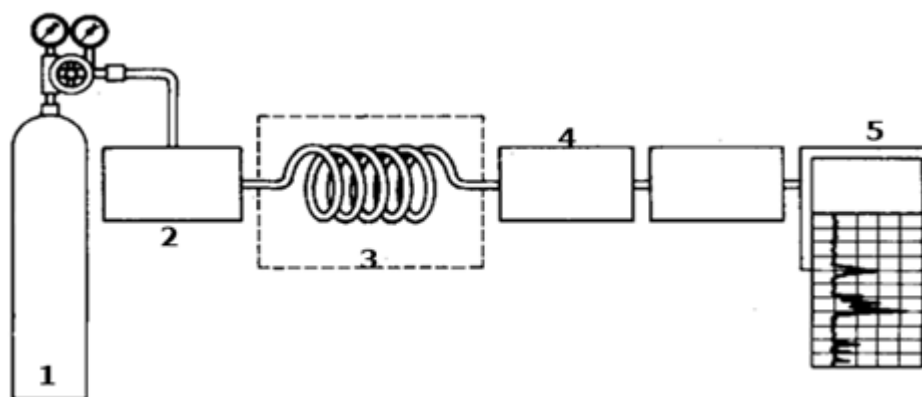
- kolonsku kromatografiju (stacionarna faza je unutar kolone) i
- plošnu kromatografiju (stacionarna faza je ploha ili se nanosi na plohu).

S obzirom na tipove mobilnih i stacionarnih faza kromatografiju dijelimo na:

- plinsku kromatografiju (GC),
- tekućinsku kromatografiju (LC; HPLC) i
- fluidnu pri superkritičnim uvjetima (Primorac, 2007).

### 2.8.1. Plinska kromatografija

Plinska kromatografija je tehnika koja za pokretnu fazu ima plin. Na početak kolone injektira se uzorak koji ujedno tamo i isparava. Protokom inertnog plina koji služi kao mobilna faza vrši se proces eluiranja. Sastojci će se na kromatografskoj koloni razdvojiti ovisno o razlici u njihovoj hlapivosti. Plin nositelj koristi se samo kao sredstvo za transport te između njega i analiziranih komponenata nema interakcija. S obzirom na to da plin nositelj mora biti kemijski inertan, koriste se vodik, dušik i helij. Izbor plina ovisi o tipu detektora koji se upotrebljava. Protoci plina reguliraju se pomoću dvostupanjskog regulatora tlaka na plinskoj boci i regulatora tlaka koji je postavljen na uređaju. Ukoliko je injektiranje uzoraka sporo, rezultat je slabo razdvajanje komponenata uzorka. Uzorak se najčešće injektira pomoću mikrošprice za injekciju tekućeg ili plinovitog uzorka kroz silikonsku gumu na početnom dijelu kolone prilikom čega dolazi do raspršivanja i isparavanja uzorka. Kako bi se isparavanje uzorka provelo u potpunosti temperatura bi trebala biti za otprilike 50°C viša od temperature vrelišta one komponente uzorka koja je najslabije hlapiva (Primorac, 2007).



**Slika 6** Prikaz plinske kromatografije (web 8): izvor stalne struje plina nositelja tj. boca ili generator (1), injektor (2), kromatografska kolona (3), detektor (4) i pisač – integrator – računalo (5).

Potrebna je kontrola temperature kolone kako bi se komponente razdvojile. Ovisno o željenom stupnju separacije komponenata i točki vrelišta uzorka prilagođavamo optimalnu temperaturu za svaku pojedinu analizu. Rezultate koji su zadovoljavajući daje temperatura jednaka ili malo viša od prosječne točke vrelišta uzorka te analiza u vremenskom razmaku od 2 do 30 minuta. Temperatura je vođena programski ukoliko je širok raspon točki komponenata uzorka, samim time se temperatura analize povisuje od početka prema kraju. Prilikom plinske kromatografije upotrebljavani su deseci različitih detektora.

Detekcija se temeljiti na:

- toplinskoj vodljivosti,
- plamenoj ionizaciji,
- radioaktivnoj ionizaciji,
- fotoionizaciji,
- elektrolitičkoj vodljivosti,
- kemijskim reakcijama,
- IR i UV spektrofotometriji i
- spektrometriji masa (Primorac, 2007).

S obzirom na selektivnost detektori mogu biti:

- selektivni – plameno ionizacijski, plameno fotometrijski, detektor elektrolitičke vodljivosti, alkalijski plameno-ionizacijski, detektor zahvata elektrona i fotoionizacijski detektor te
- univerzalni – detektor toplinske vodljivosti

### 2.8.2. Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi

Pawliszyn i Zhang su 1993. godine razvili tehniku pripreme uzoraka koja se naziva mikroekstrakcija na čvrstoj fazi odnosno SPME (eng. *solid-phase microextraction*) tehnika. Ova se tehnika počela primjenjivati kod pripreme različitih tekućih i čvrstih uzoraka kao što su: pivo, med, ulje i voće. SPME metodu čine dvije faze. Prva faza je adsorpcija, a druga desorpcija. Obje faze trebaju biti optimizirane za uspješan postupak. Temperatura i vrijeme su čimbenici koji utječu na desorpciju, dok su: ionska jakost, temperatura ekstrakcije, tip uzorka, vrijeme ekstrakcije, pH uzorka i mućkanje uzorka čimbenici koji utječu na ekstrakciju. SPME tehnika zahtjeva minimalnu manipulaciju uzoraka, ekonomski je prihvatljiva i brza metoda. Upravo se zbog svih tih karakteristika koristi za analizu vina i ostalih alkoholnih pića te široke lepeze hrane. Pomoću SPME metode moguće je otkrivanje tragova aroma koje se ne mogu prepoznati konvencionalnom ekstrakcijom tekuće-tekuće (Vrdoljak, 2009).

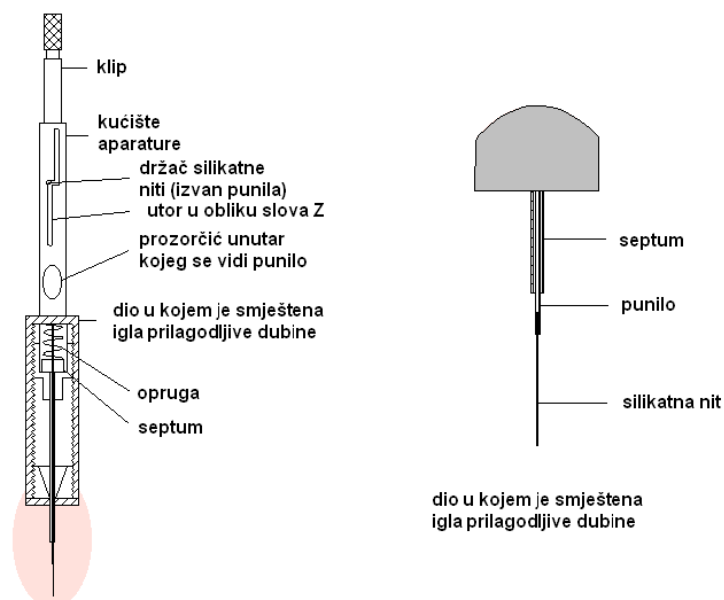
#### Uzorkovanje

Uzorci koji se analiziraju plinskom kromatografijom prethodno se pune u takozvane bočice za automatsko uzorkovanje. Takve bočice zapečaćene su poklopcem. Za uzorkovanje, SPME igla

se probija kroz septum u bočicu za uzorak. Takva igla slična je normalnoj kanili jer je također izrađena od čelika koji je nehrđajući. Naime, ona ne služi za uklanjanje ili ubrizgavanje tekućine, već pomaže prilikom prodiranja u septum. Uzorak se može uzeti izravno iz tekuće ili iz plinske faze iznad tekućine (web 9)

### Desorpcija

Nakon ekstrakcije analita iz tekućeg uzorka slijedi desorpcija kako bi se analiti oslobodili iz obloženih vlakana igle SPME. Ovisno o izboru željene analitičke metode, prikladne su različite metode. Ako se uzorak analizira plinskom kromatografijom, desorpcija se može provesti bez daljnjih međukoraka unutar ulaznog uzorka plinskog kromatografa. U tom se slučaju koristi takozvana toplinska desorpcija, pomoću visoke temperature unutar kromatografa za otapanje adsorbiranih molekula analita iz vlakana i njihovo pretvaranje u plinsku fazu. Koraci toplinske desorpcije analita i prijenosa u plinsku fazu radi plinsko-kromatografske separacije su povezani i na taj način se izbjegava ili barem smanjuje gubitak analita. Adsorbirane molekule analita također se mogu otopiti iz vlakana uz pomoć otapala. Ova se metoda koristi ako će se kasnije provesti analiza HPLC-om (tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti) (web 9).



**Slika 7** Shematski prikaz SPME aparature (web 10)

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**



### 3.1. ZADATAK

Istražiti utjecaj nanofiltracija na koncentriranje vina, odnosno utjecaj tlaka i temperature na zadržavanje tvari arome u koncentratima dobivenim koncentriranjem ekološkog i konvencionalnog vina Cabernet Sauvignon pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom i bez primjene hlađenja. Pokuse provesti na uređaju LabUnit M20 s pločastim modulom te primjenom membrana tipa Alfa Laval NF M20.

### 3.2. MATERIJAL I METODE

#### 3.2.1. Priprema koncentriranog vina Cabernet Sauvignon

U istraživanju je korišteno konvencionalno i ekološko vino Cabernet Sauvignon. Nakon provedenog postupka koncentriranja nanofiltracijom proučavani su aromatični spojevi u vinskim koncentratima te uspoređivani s aromatičnim spojevima u početnim uzorcima konvencionalnog i ekološkog vina. Prilikom koncentriranja vina procesom nanofiltracije korištene su kompozitne membrane tipa Alfa Laval NF M20. Porozni sloj kod nanofiltracijskih membrana izrađen je od poliestera. Membranske karakteristike navedene su u **Tablici 1**. Upotrijebljeno je šest kompozitnih membrana koje su složene u pločasti modul, ukupne površine 0,1736 m<sup>2</sup> (površina jedne membrane iznosi 0,02893 m<sup>2</sup>).

**Tablica 1** Karakteristike NF M20 membrana

Tip membrane	NF M20
Proizvođač	Alfa Laval Danska
Materijal	poliamid
$R_{MgSO_4}$	> 0,99
Maksimalna radna temperatura	50
Maksimalni radni tlak (bar)	55
Dozvoljeni pH interval	3 – 10

**Slika 8** prikazuje laboratorijski uređaj za nanofiltraciju LabUnit M20 danske tvrtke Dow Danmark Separation Systems De Danske Sukkerfabrikker, Kopenhagen. Uređaj je opremljen pločastim modulom s membrane tipa Alfa Laval NF M20.



