

# Utjecaj skladištenja na kakvoću bijelih vina Palava, Pinot sivi i Traminac

---

**Barbarić, Bernardica**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2018**

*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:109:396761>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-22**

REPOZITORIJ

**PTF**

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**

**Bernardica Barbarić**

**UTJECAJ SKLADIŠTENJA NA KAKVOĆU BIJELIH VINA PALAVA, PINOT  
SIVI I TRAMINAC**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, studeni, 2018.

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

**Diplomski sveučilišni studij: Prehrambeno inženjerstvo**

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

**Nastavni predmet:** Tehnologija vina

**Tema rada** je prihvaćena na I. Izvanrednoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2017./2018. održanoj 31. listopada 2017. godine.

**Mentor:** izv.prof. dr. sc. Anita Pichler

**Pomoć pri izradi:** Ivana Ivić, mag. ing., asistent

**Utjecaj skladištenja na kakvoću bijelih vina Palava, Pinot sivi i Traminac**

*Bernardica Barbarić, 391/DI*

**Sažetak:**

Klasifikacija vina provodi se na osnovu kemijskog sastava (udio šećera, kiselina, alkohola, suhog ekstrakta, pepela i fenolnih tvari). Kemijski sastav, udio tvari boje i arome u vinu ne ovisi samo o tehnološkim postupcima proizvodnje, nego i o samoj sorti grožđa od koje je vino napravljeno. Ukupna aroma vina predstavlja kombinaciju sortne arome (primarna aroma), arome koja nastaje alkoholnom fermentacijom (sekundarna aroma) te tijekom odležavanja i skladištenja (tercijarna aroma ili „bouquet“). Na kakvoću i organoleptička svojstva vina velik utjecaj imaju uvjeti skladištenja vina. Različiti uvjeti skladištenja različito djeluju na zadržavanje, odnosno gubitak određenih tvari karakterističnih za pojedinu vrstu vina. Skladištenjem se bitno ne mijenjaju osnovni kemijski sastojci vina. Međutim, različiti uvjeti skladištenja vina utječu na aromu i organoleptička svojstva vina. Skladištenje uzoraka na 4 °C i 25 °C imalo je za posljedicu smanjenje koncentracija pojedinih spojeva arome. Međutim, koncentracija određenih spojeva arome povećala se tijekom skladištenja, posebice koncentracija pojedinih kiselina. U ovom radu ispitivan je utjecaj skladištenja na osnovni kemijski sastav, tvari boje i arome u tri bijela vina, Palava, Pinot sivi i Traminac.

**Ključne riječi:** Vino, kemijski sastav, tvari boje, aroma, skladištenje

**Rad sadrži:** 62 stranice  
 14 slika  
 5 tablica  
 38 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** Hrvatski

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

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

**Datum obrane:** 21. studeni 2018.

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

## BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

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

**Graduate program: Food Engineering**

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food technology

**Course title:** Wine technology

**Thesis subject** was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. I held on October 31, 2017.

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

**Technical assistance:** Ivana Ivić, Master of Science

### **The influence of storage on the quality of white wines Palava, Pinot gray and Traminac**

*Bernardica Barbarić, 391/DI.*

#### **Summary:**

The wine classification is based on the chemical composition (sugar, acid, alcohol, dry extract, ash and phenolic content). The chemical composition, proportion of color substances and flavor in wine depend not only on the technological processes of production, but also on the grape variety of the grapes from which the wine is made. The total aroma of wine is a combination of varietal aroma (primary aroma), aroma that is produced by alcoholic fermentation (secondary aroma) and during aging and storage (tertiary aroma or „bouquet“). The quality and organoleptic properties of wine are influenced by the conditions of wine storage. Various storage conditions differ in the retention or loss of certain substances characteristic of a particular type of wine. Storage does not change a lot of basic chemical ingredients of wine. However, different wine storage conditions affect the aroma and organoleptic properties of wine. Sample storage at 4 ° C and 25 ° C resulted in a reduction in concentrations of certain aromatic compounds. However, the concentration of certain flavoring compounds increased during storage, especially the concentration of certain acids. This paper studies the influence of storage on basic chemical composition, color substances and flavor in three white wines Palava, Pinot gray and Traminac.