**Slika 8** Uređaj LabUnit M20 (Smiljanić, 2013)

Početna temperatura vina u tanku prilikom svih pokusa iznosila je 15 °C. Ulazni volumen vina iznosio je 3 L. Koncentriranje je provedeno pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom i bez primjene hlađenja. Prilikom eksperimenta vino je koncentrirano do maksimalnog volumena koncentrata koji se mogao dobiti i iznosio je 1 L. Svake 4 minute bilježio se volumen permeata, temperatura uzorka u tanku (ukoliko se radilo o postupku s primjenom hlađenja bilježila se i temperatura rashladnog sredstva). Tijekom pokusa s hlađenjem koristila se pokretna rashladna jedinica priključena na izmjenjivač topline uređaja za membransku filtraciju. Voda se koristila kao rashladno sredstvo.

### **3.2.2. Analiza tvari arome**

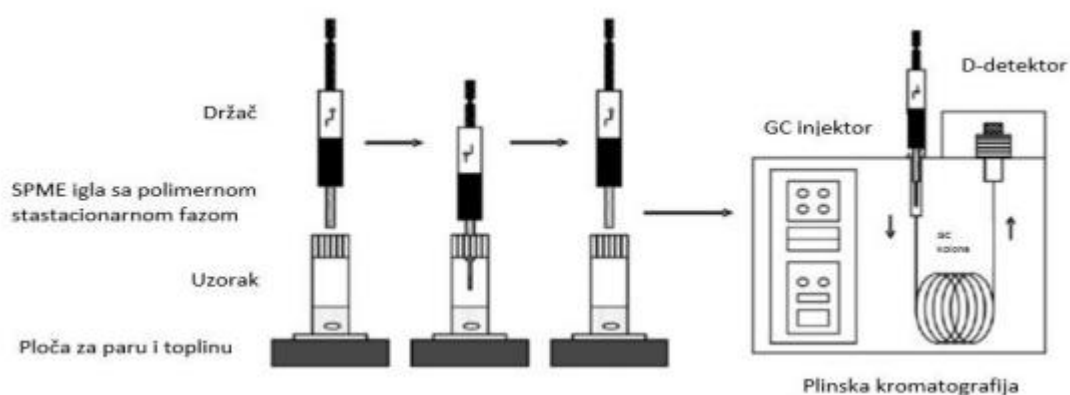
#### Priprema uzorka za analizu primjenom SPME

Tijekom pripremanja uzorka korištena je SPME metoda odnosno tehnika mikroekstrakcije na čvrstoj fazi. Prilikom primjene ove metode potrebna je SPME aparatura. Temelj SPME aparature jest igla unutar koje se nalazi vlakno na koje se adsorbiraju aromatične tvari. Vlakno koje se koristilo sadržavalo je punilo od polidimetilsiloksana/divinilbenzena debljine 65 µm.

#### Postupak pripreme

U vijalu od 10 mL se doda 5 mL uzorka i 1 g NaCl kako bi adsorpcija aromatičnih tvari bila uspješnija. Prije nego li se bočica hermetički zatvori teflonskim čepom, u nju se ubaci magnet

i postavi u vodenu kupelj. Prilikom stalnog miješanja uzorka magnetskom miješalicom, aromatični sastojci adsorbiraju se na polimernu stacionarnu fazu unutar igle. Prije ispuštanja igle u nadprostor uzorka, uzorak se 5 minuta miješa na vodenoj kupelji (40 °C) zbog zasićenja nadprostora u svrhu što uspješnije adsorpcije aromatičnih tvari. Adsorpcija se provodi na temperaturi od 40 °C i traje 45 minuta. Po završetku adsorpcije, igla s adsorbiranim sastojcima postavi se u injektor plinskog kromatografa. Zatim slijedi toplinska desorpcija (**Slika 9**). Određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka odrađeno je primjenom instrumentalne plinske kromatografije. U radu je korišten plinski kromatograf tvrtke Agilent 7890 B s maseno selektivnim detektorom Agilent 5977.



**Slika 9** Uzorkovanje i analiza primjenom SPME metode (Popović, 2019)

### Uvjeti rada plinskog kromatografa

#### Parametri ekstrakcije:

- Vrijeme ekstrakcije: 45 min,
- Temperatura ekstrakcije: 40 °C,
- Tip vlakna: 65 µm polidimetilsiloksan/divinilbenzen (PDMS/DVB), Supelco, USA.

#### GC – MS analitički uvjeti:

- Kolona: HP-5MS; 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, Agilent, USA,
- Početna temperatura: 40 °C (zadržano 10 min),
- Temperaturni gradijent: do 120 °C – 3 °C/min, zatim do 250 °C – 10 °C/min,
- Plin nositelj: helij (čistoće 5,0) s protokom 1 mL/min,
- 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.

#### Određivanje sastojaka arome

Komponente vina identificirane su na osnovu njihovih spektara masa i na osnovi njihovih vremena zadržavanja tj. 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. S Obzirom na to da su spektri masa komponenata vina vrlo slični i ovisni 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 – C30 priređena u laboratoriju prema istim uvjetima analize. Određena su vremena zadržavanja pojedinih ravnolančanih ugljikovodika te su izračunati retencijski indeksi komponenata vina prema jednadžbi:

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

gdje je:

l – retencijski indeks zadržavanja,

n – broj ugljikovih atoma u manjem n-alkanu,

N – broj ugljikovih atoma u većem n-alkanu,

t'<sub>r</sub> – vrijeme zadržavanja.

Dobiveni retencijski indeksi uspoređeni su s literaturom za dodatnu potvrdu identifikacije komponenata. Kao interni standard za kvantifikaciju spojeva korišten je mirtenol.

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

## 4.1. TABLIČNI PRIKAZ ANALIZOM DOBIVENIH REZULTATA

**Tablica 2** Kemijski sastav i koncentracija pojedinih sastojaka u uzorku konvencionalnog vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenih postupkom nanofiltracije s hlađenjem i bez hlađenja

	Etanol (vol.%)	Glicerol (g/L)	Gustoća (g/L)	Slobodni SO <sub>2</sub> (mg/L)	Ukupni SO <sub>2</sub> (mg/L)	Šećeri (g/L)	CO <sub>2</sub> (g/L)
PKV	13,74 ± 0,01	9,70 ± 0,10	0,9946 ± 0,0003	12,80 ± 0,01	43,52 ± 0,01	4,10 ± 0,10	232,61 ± 0,12
NF25H	5,65 ± 0,01	4,80 ± 0,20	1,0024 ± 0,0003	11,52 ± 0,01	46,08 ± 0,02	3,00 ± 0,20	206,18 ± 0,11
NF35H	5,87 ± 0,04	5,10 ± 0,10	1,0026 ± 0,0002	11,52 ± 0,01	48,64 ± 0,03	3,20 ± 0,10	195,23 ± 0,09
NF45H	5,77 ± 0,06	5,10 ± 0,10	1,0026 ± 0,0001	10,24 ± 0,01	40,96 ± 0,03	3,20 ± 0,10	171,28 ± 0,21
NF55H	6,16 ± 0,07	5,80 ± 0,10	1,0030 ± 0,0003	10,24 ± 0,01	44,80 ± 0,04	3,40 ± 0,30	148,59 ± 0,17
NF25BH	5,66 ± 0,02	4,90 ± 0,10	1,0027 ± 0,0002	11,52 ± 0,01	44,80 ± 0,02	3,30 ± 0,20	145,66 ± 0,24
NF35BH	5,81 ± 0,02	5,10 ± 0,10	1,0029 ± 0,0001	11,52 ± 0,01	46,08 ± 0,01	3,30 ± 0,10	145,89 ± 0,16
NF45BH	5,66 ± 0,01	5,10 ± 0,20	1,0030 ± 0,0003	10,24 ± 0,01	42,24 ± 0,01	3,40 ± 0,20	143,90 ± 0,35
NF55BH	6,30 ± 0,07	5,90 ± 0,10	1,0030 ± 0,0003	10,24 ± 0,01	42,24 ± 0,01	3,30 ± 0,20	146,25 ± 0,33
	Ukupne kiseline (g/L)	Hlapive kiseline (g/L)	Jabučna kiselina (g/L)	Mliječna kiselina (g/L)	Limunska kiselina (g/L)	Sorbinska kiselina (g/L)	Vinska kiselina (g/L)
PKV	4,90 ± 0,10	0,90 ± 0,10	0,80 ± 0,10	2,10 ± 0,10	0,29 ± 0,01	132,00 ± 0,10	0,70 ± 0,20
NF25H	3,10 ± 0,30	0,40 ± 0,10	0,40 ± 0,20	1,00 ± 0,20	0,19 ± 0,02	2,00 ± 0,10	0,70 ± 0,10
NF35H	3,40 ± 0,10	0,40 ± 0,10	0,30 ± 0,10	1,10 ± 0,10	0,17 ± 0,01	8,00 ± 0,10	0,80 ± 0,20
NF45H	3,40 ± 0,10	0,40 ± 0,10	0,30 ± 0,10	1,10 ± 0,10	0,18 ± 0,02	7,00 ± 0,10	0,80 ± 0,20
NF55H	3,60 ± 0,30	0,50 ± 0,10	0,30 ± 0,10	1,20 ± 0,20	0,15 ± 0,03	22,00 ± 0,10	0,90 ± 0,20
NF25BH	3,40 ± 0,10	0,40 ± 0,10	0,30 ± 0,20	1,00 ± 0,10	0,15 ± 0,02	17,00 ± 0,10	0,90 ± 0,20
NF35BH	3,40 ± 0,10	0,40 ± 0,10	0,30 ± 0,20	1,10 ± 0,10	0,17 ± 0,01	14,00 ± 0,10	0,80 ± 0,10
NF45BH	3,30 ± 0,20	0,40 ± 0,10	0,30 ± 0,10	1,00 ± 0,10	0,18 ± 0,01	6,00 ± 0,10	0,70 ± 0,20
NF55BH	3,50 ± 0,30	0,50 ± 0,10	0,30 ± 0,10	1,30 ± 0,30	0,14 ± 0,03	32,00 ± 0,10	0,60 ± 0,20

\*PKV-početno konvencionalno vino; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja

**Tablica 3** Kemijski sastav i koncentracija pojedinih sastojaka u uzorku ekološkog vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenih postupkom nanofiltracije s hlađenjem i bez hlađenja

	Etanol (vol.%)	Glicerol (g/L)	Gustoća (g/L)	Slobodni SO <sub>2</sub> (mg/L)	Ukupni SO <sub>2</sub> (mg/L)	Šećeri (g/L)	CO <sub>2</sub> (g/L)
PEV	13,53 ± 0,02	9,30 ± 0,20	0,9946 ± 0,0002	12,80 ± 0,01	43,52 ± 0,01	4,10 ± 0,10	444,64 ± 0,22
NF25H	5,63 ± 0,01	4,70 ± 0,10	1,0028 ± 0,0001	11,52 ± 0,01	47,36 ± 0,01	3,90 ± 0,10	160,15 ± 0,13
NF35H	5,89 ± 0,09	5,20 ± 0,10	1,0030 ± 0,0003	11,52 ± 0,01	49,92 ± 0,03	3,90 ± 0,20	148,59 ± 0,11
NF45H	5,66 ± 0,14	5,00 ± 0,20	1,0026 ± 0,0003	11,52 ± 0,01	49,92 ± 0,03	3,80 ± 0,20	147,23 ± 0,22
NF55H	5,95 ± 0,06	5,10 ± 0,30	1,0026 ± 0,0003	10,24 ± 0,01	49,92 ± 0,04	3,80 ± 0,20	147,10 ± 0,25
NF25BH	5,11 ± 0,04	4,00 ± 0,30	1,0027 ± 0,0002	10,24 ± 0,01	46,08 ± 0,02	4,00 ± 0,10	144,06 ± 0,09
NF35BH	5,58 ± 0,05	4,70 ± 0,20	1,0026 ± 0,0002	10,24 ± 0,01	46,08 ± 0,01	3,80 ± 0,20	142,68 ± 0,13
NF45BH	5,76 ± 0,05	5,10 ± 0,10	1,0031 ± 0,0003	10,24 ± 0,01	46,08 ± 0,01	4,10 ± 0,10	142,68 ± 0,24
NF55BH	6,10 ± 0,08	5,60 ± 0,20	1,0030 ± 0,0002	10,24 ± 0,01	43,52 ± 0,01	4,00 ± 0,20	142,68 ± 0,17
	Ukupne kiseline (g/L)	Hlapive kiseline (g/L)	Jabučna kiselina (g/L)	Mliječna kiselina (g/L)	Limunska kiselina (g/L)	Sorbinska kiselina (g/L)	Vinska kiselina (g/L)
PEV	5,10 ± 0,10	0,90 ± 0,10	0,60 ± 0,10	1,80 ± 0,10	0,31 ± 0,01	47,00 ± 0,10	0,70 ± 0,10
NF25H	3,30 ± 0,10	0,40 ± 0,10	0,20 ± 0,10	0,80 ± 0,10	0,22 ± 0,01		0,80 ± 0,20
NF35H	3,60 ± 0,30	0,40 ± 0,10	0,20 ± 0,10	0,90 ± 0,10	0,20 ± 0,02		0,80 ± 0,10
NF45H	3,40 ± 0,10	0,40 ± 0,10	0,20 ± 0,10	0,80 ± 0,10	0,23 ± 0,02		0,70 ± 0,20
NF55H	3,50 ± 0,20	0,40 ± 0,10	0,20 ± 0,10	0,90 ± 0,10	0,22 ± 0,01		0,80 ± 0,10
NF25BH	3,10 ± 0,30	0,30 ± 0,10	0,30 ± 0,10	0,60 ± 0,30	0,24 ± 0,02		0,70 ± 0,20
NF35BH	3,30 ± 0,10	0,40 ± 0,10	0,20 ± 0,10	0,70 ± 0,20	0,22 ± 0,01		0,70 ± 0,20
NF45BH	3,50 ± 0,20	0,40 ± 0,10	0,20 ± 0,10	0,80 ± 0,20	0,20 ± 0,03		0,80 ± 0,10
NF55BH	3,60 ± 0,30	0,40 ± 0,10	0,10 ± 0,10	0,90 ± 0,10	0,19 ± 0,03		0,80 ± 0,10

\*PEV – početno ekološko vino; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja

**Tablica 4** Retencijski indeks i sadržaj kiselina ( $\mu\text{g/L}$ ) identificiranih u početnom uzorku konvencionalnog vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije s hlađenjem i bez hlađenja

Kiseline ( $\mu\text{g/L}$ )	PKV	NF25H	NF35H	NF45H	NF55H	NF25BH	NF35BH	NF45BH	NF55BH	RI
Octena kiselina	394,1 $\pm$ 3,2									622
Oktanska kiselina	394,1 $\pm$ 5,3	136,9 $\pm$ 0,9	187,1 $\pm$ 2,5	205,5 $\pm$ 5,1	224,9 $\pm$ 2,3	106,8 $\pm$ 0,5	154,2 $\pm$ 2,3	167,1 $\pm$ 2,2	183,2 $\pm$ 2,2	1199
Dekanska kiselina	341,6 $\pm$ 1,5	85,1 $\pm$ 2,3	104,8 $\pm$ 2,2	112,6 $\pm$ 1,7	124,5 $\pm$ 0,9	85,0 $\pm$ 2,1	99,8 $\pm$ 0,7	106,9 $\pm$ 3,1	114,3 $\pm$ 2,4	1376
Laurinska kiselina	172,4 $\pm$ 0,1	16,5 $\pm$ 0,5	32,4 $\pm$ 0,4	35,8 $\pm$ 0,9	37,5 $\pm$ 0,9	21,1 $\pm$ 0,1	20,7 $\pm$ 1,0	30,9 $\pm$ 0,4	38,6 $\pm$ 1,2	1556
Miristinska kiselina	45,7 $\pm$ 0,7	12,2 $\pm$ 0,5	12,0 $\pm$ 0,3	14,2 $\pm$ 0,2	18,1 $\pm$ 0,6	10,6 $\pm$ 0,2	10,6 $\pm$ 0,1	12,1 $\pm$ 0,1	14,1 $\pm$ 0,1	1749
Palmitinska kiselina	22,0 $\pm$ 0,1	1,9 $\pm$ 0,1	2,5 $\pm$ 0,1	3,8 $\pm$ 0,1	4,3 $\pm$ 0,2	1,5 $\pm$ 0,1	1,9 $\pm$ 0,1	3,1 $\pm$ 0,1	3,5 $\pm$ 0,1	2004

\*PKV – početno konvencionalno vino; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja; RI- retencijski indeks

**Tablica 5** Retencijski indeks i sadržaj alkohola ( $\mu\text{g/L}$ ) identificiranih u početnom uzorku konvencionalnog vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije s hlađenjem i bez hlađenja

Alkoholi ( $\mu\text{g/L}$ )	PKV	NF25H	NF35H	NF45H	NF55H	NF25BH	NF35BH	NF45BH	NF55BH	RI
Izoamilni alkohol	7153,2 $\pm$ 24,6	2384,8 $\pm$ 9,5	2739,2 $\pm$ 33,4	3191,4 $\pm$ 38,1	3767,3 $\pm$ 18,7	1587,0 $\pm$ 14,6	2612,1 $\pm$ 13,3	2684,1 $\pm$ 18,8	2891,3 $\pm$ 11,2	734
But-2,3-diol	507,2 $\pm$ 0,8	12,1 $\pm$ 0,4	12,6 $\pm$ 0,5	29,6 $\pm$ 0,3	57,3 $\pm$ 0,1		11,5 $\pm$ 0,2	20,7 $\pm$ 0,2	42,7 $\pm$ 0,8	804
Heksan-1-ol	868,4 $\pm$ 8,0	52,4 $\pm$ 0,1	70,2 $\pm$ 0,4	77,8 $\pm$ 1,2	87,0 $\pm$ 1,3	44,9 $\pm$ 0,4	51,1 $\pm$ 0,9	51,6 $\pm$ 0,1	53,0 $\pm$ 0,4	868
Metionol	45,9 $\pm$ 1,2	24,0 $\pm$ 0,3								981
Benzilni alkohol	48,6 $\pm$ 0,1									1037
Oktan-1-ol	57,0 $\pm$ 0,1	35,9 $\pm$ 0,5	36,2 $\pm$ 0,4	37,7 $\pm$ 0,9	42,1 $\pm$ 1,0	31,3 $\pm$ 0,2	32,8 $\pm$ 0,1	31,6 $\pm$ 0,3	35,8 $\pm$ 0,8	1071
2-feniletanol	4418,3 $\pm$ 26,0	1254,1 $\pm$ 37,3	1136,7 $\pm$ 1,2	1196,7 $\pm$ 11,2	1260,9 $\pm$ 22,7	979,7 $\pm$ 32,3	1184,0 $\pm$ 16,2	1189,6 $\pm$ 15,4	1248,5 $\pm$ 28,1	1103
Dodekanol	113,8 $\pm$ 1,7	66,6 $\pm$ 0,6	89,3 $\pm$ 3,0	94,1 $\pm$ 1,2	111,6 $\pm$ 1,1	58,5 $\pm$ 0,8	74,9 $\pm$ 1,2	91,1 $\pm$ 1,0	93,4 $\pm$ 0,1	1469

\*PKV – početno konvencionalno vino; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja; RI- retencijski indeks



**Tablica 6** Retencijski indeks i sadržaj karbonilnih spojeva ( $\mu\text{g/L}$ ) identificiranih u početnom uzorku konvencionalnog vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije s hlađenjem i bez hlađenja

Karbonilni spojevi ( $\mu\text{g/L}$ )	PKV	NF25H	NF35H	NF45H	NF55H	NF25BH	NF35BH	NF45BH	NF55BH	RI
4-propilbenzaldehyd	21,2 $\pm$ 0,6	4,3 $\pm$ 0,1	12,4 $\pm$ 0,7	13,1 $\pm$ 0,2	17,7 $\pm$ 0,1	8,5 $\pm$ 0,1	10,5 $\pm$ 0,1	11,5 $\pm$ 0,5	15,3 $\pm$ 0,1	1261
Geranil aceton	24,4 $\pm$ 0,2	13,7 $\pm$ 0,1	14,1 $\pm$ 0,7	15,2 $\pm$ 0,2	17,0 $\pm$ 0,3	13,3 $\pm$ 0,2	13,3 $\pm$ 0,4	15,2 $\pm$ 0,7	15,8 $\pm$ 0,2	1448
Lili aldehid	19,9 $\pm$ 1,1	11,4 $\pm$ 0,6	10,3 $\pm$ 0,3	10,5 $\pm$ 0,1	11,0 $\pm$ 0,4	6,5 $\pm$ 0,4	8,3 $\pm$ 0,3	9,5 $\pm$ 0,3	8,7 $\pm$ 0,1	1517
Heksilcinamaldehyd	15,8 $\pm$ 0,1	8,6 $\pm$ 0,1	9,5 $\pm$ 0,1	10,6 $\pm$ 0,1	11,6 $\pm$ 0,3	7,2 $\pm$ 0,2	8,6 $\pm$ 0,4	9,0 $\pm$ 0,2	8,8 $\pm$ 0,3	1738

\*PKV – početno konvencionalno vino; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja; RI- retencijski indeks

**Tablica 7** Retencijski indeks i sadržaj terpena ( $\mu\text{g/L}$ ) identificiranih u početnom uzorku konvencionalnog vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije s hlađenjem i bez hlađenja