**Key words:** wine, chemical composition, color substances, aroma, storage

**Thesis contains:** 62 pages  
14 figures  
5 tables  
38 references

**Original in:** Croatian

#### **Defense committee:**

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

**Defense date:** November 21, 2018.

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

*Zahvaljujem se roditeljima koji su mi omogućili školovanje. Veliko hvala mentorici, izv. prof. dr.sc. Aniti Pichler na uloženom trudu i vremenu. Jednako tako, hvala i asistentici Ivani Ivić.*

## Sadržaj

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. UVOD</b> .....  | <b>1</b>  |
| <b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....   | <b>3</b>  |
| 2.1. GROŽĐE .....   | 4         |
| Povijest vinove loze .....  | 4         |
| Botanička svojstva vinove loze .....                                    | 4         |
| Mehanička i kemijska svojstva grozda.....                               | 5         |
| 2.2. VINO .....   | 7         |
| Definicija i podjela vina .....   | 7         |
| Sorte vinove loze za proizvodnju vina .....                             | 8         |
| 2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA .....   | 9         |
| Alkoholi.....   | 10        |
| Ugljikohidrati .....  | 11        |
| Kiseline.....   | 12        |
| Aldehidi i ketoni.....  | 13        |
| Esteri.....   | 13        |
| Tvari arome .....   | 13        |
| Enzimi.....   | 14        |
| Fenolni spojevi.....  | 14        |
| Mineralne tvari i pepeo .....   | 15        |
| Ekstrakt vina .....   | 15        |
| Dušične tvari.....  | 16        |
| Koloidi vina .....  | 17        |
| Proteini.....   | 17        |
| 2.4. PROIZVODNJA VINA.....  | 17        |
| Proizvodnja bijelih vina.....   | 17        |
| <b>2.5. ODREĐIVANJE SASTOJAKA AROME PLINSKOM KROMATOGRAFIJOM</b> .....  | <b>22</b> |
| Plinska kromatografija (GC).....  | 22        |
| Plin nositelj .....   | 23        |
| Uređaj za unošenje uzoraka (injektor) .....                             | 23        |
| Kromatografske kolone .....   | 24        |
| Detektori.....  | 24        |
| Spektrofotometrija masa.....  | 25        |
| SPME analiza .....  | 25        |
| <b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....                                     | <b>27</b> |
| <b>3.1. ZADATAK</b> .....   | <b>28</b> |
| <b>3.2. MATERIJAL I METODE</b> .....                                    | <b>28</b> |
| Sorta vinove loze Palava .....  | 28        |
| Sorta vinove loze Pinot sivi .....                                      | 29        |
| Sorta vinove loze Traminac .....  | 30        |
| Skladištenje uzoraka .....  | 32        |
| Kemijska analiza vina .....   | 32        |
| Analiza arome vina plinskom kromatografijom primjenom SPME analize..... | 38        |
| <b>4. REZULTATI</b> .....   | <b>43</b> |
| <b>5. RASPRAVA</b> .....  | <b>53</b> |
| <b>6. ZAKLJUČCI</b> .....   | <b>57</b> |
| <b>7. LITERATURA</b> .....  | <b>59</b> |

## Popis oznaka, kratica i simbola

|       |  |
|-------|--|
| SPME  | Solid Phase Microextraction (mikroekstrakcija na čvrstoj fazi) |
| GC    | Plinska kromatografija   |
| GC/MS | Plinska kromatografija sa maseno-selektivnim detektorom        |

## **1. UVOD**



Vinova loza (*Vitis vinifera*) jedna je od najstarijih kultiviranih biljnih vrsta. Prema botaničkim svojstvima vinova loza spada u porodicu Ampelideae, a prema međunarodnom kodeksu botaničke nomenklature u porodicu Vitaceae.

Vino se definira kao poljoprivredno prehrambeni proizvod, dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta, od svježeg i za preradu u vino pogodnog grožđa. Vino je vrlo složen proizvod koji sadrži velik broj kemijskih komponenti, te ih je identificirano oko dvije stotine.

Enologija je znanstvena disciplina koja se bavi tehnologijom vina. Ona proučava kemijski sastav vina, proizvodnju vina i čuvanje vina s ciljem boljeg iskorištenja sirovine i pronalaženjem načina za dobivanje vina konstantne kakvoće.