Terpeni ( $\mu\text{g/L}$ )	PKV	NF25H	NF35H	NF45H	NF55H	NF25BH	NF35BH	NF45BH	NF55BH	RI
$\alpha$ -terpinolen	87,3 $\pm$ 2,9	32,2 $\pm$ 1,2	32,9 $\pm$ 1,1	37,3 $\pm$ 1,3	37,0 $\pm$ 0,4	26,7 $\pm$ 1,0	32,0 $\pm$ 0,8	32,3 $\pm$ 0,2	36,8 $\pm$ 0,2	1092
$\beta$ -citronelol	20,6 $\pm$ 0,2	11,5 $\pm$ 0,1	12,2 $\pm$ 0,2	12,7 $\pm$ 0,2	13,1 $\pm$ 0,2	9,1 $\pm$ 0,1	10,4 $\pm$ 0,4	10,4 $\pm$ 0,2	10,5 $\pm$ 0,1	1223
$\beta$ -damascenon	48,0 $\pm$ 0,8	15,6 $\pm$ 0,1	14,8 $\pm$ 0,3	15,0 $\pm$ 0,2	18,6 $\pm$ 0,1	9,9 $\pm$ 0,1	13,3 $\pm$ 0,3	13,2 $\pm$ 0,4	13,9 $\pm$ 0,5	1377
$\beta$ -jonon	31,7 $\pm$ 1,1	8,6 $\pm$ 0,1	11,4 $\pm$ 0,3	16,1 $\pm$ 0,5	18,0 $\pm$ 0,2	7,8 $\pm$ 0,3	11,5 $\pm$ 0,3	15,8 $\pm$ 0,1	17,6 $\pm$ 0,2	1476
Fenantren	6,8 $\pm$ 0,1	3,7 $\pm$ 0,1	4,0 $\pm$ 0,1	4,1 $\pm$ 0,1	5,6 $\pm$ 0,3	2,7 $\pm$ 0,1	3,5 $\pm$ 0,1	3,9 $\pm$ 0,1	4,8 $\pm$ 0,1	1772

\*PKV – početno konvencionalno vino; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja; RI- retencijski indeks

**Tablica 8** Retencijski indeks i sadržaj hlapivih fenola ( $\mu\text{g/L}$ ) identificiranih u početnom uzorku konvencionalnog vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije s hlađenjem i bez hlađenja

Hlapivi fenoli ( $\mu\text{g/L}$ )	PKV	NF25H	NF35H	NF45H	NF55H	NF25BH	NF35BH	NF45BH	NF55BH	RI
4-etilfenol	111,0 $\pm$ 1,1		4,2 $\pm$ 0,1	4,5 $\pm$ 0,1	5,8 $\pm$ 0,4	4,0 $\pm$ 0,1	4,7 $\pm$ 0,1	4,9 $\pm$ 0,2	4,8 $\pm$ 0,1	1166
4-etilgvajakol	139,7 $\pm$ 1,5	5,1 $\pm$ 0,1	7,7 $\pm$ 0,1	7,6 $\pm$ 0,1	9,2 $\pm$ 0,2	5,1 $\pm$ 0,1	7,2 $\pm$ 0,1	7,5 $\pm$ 0,1	8,4 $\pm$ 0,3	1268
2,4-Di-tert-butil-fenol	579,9 $\pm$ 8,1	319,4 $\pm$ 7,0	355,7 $\pm$ 1,6	373,1 $\pm$ 1,7	449,3 $\pm$ 5,8	321,0 $\pm$ 5,0	361,1 $\pm$ 0,2	387,4 $\pm$ 0,3	401,0 $\pm$ 5,0	1501

\*PKV – početno konvencionalno vino; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja; RI- retencijski indeks

**Tablica 9** Retencijski indeks i sadržaj estera ( $\mu\text{g/L}$ ) identificiranih u početnom uzorku konvencionalnog vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije s hlađenjem i bez hlađenja

Esteri ( $\mu\text{g/L}$ )	PKV	NF25H	NF35H	NF45H	NF55H	NF25BH	NF35BH	NF45BH	NF55BH	RI
Etil-heksanoat	156,8 $\pm$ 1,5	47,6 $\pm$ 0,7	47,8 $\pm$ 0,6	49,0 $\pm$ 1,0	55,2 $\pm$ 0,2	40,8 $\pm$ 0,9	45,6 $\pm$ 0,5	48,8 $\pm$ 1,1	49,5 $\pm$ 1,3	997
Etil-4-hidroksibutanoat	53,5 $\pm$ 0,1	12,2 $\pm$ 0,2	11,9 $\pm$ 0,5	12,8 $\pm$ 0,3	18,0 $\pm$ 0,1	12,7 $\pm$ 0,5	12,9 $\pm$ 0,3	12,7 $\pm$ 0,1	12,2 $\pm$ 0,2	1060
Dietil-sukcinat	2842,7 $\pm$ 4,2	1511,5 $\pm$ 8,1	1522,2 $\pm$ 5,5	1521,0 $\pm$ 33,5	1656,1 $\pm$ 38,1	1382,8 $\pm$ 21,5	1480,0 $\pm$ 22,7	1436,8 $\pm$ 4,2	1600,4 $\pm$ 14,8	1179
Etil-oktanoat	346,7 $\pm$ 1,6	85,2 $\pm$ 0,5	95,1 $\pm$ 0,6	99,3 $\pm$ 2,7	112,1 $\pm$ 5,9	62,0 $\pm$ 0,5	70,5 $\pm$ 0,1	71,0 $\pm$ 0,7	71,9 $\pm$ 0,9	1191
Etil-sukcinat	282,3 $\pm$ 8,7			79,0 $\pm$ 0,3	85,1 $\pm$ 0,8					1198
Fenetil-acetat	64,2 $\pm$ 2,5	41,6 $\pm$ 1,3	42,0 $\pm$ 0,6	48,4 $\pm$ 0,1	56,0 $\pm$ 2,0	41,4 $\pm$ 0,4	42,3 $\pm$ 0,3	46,3 $\pm$ 0,1	52,7 $\pm$ 0,2	1248
Etil-dekanoat	26,1 $\pm$ 1,4	8,6 $\pm$ 0,1	9,5 $\pm$ 0,1	9,4 $\pm$ 0,9	10,8 $\pm$ 0,2	5,2 $\pm$ 0,1	8,9 $\pm$ 0,2	9,4 $\pm$ 0,4	10,4 $\pm$ 0,1	1391
Etil-vanilat	10,7 $\pm$ 0,3	4,7 $\pm$ 0,3	5,9 $\pm$ 0,6	7,4 $\pm$ 0,1	6,9 $\pm$ 0,1	5,9 $\pm$ 0,2	8,5 $\pm$ 0,1	8,4 $\pm$ 0,1	8,5 $\pm$ 0,1	1580
Etil-laurat	23,3 $\pm$ 1,2	10,5 $\pm$ 0,1	10,9 $\pm$ 0,6	15,6 $\pm$ 0,4	19,9 $\pm$ 0,1	9,8 $\pm$ 0,1	9,4 $\pm$ 0,1	10,6 $\pm$ 0,2	12,0 $\pm$ 0,3	1584
Heksil-salicilat	18,5 $\pm$ 0,2	10,1 $\pm$ 0,2	11,2 $\pm$ 0,2	13,5 $\pm$ 1,3	17,1 $\pm$ 0,9	7,4 $\pm$ 0,1	10,5 $\pm$ 0,1	10,6 $\pm$ 0,1	11,1 $\pm$ 0,1	1667
Etil-miristat	16,8 $\pm$ 0,2	9,0 $\pm$ 0,1	6,1 $\pm$ 0,1	6,2 $\pm$ 0,3	6,2 $\pm$ 0,2	6,6 $\pm$ 0,1	5,0 $\pm$ 0,1	3,6 $\pm$ 0,1	2,5 $\pm$ 0,1	1778
Diizobutil-ftalat	34,4 $\pm$ 0,3	18,0 $\pm$ 0,1	19,4 $\pm$ 0,1	20,5 $\pm$ 0,4	26,4 $\pm$ 0,1	17,4 $\pm$ 0,2	18,6 $\pm$ 0,2	21,9 $\pm$ 0,1	25,4 $\pm$ 0,2	1859
Etil-pentadekanoat	15,7 $\pm$ 0,1	6,3 $\pm$ 0,1	7,0 $\pm$ 0,1	8,8 $\pm$ 0,1	13,6 $\pm$ 0,6	13,5 $\pm$ 0,3	10,4 $\pm$ 0,1	7,5 $\pm$ 0,2	7,5 $\pm$ 0,2	1880
Metil-palmitat	7,5 $\pm$ 0,2	4,6 $\pm$ 0,2	3,1 $\pm$ 0,1	2,8 $\pm$ 0,2	2,2 $\pm$ 0,2	4,7 $\pm$ 0,7	3,9 $\pm$ 0,1	3,6 $\pm$ 0,3	3,0 $\pm$ 0,2	1907
Dibutil-ftalat	33,3 $\pm$ 0,4	12,2 $\pm$ 0,1	13,1 $\pm$ 0,1	19,2 $\pm$ 0,5	25,2 $\pm$ 0,4	11,4 $\pm$ 0,3	11,6 $\pm$ 0,1	11,7 $\pm$ 0,1	16,5 $\pm$ 0,2	1953
Etil-palmitat	104,3 $\pm$ 1,0	12,3 $\pm$ 0,3	13,7 $\pm$ 0,1	13,4 $\pm$ 0,1	13,5 $\pm$ 0,1	6,4 $\pm$ 0,1	8,9 $\pm$ 0,1	10,4 $\pm$ 0,2	10,7 $\pm$ 0,1	1978
Etil-linoleat	18,6 $\pm$ 0,4				3,0 $\pm$ 0,1					2146
Etil-oleat	10,0 $\pm$ 0,2									2152
Etil-stearat	9,6 $\pm$ 0,4									2176

\*PKV – početno konvencionalno vino; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja; RI- retencijski indeks

**Tablica 10** Retencijski indeks i sadržaj kiselina ( $\mu\text{g/L}$ ) identificiranih u početnom uzorku ekološkog vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije s hlađenjem i bez hlađenja

Kiseline ( $\mu\text{g/L}$ )	PEV	NF25H	NF35H	NF45H	NF55H	NF25BH	NF45BH	NF25BH	NF45BH	RI
Octena kiselina	1043 $\pm$ 9,5									622
Oktanska kiselina	311,9 $\pm$ 0,6	62,9 $\pm$ 0,1	67,9 $\pm$ 0,1	59,3 $\pm$ 0,8	75,4 $\pm$ 0,6	55,8 $\pm$ 2,2	55,0 $\pm$ 1,9	61,3 $\pm$ 1,3	74,1 $\pm$ 1,3	1199
Dekanska kiselina	165,1 $\pm$ 0,4	74,5 $\pm$ 0,4	109,5 $\pm$ 0,2	126,2 $\pm$ 1,2	152,2 $\pm$ 0,8	72,7 $\pm$ 0,3	98,6 $\pm$ 0,9	112,9 $\pm$ 0,9	128,3 $\pm$ 1,1	1376
Laurinska kiselina	83,9 $\pm$ 0,1	38,3 $\pm$ 0,4	60,8 $\pm$ 0,1	64,7 $\pm$ 0,6	69,0 $\pm$ 0,8	36,8 $\pm$ 0,6	59,1 $\pm$ 0,6	63,3 $\pm$ 0,9	68,2 $\pm$ 0,1	1556
Miristinska kiselina	22,6 $\pm$ 0,2	11,5 $\pm$ 0,2	14,9 $\pm$ 0,3	16,5 $\pm$ 0,4	19,3 $\pm$ 0,1	9,3 $\pm$ 0,2	11,5 $\pm$ 0,2	13,6 $\pm$ 0,3	16,7 $\pm$ 0,1	1749
Palmitinska kiselina	8,0 $\pm$ 0,1	2,5 $\pm$ 0,1	2,3 $\pm$ 0,1	3,3 $\pm$ 0,1	3,9 $\pm$ 0,2	2,4 $\pm$ 0,1	2,5 $\pm$ 0,1	2,7 $\pm$ 0,1	2,4 $\pm$ 0,1	2004

\*PEV – početno ekološko vino; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja; RI- retencijski indeks

**Tablica 11** Retencijski indeks i sadržaj alkohola ( $\mu\text{g/L}$ ) identificiranih u početnom uzorku ekološkog vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije s hlađenjem i bez hlađenja

Alkoholi ( $\mu\text{g/L}$ )	PEV	NF25H	NF35H	NF45H	NF55H	NF25BH	NF35BH	NF45BH	NF55BH	RI
Izoamilni alkohol	31792,8 $\pm$ 45,7	2326,8 $\pm$ 8,7	2705,0 $\pm$ 24,0	2924,4 $\pm$ 3,6	3208,4 $\pm$ 8,7	1713,6 $\pm$ 11,5	1814,9 $\pm$ 28,4	2159,1 $\pm$ 10,6	3070,8 $\pm$ 8,3	734
But-2,3-diol	512,7 $\pm$ 0,8	5,5 $\pm$ 0,2	6,6 $\pm$ 0,3	7,2 $\pm$ 0,1	11,5 $\pm$ 0,2	4,8 $\pm$ 0,2	7,4 $\pm$ 0,4	8,7 $\pm$ 0,1	9,0 $\pm$ 0,2	804
Heksan-1-ol	755,2 $\pm$ 0,8	54,5 $\pm$ 1,0	56,8 $\pm$ 0,6	52,7 $\pm$ 1,1	64,2 $\pm$ 1,1	49,7 $\pm$ 1,1	55,1 $\pm$ 0,7	54,0 $\pm$ 0,4	56,3 $\pm$ 0,5	868
Metionol	36,5 $\pm$ 0,5									981
Benzilni alkohol	43,6 $\pm$ 0,6									1037
Oktan-1-ol	72,3 $\pm$ 0,3	15,5 $\pm$ 0,2	19,3 $\pm$ 0,3	22,4 $\pm$ 0,3	24,6 $\pm$ 0,3	12,0 $\pm$ 0,1	13,5 $\pm$ 0,4	17,0 $\pm$ 0,1	21,1 $\pm$ 0,4	1071
2-feniletanol	4931,3 $\pm$ 20,4	1294,0 $\pm$ 19,7	1385,0 $\pm$ 12,4	1451,2 $\pm$ 12,4	1515,3 $\pm$ 0,2	1172,6 $\pm$ 9,3	1281,4 $\pm$ 6,0	1470,2 $\pm$ 21,9	1521,1 $\pm$ 11,6	1103
Dodekanol	101,3 $\pm$ 0,4	55,0 $\pm$ 2,8	71,5 $\pm$ 0,1	71,2 $\pm$ 0,4	91,9 $\pm$ 1,6	43,7 $\pm$ 1,0	69,4 $\pm$ 0,2	69,0 $\pm$ 0,4	81,8 $\pm$ 0,6	1469

\*PEV – početno ekološko vino; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja; RI- retencijski indeks

**Tablica 12** Retencijski indeks i sadržaj karbonilnih spojeva ( $\mu\text{g/L}$ ) identificiranih u početnom uzorku ekološkog vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije s hlađenjem i bez hlađenja

Karbonilni spojevi ( $\mu\text{g/L}$ )	PEV	NF25H	NF35H	NF45H	NF55H	NF25BH	NF35BH	NF45BH	NF55BH	RI
4-propilbenzaldehyd	25,0 $\pm$ 0,3	11,0 $\pm$ 0,1	11,8 $\pm$ 0,1	14,2 $\pm$ 0,1	16,4 $\pm$ 0,1	9,4 $\pm$ 0,1	9,8 $\pm$ 0,4	10,6 $\pm$ 0,5	15,1 $\pm$ 0,4	1261
Geranil aceton	25,8 $\pm$ 0,1	14,9 $\pm$ 0,3	20,2 $\pm$ 0,6	19,8 $\pm$ 0,3	21,6 $\pm$ 0,3	10,5 $\pm$ 0,3	13,8 $\pm$ 0,1	16,2 $\pm$ 0,5	19,3 $\pm$ 0,2	1448
Lili aldehyd	18,3 $\pm$ 0,1	10,8 $\pm$ 0,1	11,5 $\pm$ 0,4	12,5 $\pm$ 0,3	13,6 $\pm$ 0,4	10,5 $\pm$ 0,1	12,1 $\pm$ 0,1	12,8 $\pm$ 0,1	12,7 $\pm$ 0,1	1517
Heksilcinamaldehyd	20,4 $\pm$ 0,1	11,0 $\pm$ 0,1	12,3 $\pm$ 0,1	12,9 $\pm$ 0,1	15,3 $\pm$ 0,2	10,5 $\pm$ 0,3	12,5 $\pm$ 0,2	12,6 $\pm$ 0,2	13,3 $\pm$ 0,3	1738

\*PEV – početno ekološko vino; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja; RI- retencijski indeks

**Tablica 13** Retencijski indeks i sadržaj terpena ( $\mu\text{g/L}$ ) identificiranih u početnom uzorku ekološkog vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije s hlađenjem i bez hlađenja

Terpeni ( $\mu\text{g/L}$ )	PKV	NF25H	NF35H	NF45H	NF55H	NF25BH	NF35BH	NF45BH	NF55BH	RI
$\alpha$ -terpinolen	111,7 $\pm$ 1,8	46,7 $\pm$ 0,2	46,5 $\pm$ 0,5	48,2 $\pm$ 0,2	46,9 $\pm$ 0,1	35,0 $\pm$ 0,8	40,2 $\pm$ 0,1	42,7 $\pm$ 0,1	45,2 $\pm$ 0,5	1092
$\beta$ -citronelol	17,7 $\pm$ 0,2	5,3 $\pm$ 0,1	5,9 $\pm$ 0,1	8,3 $\pm$ 0,1	9,6 $\pm$ 0,1	5,2 $\pm$ 0,1	5,3 $\pm$ 0,3	8,6 $\pm$ 0,3	9,8 $\pm$ 0,1	1223
$\beta$ -damascenon	31,1 $\pm$ 0,6	12,2 $\pm$ 0,1	12,5 $\pm$ 0,2	13,1 $\pm$ 0,3	14,1 $\pm$ 0,3	8,6 $\pm$ 0,1	11,6 $\pm$ 0,3	11,2 $\pm$ 0,2	13,3 $\pm$ 0,5	1377
$\beta$ -jonon	43,4 $\pm$ 1,2	4,6 $\pm$ 0,1	6,7 $\pm$ 0,1	6,9 $\pm$ 0,1	8,8 $\pm$ 0,3	4,1 $\pm$ 0,2	6,6 $\pm$ 0,1	6,5 $\pm$ 0,2	7,2 $\pm$ 0,1	1476
Fenantren	7,0 $\pm$ 0,1	4,3 $\pm$ 0,1	4,4 $\pm$ 0,3	5,2 $\pm$ 0,1	6,3 $\pm$ 0,3	4,6 $\pm$ 0,1	4,6 $\pm$ 0,2	5,6 $\pm$ 0,2	4,5 $\pm$ 0,2	1772

\*PEV – početno ekološko vino; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja; RI- retencijski indeks

**Tablica 14** Retencijski indeks i sadržaj hlapivih fenola ( $\mu\text{g/L}$ ) identificiranih u početnom uzorku ekološkog vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije s hlađenjem i bez hlađenja

Hlapivi fenoli ( $\mu\text{g/L}$ )	PEV	NF25H	NF35H	NF45H	NF55H	NF25BH	NF35BH	NF45BH	NF55BH	RI
4-etilfenol	127,7 $\pm$ 0,9		5,1 $\pm$ 0,1	5,1 $\pm$ 0,1	5,2 $\pm$ 0,2	4,0 $\pm$ 0,1	4,8 $\pm$ 0,1	4,5 $\pm$ 0,1	4,8 $\pm$ 0,1	1166
4-etilgvajakol	142,1 $\pm$ 0,2	4,8 $\pm$ 0,2	5,7 $\pm$ 0,1	5,7 $\pm$ 0,1	5,7 $\pm$ 0,1	4,6 $\pm$ 0,2	5,2 $\pm$ 0,1	5,7 $\pm$ 0,1	5,8 $\pm$ 0,1	1268
2,4-Di-tert-butil-fenol	542,0 $\pm$ 4,1	361,9 $\pm$ 3,0	456,6 $\pm$ 2,3	458,6 $\pm$ 1,2	484,3 $\pm$ 2,8	297,3 $\pm$ 3,8	370,0 $\pm$ 0,7	423,5 $\pm$ 1,2	460,8 $\pm$ 2,3	1501

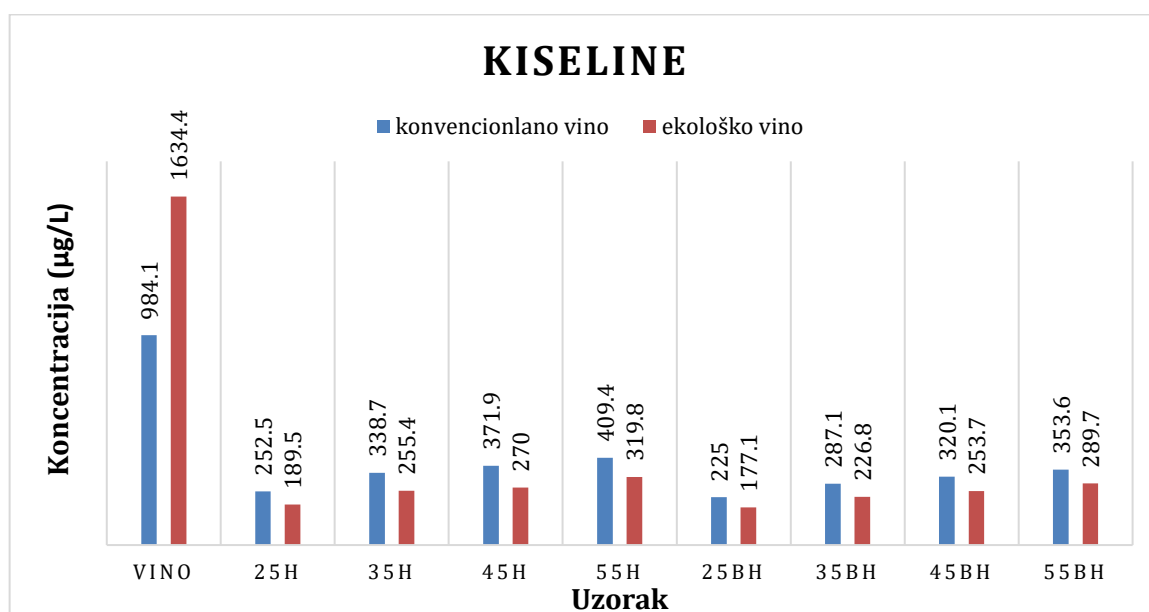
\*PEV – početno ekološko vino; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja; RI- retencijski indeks