Tijekom pravilnog skladištenja vina ne dolazi do značajnih promjena u osnovnom kemijskom sastavu, dok se tvari boje i arome uvelike mijenjaju. Zbog toga je vrlo važno pratiti promjene parametara i pravilno skladištiti vino kao gotov proizvod.

Proizvodnja bijelih vina razlikuje se u redoslijedu određenih operacija od proizvodnje crnih vina. Osnovna razlika proizvodnje je u procesu vrenja. Kod crnih vina provodi se vrenje masulja, dok se kod bijelih vina provodi vrenje mošta.

Zadatak rada je ispitati utjecaj skladištenja na osnovni kemijski sastav, tvari boje i arome u tri bijela vina, Palava, Pinot sivi i Traminac.

## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. GROŽĐE

### Povijest vinove loze

Vinova loza (*Vitis vinifera*) je jedna od najstarijih kultiviranih biljnih vrsta čiji predak (*Vitis sylvestris*) je još uvijek postojan. Prema arheološkim i paleobotaničkim dokazima odnosno fosilnim otiscima listova, vinova loza se pojavljuje već u vrijeme krede, a sigurno u tercijaru. Međutim, otisci listova kao dokazi nisu dovoljno pouzdani budući da se lako mogu zamijeniti s nekim drugim vrstama sličnim vinovoj lozi. Zbog toga su ostaci sjemenki iz toga vremena pouzdaniji kao dokazi jer se sa sigurnošću mogu povezati s pojedinom vrstom. Prema pronađenim sjemenkama, danas se smatra da je vinova loza zasigurno do kraja tercijara bila široko rasprostranjena na sjevernoj hemisferi.

Zbog široke rasprostranjenosti vinove loze teško je odrediti povijest uzgoja. Najstariji dokazi ukazuju da je domestikacija započela u vrijeme neolitika (6000. – 5000. g. pr. Krista) i pronađeni su uz istočne obale Crnog mora. Oko 4000. g. pr. Krista uzgoj vinove loze se raširio na područje Mezopotamije, Sirije i Egipta. Budući da je područje hrvatske velikim dijelom prirodno stanište loze *Vitis sylvestris*, može se pretpostaviti da su i hrvatskim predcima plodovi vinove loze u davninama služili kao hrana (Maletić i sur., 2008.).

### Botanička svojstva vinove loze

Prema botaničkim svojstvima vinova loza spada u porodicu *Ampelideae* ili prema međunarodnom kodeksu botaničke nomenklature u porodicu *Vitaceae*. Vinova loza je biljka povijuša, vitkog stabla koja pri rastu traži potporanj uz koji se oslanja i penje. Porodica se sastoji od 10 rodova od kojih je za vinogradarstvo i znanost najvažniji rod *Vitis*.

Rod *Vitis* se sastoji od podrodova *Muscadinia* i *Euvitis*. Podrod *Muscadinia* je sačinjen od vrsta *Vitis rotundifolia* i *Vitis munsoniana*. Nadalje, podrod *Euvitis* čine 30 američkih, 40 azijskih i 1 euroazijska vrsta (*Vitis vinifera*).

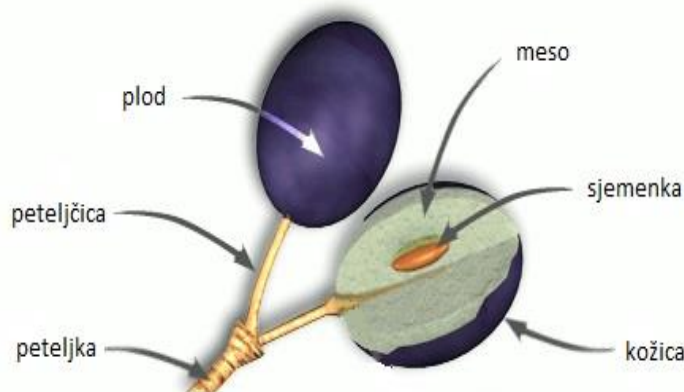
*Vitis vinifera* je jedini predstavnik roda *Vitis* na području Europe i zapadne Azije te se još naziva i euroazijska loza. Naziv vinova loza mogu nositi samo pripadnici ove vrste. Vrsta *Vitis vinifera* je podijeljena na loze *Vitis vinifera* var. *silvestris* (europska divlja loza) i *Vitis vinifera* var. *sativa* (europska kulturna loza).

Američke vrste se koriste kao podloge za europske vinske loze, a predstavnike tih vrsta čine *Vitis riparia*, *Vitis rupestris* i *Vitis berlandieri*. Tijekom niza godina promatranja ponašanja pojedinih sorti, stvoreni su hibridi koji su otporniji na bolesti te vremenske uvjete s obzirom na pojedinačne vrste. Tako se mogu pronaći američko-američki hibridi, europsko-američki hibridi i kompleksni hibridi (Pichler, 2017.).

### Mehanička i kemijska svojstva grozda

Mehanička struktura grozda predstavlja postotni udio pojedinih dijelova grozda i karakteristična je za svaku pojedinu sortu vinove loze (Pichler, 2016.).

Grozđ čine peteljkovina i grožđe. Prema tome, osnovna struktura grozda je grožđe, a sastoji se od peteljke, peteljčice i bobice (ploda) kao glavnog i najvažnijeg dijela. Nadalje, bobica se sastoji od sjemenke, mesa i kožice. Postotni odnos pojedinih dijelova grozda se ne može standardizirati, budući da ovisi o sorti, klimatskim uvjetima, vrsti tla, zdravstvenom stanju loze i grožđa, te o samom stupnju zrelosti grožđa (Paunović i Daničić, 1976.).



**Slika 1** Osnovna struktura grožđa (Web 1)

#### Peteljkovina

Peteljkovina je dio grozda koju čine peteljka i peteljčica, a zatim se dalje nadovezuje bobica (plod) sa svojom strukturom. U početku berbe peteljkovina je zelena i lako lomljiva, no vrlo brzo nakon berbe odrveni. Po kemijskom sastavu peteljkovina je bogata polifenolima. Ukoliko se tijekom pripreme grožđa za proizvodnju vina peteljkovina ne odvoji, ukupna količina polifenola u budućem vinu može se povećati i do 25 % u odnosu na vina kod kojih se tijekom pripreme peteljkovina odvojila. Peteljkovina vinu daje okus na zeleno i gorko (Zorčić, 1996.).

### Peteljka

Skelet grozda predstavlja peteljka koja završava peteljčicama i na kraju bobicom. Vrlo je važna tijekom vegetacije, budući da provodi hranjive tvari iz mladice i lista u bobicu. Udio peteljke kod vinskih sorti je između 2 i 8 %, dok je kod stolnih sorti oko 1,5 %. Osim za vrijeme vegetacije, peteljka je važna i za kemijski sastav vina. Odlikuje se niskom kiselošću, bogata je polifenolima, siromašna šećerima (10 g šećera na 1 kg grožđa), a na mineralne tvari otpada 5 do 6 % suhe tvari. Kemijski sastav peteljke ima značajan utjecaj na kvalitetu budućeg vina (Paunović i Daničić, 1976.). Vrlo važan sastojak peteljke su tanini. S obzirom na stupanj polimerizacije utječu više ili manje na okus gorčine, a samim time i na okus budućeg vina. Prilikom prerade grožđa treba voditi računa o što manjem oštećenju peteljke, kako bi se spriječio prijelaz tvari iz peteljke u vino. Vina kod kojih je peteljka slomljena i zgnječena tijekom prerade grožđa su opora, gorka i zelena (Sokolić, 1976.).

### Bobica

Bobica predstavlja glavni i najvažniji dio grozda, te čini 92 do 97 % grozda. Kod većine sorata bobica je zelene boje i obavlja fotosintezu. Približavanjem stadiju pune zrelosti ona mijenja boju iz zelene u zeleno žutu, crvenkastu ili tamno crvenu.

Kemijski sastav bobice čine:

- voda (75 do 80 %),
- šećeri (18 do 25 %),
- organske kiseline (0,5 %),
- mineralne tvari (0,3 do 1 %) te
- celuloza s udjelom od 0,6 % (Zoričić, 1996.).

Bobice se međusobno razlikuju po obliku, veličini, boji, krupnoći te većoj ili manjoj zbijenosti na grozdu. Bobica je građena od kože, mesa bobice sa grožđanim sokom i sjemenki.