**Tablica 15** Retencijski indeks i sadržaj estera ( $\mu\text{g/L}$ ) identificiranih u početnom uzorku ekološkog vina Cabernet Sauvignon te koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije s hlađenjem i bez hlađenja

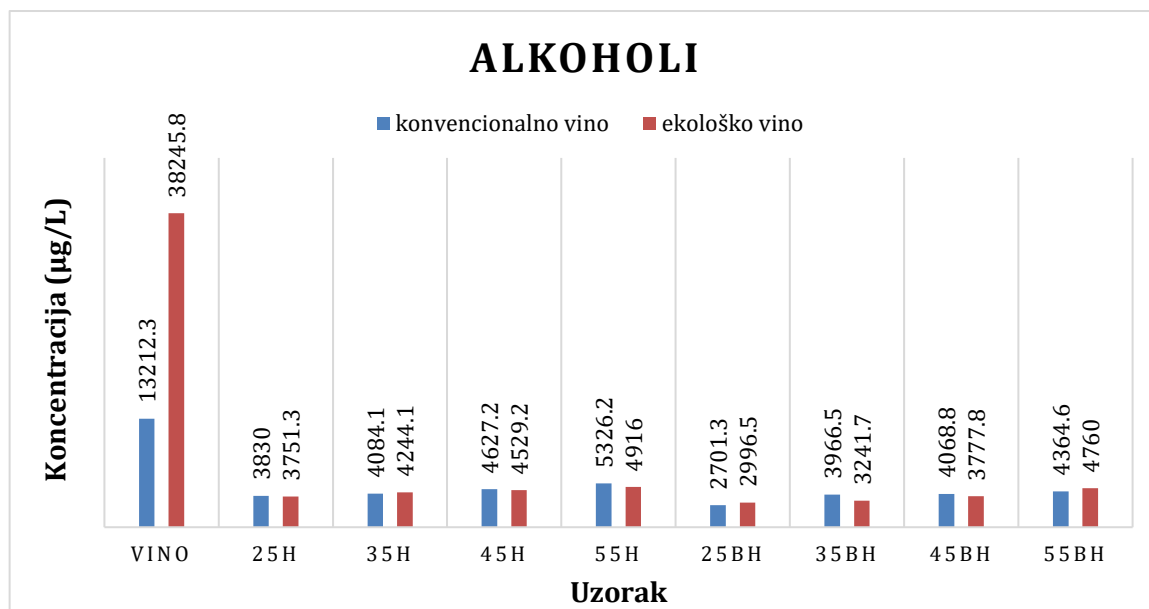
Esteri ( $\mu\text{g/L}$ )	PEV	NF25H	NF35H	NF45H	NF55H	NF25BH	NF35BH	NF45BH	NF55BH	RI
Etil-heksanoat	141,5 ± 0,9	41,0 ± 0,3	44,7 ± 1,0	50,9 ± 0,6	60,6 ± 0,1	37,8 ± 1,1	38,9 ± 0,2	43,8 ± 0,6	51,7 ± 0,7	997
Etil-4-hidroksibutanoat	33,4 ± 0,3	13,8 ± 0,1	15,7 ± 0,1	16,4 ± 0,3	17,2 ± 0,3	12,7 ± 0,1	14,3 ± 0,4	15,7 ± 0,3	15,7 ± 0,3	1060
Dietil-sukcinat	2928,5 ± 9,6	1930,8 ± 4,3	2028,3 ± 49,1	2193,0 ± 2,6	2343,8 ± 15,9	1641,2 ± 40,2	1950,3 ± 0,9	2053,9 ± 7,1	2107,9 ± 1,9	1179
Etil-oktanoat	367,8 ± 0,4	103,7 ± 2,8	125,9 ± 3,1	122,2 ± 0,5	155,2 ± 2,7	93,9 ± 0,1	119,6 ± 0,9	130,2 ± 1,9	145,9 ± 0,4	1191
Etil-sukcinat	248,6 ± 0,3				43,5 ± 0,3					1198
Fenetil-acetat	69,6 ± 0,4	26,5 ± 2,0	33,2 ± 0,5	57,0 ± 0,9	53,2 ± 2,0	28,2 ± 0,8	34,3 ± 0,1	40,8 ± 1,1	52,4 ± 0,5	1248
Etil-dekanoat	19,5 ± 0,3	12,0 ± 0,4	16,6 ± 0,1	19,4 ± 0,4	25,0 ± 0,4	10,0 ± 0,1	16,3 ± 0,4	16,7 ± 0,3	18,1 ± 0,3	1391
Etil-vanilat	30,0 ± 0,2	11,9 ± 0,3	14,9 ± 0,4	17,5 ± 0,1	20,0 ± 0,3	10,1 ± 0,2	14,3 ± 0,2	15,3 ± 0,5	15,3 ± 0,1	1580
Etil-laurat	40,3 ± 0,4	23,3 ± 0,3	28,9 ± 0,2	29,1 ± 0,1	35,3 ± 0,3	20,6 ± 0,6	25,1 ± 0,9	27,6 ± 0,3	28,7 ± 0,5	1584
Heksil-salicilat	15,4 ± 0,2	6,6 ± 0,1	8,7 ± 0,2	9,3 ± 0,3	14,1 ± 0,1	5,0 ± 0,1	7,7 ± 0,2	9,3 ± 0,3	13,4 ± 0,4	1667
Etil-miristat	13,8 ± 0,2	7,4 ± 0,1	6,2 ± 0,1	5,2 ± 0,1	5,7 ± 0,2	5,6 ± 0,4	4,5 ± 0,1	4,5 ± 0,2	3,8 ± 0,1	1778
Diizobutil-ftalat	46,5 ± 0,2	30,2 ± 0,5	35,7 ± 0,4	38,2 ± 0,6	43,6 ± 1,2	22,9 ± 0,1	34,7 ± 0,4	36,1 ± 0,3	40,1 ± 0,7	1859
Etil-pentadekanoat	13,6 ± 0,2	6,3 ± 0,2	7,5 ± 0,1	7,9 ± 0,1	10,8 ± 0,1	7,2 ± 0,2	7,7 ± 0,3	7,7 ± 0,3	8,5 ± 0,1	1880
Metil-palmitat	14,5 ± 0,1	11,2 ± 0,2	10,3 ± 0,1	8,8 ± 0,1	8,8 ± 0,2	11,6 ± 0,2	10,5 ± 0,2	9,4 ± 0,2	9,0 ± 0,1	1907
Dibutil-ftalat	33,2 ± 0,2	12,3 ± 0,2	15,9 ± 0,1	17,6 ± 0,2	16,8 ± 0,3	11,2 ± 0,1	14,5 ± 0,1	14,6 ± 0,3	14,3 ± 0,1	1953
Etil-palmitat	69,3 ± 1,1	7,8 ± 0,2	8,8 ± 0,2	9,5 ± 0,1	10,4 ± 0,1	8,9 ± 2,4	7,8 ± 0,2	7,5 ± 0,1	8,6 ± 0,3	1978
Etil-linoleat	8,9 ± 0,1				2,8 ± 0,1					2146
Etil-oleat	9,5 ± 1,2									2152
Etil-stearat	9,5 ± 1,5									2176

\*PEV – početno ekološko vino; 25, 35, 45, 55 - primijenjeni tlakovi (bar); H i BH - hlađenje i bez hlađenja; RI- retencijski indeks

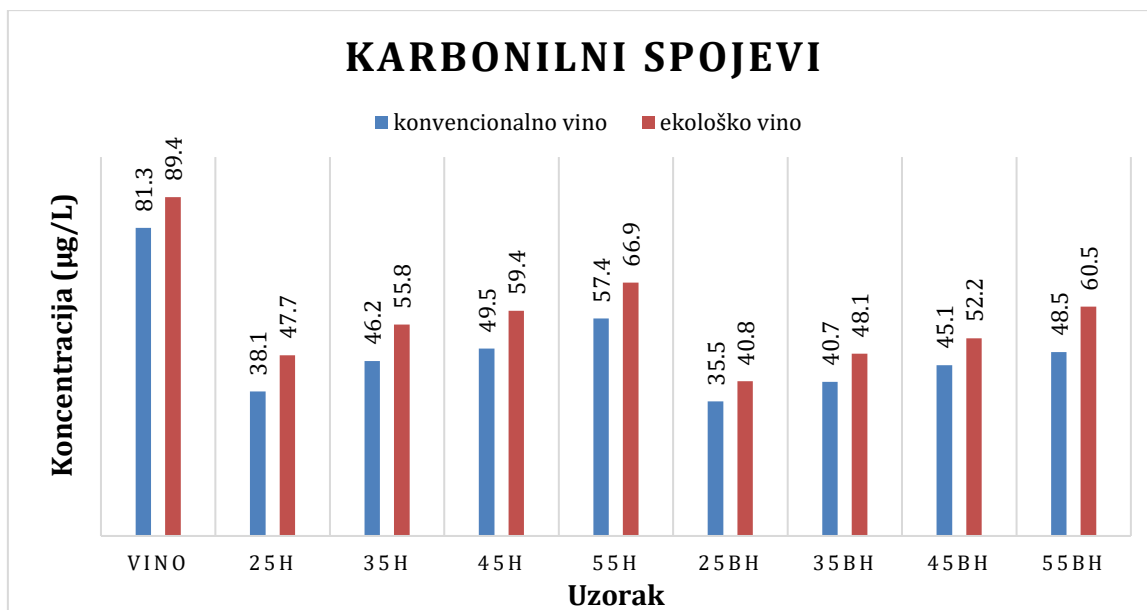
## 4.2. GRAFIČKI PRIKAZ ANALIZOM DOBIVENIH REZULTATA



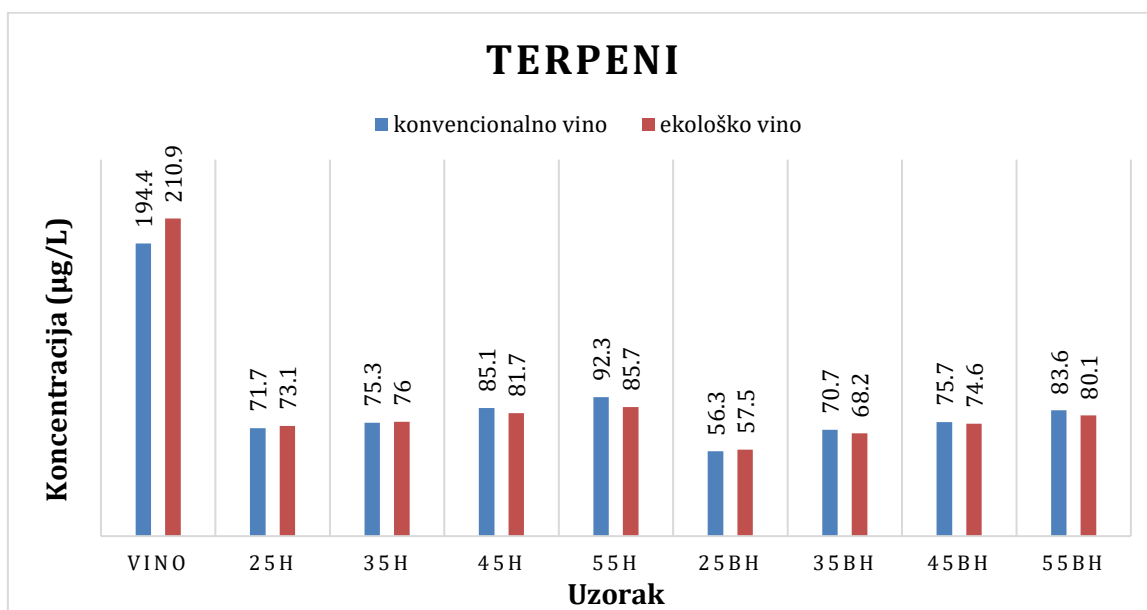
**Slika 10** Zadržavanje ukupnih kiselina u početnom uzorku konvencionalnog i ekološkog vina Cabernet Sauvignon, te vinskih koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije pri tlaku 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom (H) i bez primjene hlađenja (BH)



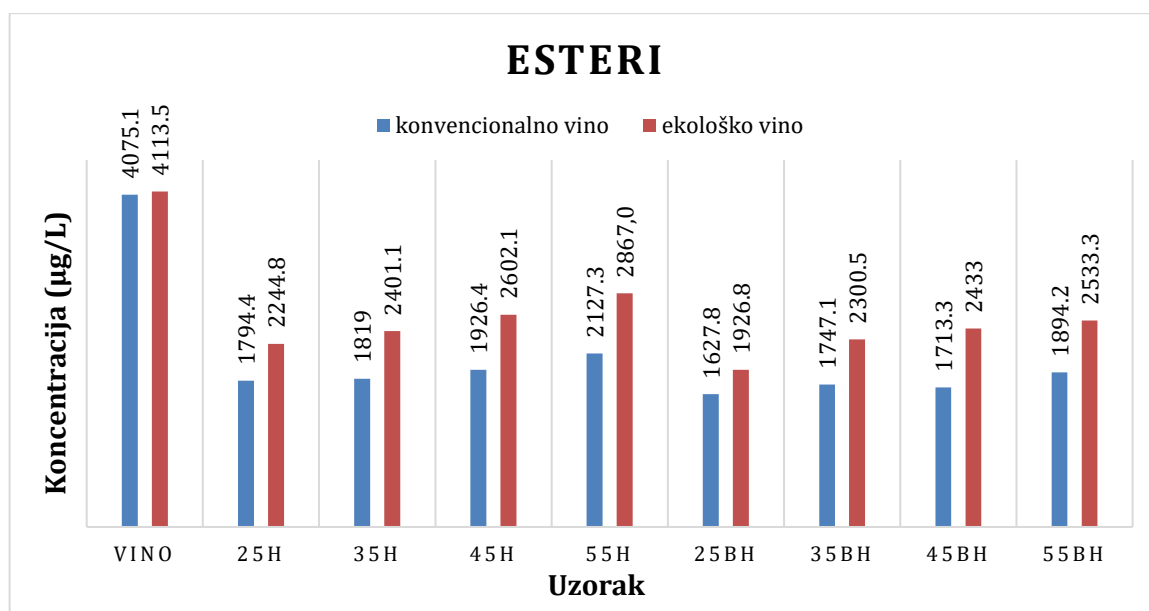
**Slika 11** Zadržavanje ukupnih alkohola u početnom uzorku konvencionalnog i ekološkog vina Cabernet Sauvignon, te vinskih koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije pri tlaku 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom (H) i bez primjene hlađenja (BH)



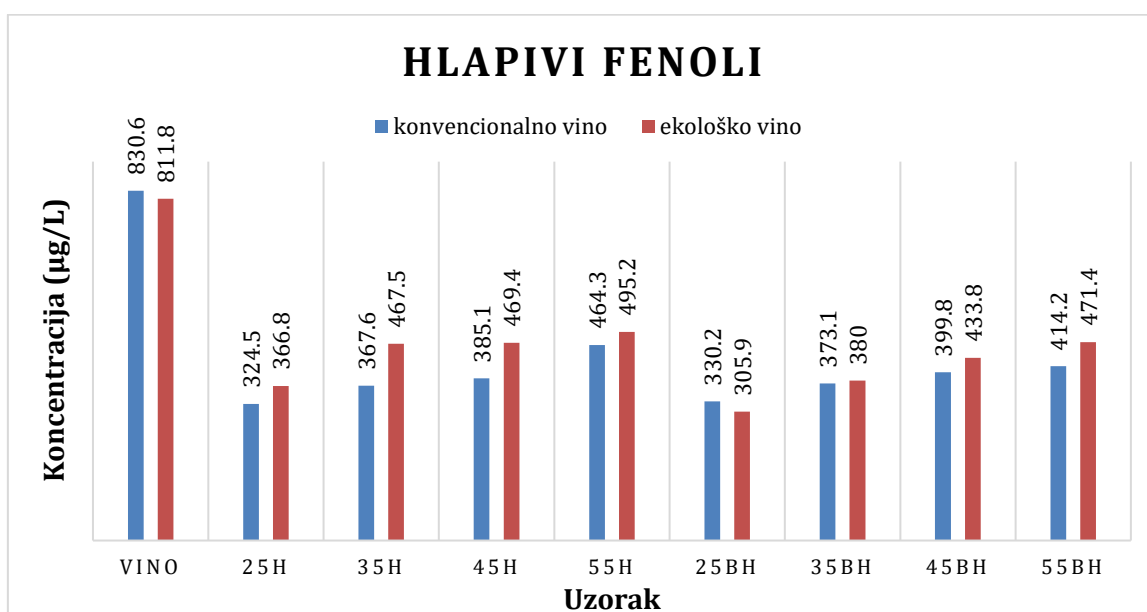
**Slika 12** Zadržavanje ukupnih karbonilnih spojeva u početnom uzorku konvencionalnog i ekološkog vina Cabernet Sauvignon, te vinskih koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije pri tlaku 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom (H) i bez primjene hlađenja (BH)



**Slika 13** Zadržavanje ukupnih terpena u početnom uzorku konvencionalnog i ekološkog vina Cabernet Sauvignon, te vinskih koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije pri tlaku 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom (H) i bez primjene hlađenja (BH)



**Slika 14** Zadržavanje ukupnih estera u početnom uzorku konvencionalnog i ekološkog vina Cabernet Sauvignon, te vinskih koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije pri tlaku 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom (H) i bez primjene hlađenja (BH)



**Slika 15** Zadržavanje ukupnih hlapivih fenola u početnom uzorku konvencionalnog i ekološkog vina Cabernet Sauvignon, te vinskih koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije pri tlaku 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom (H) i bez primjene hlađenja (BH)



Koncentriranje vina i voćnih sokova moguće je provesti uparavanjem, membranskim procesima, pervaporacijom te koncentriranje zamrzavanjem. Obzirom na znatan gubitak arome prilikom primjene koncentriranja uparavanjem provode se brojna istraživanja kako bi se primijenili drugi procesi koncentriranja te se mogući gubitci sveli na najmanju mjeru.

Cilj istraživanja ovog diplomskog rada bio je ispitati i utvrditi mogućnost primjene membranskog procesa nanofiltracije u vidu koncentriranja konvencionalno i ekološki proizvedenog vina Cabernet Sauvignon do najvećeg udjela suhe tvari kojega je moguće postići navedenim membranskim postupkom uz minimalnu redukciju visokovrijednih sastojaka vina. U **Tablicama 2 – 15** i na **Slikama 10 – 15** predočeni su rezultati dobiveni koncentriranjem membranskim procesom nanofiltracije na sadržaj tvari arome ekološkog i konvencionalnog vina Cabernet Sauvignon.

Kada je riječ o kemijskom sastavu vina, sumporov dioksid ( $\text{SO}_2$ ) od velikog je značaja prilikom njegove proizvodnje. Između ostalog, djeluje antioksidativno te ubrzava bistenje mošta i vina. U **Tablicama 2 i 3** možemo vidjeti zadržavanje slobodnog i ukupnog  $\text{SO}_2$  u početnom uzorku konvencionalnog (**Tablica 2**) i ekološkog (**Tablica 3**) vina Cabernet Sauvignon i koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom i bez primjene hlađenja. Samo slobodni  $\text{SO}_2$  ima zaštitno djelovanje.

Ugljični dioksid ( $\text{CO}_2$ ) bijelim vinima daje svježinu koja kod crnih vina nije poželjna iz razloga što ona trebaju biti trpk. Uspoređujući **Tablicu 2** i **Tablicu 3** uočiti ćemo veći sadržaj  $\text{CO}_2$  u početnom uzorku ekološki proizvedenog vina. No prilikom koncentriranja ta se količina znatno smanjuje.

Kao što je već ranije navedeno, aromu vina čine brojni hlapivi sastojci koji uglavnom nastaju prilikom fermentacije i dozrijevanja. Dio aromatičnih spojeva stvara se prilikom predfermentacijske faze, a takvu aromu nazivamo primarna tj. sortna aroma koju uglavnom čine različiti terpeni i alkoholi sa šest ugljikovih atoma.

U analiziranom vinu identificirane su ove hlapive kiseline: octena, oktanska, dekanska, laurinska, miristinska i palmitinska kiselina (**Tablica 4 i Tablica 10**). Prema Pravilniku o proizvodnji vina (NN 2/2005), ukoliko količina octene kiseline prelazi dozvoljene granice od 1,2 g/L, može se koristiti jedino za proizvodnju vinskog octa ili rakije. Postotak octene kiseline u vinu može se smanjiti kupažiranjem odnosno sljubljuvanjem s kvalitetnim vinima. Zadržavanju hlapivih kiselina prilikom proizvodnje konvencionalnog vina najbolje doprinosi tlak od 55 bara uz istovremeno hlađenje, isto je tako kod proizvodnje ekološkog vina Cabernet Sauvignon.

Ukupne kiseline u vinu pružaju vinu osvježavajući okus te djeluju kao konzervansi. Izražavaju se u g vinske kiseline/L. Iz **Slike 10** vidljiva je veća količina ukupnih alkohola izmjerenih u ekološki proizvedenom vinu, a zadržavanju alkohola najviše pogoduje tlak od 55 bara uz primjenu hlađenja, kako kod konvencionalno tako i kod ekološki proizvedenog vina.

Alkoholi su skupina organskih spojeva koji se sastoje od jedne ili više hidroksilnih skupina, oni su također aromatski spojevi. U našem uzorku vina identificirano ih je sedam. Izoamilni alkohol, heksan-1-ol i 2-feniletanol zabilježeni su u najvišim koncentracijama (**Tablica 5** i **Tablica 11**). Na **Slici 11** prikazana je koncentracija ukupnih alkohola u početnom uzorku konvencionalnog i ekološkog vina Cabernet Sauvignon, te vinskih koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije. Na istoj slici vidljiva je poprilično veća količina alkohola izmjerenog u početnom uzorku ekološki proizvedenog vina koja je otprilike 3 puta veća od količine alkohola izmjerenog u početnom uzorku konvencionalno proizvedenog vina. No primjenom tlaka i temperature koncentracije poprimaju poprilično slične vrijednosti. Zadržavanju najviše pogoduje tlak od 55 bara te primjena hlađenja tijekom provođenja procesa.

Etilni alkohol odnosno etanol jedan je od najzastupljenijih alkohola u vinu i glavni proizvod alkoholnog vrenja. Njegova količina ovisi o zastupljenosti šećera u grožđu i moštu. U **Tablicama 2** i **3** prikazano je zadržavanje etanola u početnom uzorku konvencionalnog (**Tablica 2**) i ekološkog vina (**Tablica 3**) Cabernet Sauvignon i koncentratima dobivenim procesom nanofiltracije pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s primjenom i bez primjene hlađenja. U tablicama možemo vidjeti poprilično slične vrijednosti sadržaja etanola u ekološki i konvencionalno proizvedenom vinu.

Kada je riječ o karbonilnim spojevima, može se reći da oni nemaju velikog utjecaja na aromatski profil vina. Nastaju u znatno manjim količinama u usporedbi s ostalim grupama spojeva. U vinu i koncentratima ukupno ih je četiri: 4-propilbenzaldehyd, geranil aceton, lili aldehyd i heksilcinamaldehyd. Najviše ih je zabilježeno u koncentratu dobivenom prilikom primjene tlaka od 55 bara uz hlađenje kako kod konvencionalno (**Tablica 6**), tako i kod ekološki (**Tablica 12**) proizvedenog vina. Na **Slici 12** vidljivo je nešto veće zadržavanje ukupnih karbonilnih spojeva kod ekološki proizvedenog vina.

U grožđu je identificirano oko 40 terpenskih spojeva, glavni su nositelji primarne arome. Sadržaj pojedinih terpena pronađenih u konvencionalno proizvedenom vinu prikazan je u **Tablici 7**. U istoj je tablici prikazano zadržavanje terpena u vinskih koncentratima dobivenim nanofiltracijom pri različitim uvjetima procesa. Veće zadržavanje terpenoida uočeno je

prilikom primjene tlaka od 55 bara uz hlađenje, također vrlo sličan rezultat ostvaren je primjenom tlaka od 45 bara uz hlađenje. S druge strane, kod ekološki proizvedenog vina najbolje zadržavanje terpena pokazao je tlak od 45 bara uz hlađenje što možemo vidjeti iz **Tablice 13**. Prilikom proizvodnje vina ekološkim putem zadržane su nešto veće količine ukupnih terpena u početnom uzorku vina, dok su u vinskih koncentracijama dobivene vrijednosti podjednake (**Slika 13**). Terpeni daju svježje, cvjetne mirise. Drugi najzastupljeniji terpen jest  $\beta$ -damascenon, daje mirisnu notu ruže i važna je mirisna kemikalija koje se koristi u parfumerijama.

Esteri nastaju procesom esterifikacije u kojoj su reaktanti alkohol i karboksilna kiselina, a produkti voda i ester. Na **Slici 14** prikazan je sadržaj ukupnih estera ( $\mu\text{g/L}$ ) identificiranih u početnom uzorku konvencionalno i ekološki proizvedenog vina te koncentratima dobivenih nanofiltracijom. U najvećim je količinama prisutan je dietil-sukcinat, zatim etil-oktanoat i etil-sukcinat kako kod konvencionalno (**Tablica 9**) tako i kod ekološki (**Tablica 15**) proizvedenog vina. Primjenom većih procesnih tlakova, u procesima s primjenom hlađenjem i bez primjene hlađenja, postiže se podjednako zadržavanje estera. Najveće zadržavanje ukupnih estera ( $2867,0 \mu\text{g/L}$ ) zabilježeno je u koncentratu dobivenom prilikom proizvodnje ekološkog vina pri tlaku od 55 bara s hlađenjem dok je vrijednost zabilježena kod proizvodnje konvencionalnog vina pri istom tlaku i primjenom hlađenja nešto niža ( $2127,3 \mu\text{g/L}$ ).

Tercijarnu aromu vina uglavnom formiraju hlapivi fenoli. Zabilježeno ih je tri (**Tablica 8 i Tablica 14**). Sadrže dimne, pikantne i začinske aromatske karakteristike. Iz **Slike 15** vidljivo je da primjena tlaka od 55 bara uz hlađenje najbolje pogoduje zadržavanju ukupnih hlapivih fenola kako kod konvencionalno tako i kod ekološki proizvedenog vina.

## **5. ZAKLJUČCI**

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

1. Prilikom istraživanja ispitivan je proces nanofiltracije ekološki i konvencionalno proizvedenog vina Cabernet Sauvignon primjenom različitih procesnih tlakova i temperaturnih raspona.
2. Procesni parametri primijenjeni prilikom ovog istraživanja, tlak i temperatura, imali su značajnu ulogu pri zadržavanju tvari arome kako konvencionalno tako i ekološki proizvedenog vina Cabernet Sauvignon.
3. Ustanovljeno je da veći procesni tlak te postupci s primjenom hlađenja pogoduju većem zadržavanju pojedinih aromatičnih skupina u odnosu na procese prilikom kojih se nije primjenjivalo hlađenje.
4. Prilikom koncentriranja s primjenom hlađenja zadržano je više hlapivih spojeva, također zadržavanje istih spojeva bilo je uspješnije primjenom viših tlakova.

## **6. 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.
- Dolar D: Utjecaj poroznosti i ostalih karakteristika NF/RO membrana na njihovu separacijsku djelotvornost pri obradi voda. *Doktorska disertacija*. Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, Zagreb, 2009.
- Jakobi I: Proizvodnja crnih vina. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2015.
- Klapec T, Šarkanj B, Marček T: *Opasnosti vezane uz hranu. Nastavni materijali*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2021.
- Kopjar M: Aroma. *Nastavni materijali*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2014.
- Ministarstvo poljoprivrede i šumarstva: *Pravilnik o vinu*. Narodne novine 96/96, 1996.
- Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva: *Pravilnik o proizvodnji vina*. Narodne novine 2/05, 2005.
- Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva: *Zakon o vinu*. Narodne novine 32/19, 2019.
- Mirošević N i Karoglan Kontić J: *Vinogradarstvo*. Nakladni zavod Globus, Zagreb, 2008.
- Mirošević N i suradnici: *Atlas hrvatskog vinogradarstva i vinarstva*. Golden marketing-tehnička knjiga, Zagreb, 2009.
- Mulder M: *Basic principles of membrane technology*. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Boston, 1996.
- Paunović R i Dančić M: *Vinarstvo i tehnologija jakih alkoholnih pića*. Zadržna knjiga, Beograd, 1967.
- Pichler A: Procesi u prehrambenoj industriji. *Nastavni materijali*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2017.
- Pichler A: Tehnologija vina. *Nastavni materijali*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2016.
- Popović K: Utjecaj koncentriranja membranskim procesima na tvari boje i arome soka od aronije. *Doktorska disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2019.
- Pozderović A: Membranski procesi. U *Prehrambeno inženjerstvo*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2011.
- Primorac Lj: Kontrola kakvoće hrane. *Interna skripta*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2007.

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

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

Zoričić M: *Vinogradarsko vinarski priručnik* (drugo izdanje). Slobodna Dalmacija d.d. Split, 2013.

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

web izvori:

WEB 1

[http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=cabernet\\_sauvignon](http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=cabernet_sauvignon) [6.8.2021]

WEB 2

[https://ovinu.info/list-vinove-loze/?fbclid=IwAR2h1ByRQD9wX2ZRvG-5GmnwA4LT7zbzIRTV\\_lyGpfDPD9kRH8R9EBXZLK8](https://ovinu.info/list-vinove-loze/?fbclid=IwAR2h1ByRQD9wX2ZRvG-5GmnwA4LT7zbzIRTV_lyGpfDPD9kRH8R9EBXZLK8) [10.8.2021]

WEB 3

<https://www.pinterest.com/pin/436497388882112315/> [1.8.2021]

WEB 4

<https://i.agrolib.rs/img/d42302462bf8275a8152ce72c86b2.jpg> [10.8.2021]

WEB 5

<https://www.agroklub.com/vinogradarstvo/ekoloski-uzgoj-vinove-loze/4056/> [10.8.2021]

WEB 6

<https://www.agroklub.com/vinogradarstvo/ekoloski-uzgoj-vinove-loze/4056/> [1.8.2021]

WEB 7

<https://www.pinterest.com/pin/38843615570547509/> [10.8.2021]

WEB 8

[http://what-when-how.com/wp-content/uploads/2011/06/tmp17040\\_thumb1.png?fbclid=IwAR3eces8-Ln3GcrlrVg2QmulL--1Vg4UmagsnlFVdf6QNqSEFrAFqJaLYQ](http://what-when-how.com/wp-content/uploads/2011/06/tmp17040_thumb1.png?fbclid=IwAR3eces8-Ln3GcrlrVg2QmulL--1Vg4UmagsnlFVdf6QNqSEFrAFqJaLYQ) [1.8.2021]



WEB 9

[https://www.analytics-shop.com/us/sample-preparation/spme-solid-phase-micro-extraction.html?fbclid=IwAR1uo4J2RHlkO\\_3vg8CkZlnU1ip5psiXYPLi-19ONiaccG9Yv3nrNrB\\_ILE](https://www.analytics-shop.com/us/sample-preparation/spme-solid-phase-micro-extraction.html?fbclid=IwAR1uo4J2RHlkO_3vg8CkZlnU1ip5psiXYPLi-19ONiaccG9Yv3nrNrB_ILE) [15.8.2021]

WEB 10

[http://genderi.org/doktorski-rad/40511\\_html\\_me526bd1.png](http://genderi.org/doktorski-rad/40511_html_me526bd1.png) [15.8.2021]