Kožica bobice se sastoji od šest do deset slojeva. Izvana je prekrivena voštanim slojem koji štiti unutrašnjost bobice od prodiranja vode i evaporacije. U stadiju pune zrelosti udio kože iznosi 8 do 11 % od ukupne težine bobice (Paunović i Daničić, 1976.). Kožica sadrži polifenole, kiseline, aromatične tvari, proteine, netopljive pektine, minerale, te vinu daje tvari boje, okusa i mirisa (Zoričić, 1996.).

Meso bobice čini 75 do 85 % ukupne težine bobice i predstavlja glavni dio bobice (Vrdoljak, 2009.). U mesu bobice se može pronaći 2 do 7 sjemenki, dok su neke sorte potpuno bez njih. Prema kemijskom sastavu sjemenka sadrži najviše vode (25 do 50 %), ugljikohidrata (30 do 35 %), ulja (12 do 20 %), a zatim mineralnih tvari (2 do 5 %) te tanina (3 do 6 %) (Zoričić, 1996.).

## 2.2. VINO

### Definicija i podjela vina

Prema Zakonu o vinu (NN 14/2014) vino je poljoprivredno prehrambeni proizvod, dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta, od svježeg i za preradu u vino pogodnog grožđa.

Pod grožđem se u smislu ovog Zakona podrazumijeva zdrav, zreo, prezreo, prosušen ili prirodno zamrznut plod vinove loze priznatih kultivara namijenjen proizvodnji vina ili drugih proizvoda od grožđa i vina, a čiji sok sadrži minimalnu količinu šećera od 64 ° Oechsle (133 g/L šećera).

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

Zakonom o vinu (NN 96/2003) donesena je odluka o podjeli vina na:

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

Prema boji vina se dijele na:

- bijela,
- ružičasta (rose, opolo) i
- crna odnosno crvena vina (Zakon o vinu, 2003.).

Nadalje, prema sadržaju neprevrelog šećera vina se dijele:

- mirna vina na suha, polusuha, poluslatka i slatka i

- pjenušava, biser i gazirana vina na vrlo suha, suha, polusuha, poluslatka i slatka (Zakon o vinu, 2003.).

Osim navedenih podjela, vina se razvrstavaju i u kvalitetne kategorije ovisno o:

- kakvoći prerađenog mošta,
- prirodu po hektaru,
- stupnju zrelosti grožđa,
- njezi, randmanu,
- količini prirodnog alkohola i drugih sastojaka i
- organoleptičkim svojstvima (Zakon o vinu, 2003.).

Po kakvoći mirna vina se dijele na stolna, kvalitetna i vrhunska vina. Kvalitetna i vrhunska vina koja su u podrumskim uvjetima čuvana pet ili više godina, od toga najmanje tri godine u boci, mogu nositi oznaku arhivsko vino (Zakon o vinu, 2003.).

### **Sorte vinove loze za proizvodnju vina**

Prema Pravilniku o označavanju vina oznakom sorte vinove loze (NN 79/2017), sorte vinove loze za proizvodnju vina moraju pripadati vrsti *Vitis vinifera* ili križancima *Vitis vinifera* s drugim vrstama roda *Vitis*.

Sorte od kojih je zabranjeno proizvoditi vino su:

- *Noah*,
- *Othello*,
- *Isabelle*,
- *Jacquez*,
- *Clinton*,
- *Herbemont* i
- drugi izravno rodni hibridi (NN 79/2017).

Da bi vino nosilo oznaku sorte vinove loze, udio te sorte mora biti najmanje 85 % u proizvedenom vinu. Ukoliko je vino napravljeno od dvije ili više sorata vinove loze, njihov zajednički udio u proizvedenom vinu mora iznositi 100 %.

**Najvažnije vinske sorte u kontinentalnoj Hrvatskoj (Maletić, 2008.):**

Bijela vina:

1. Graševina bijela
2. Rizling rajnski bijeli
3. Chardonnay bijeli
4. Traminac mirisavi
5. Traminac crveni
6. Pinot bijeli
7. Pinot sivi
8. Sauvignon bijeli
9. Plemenka bijela

Crna vina:

1. Frankovka crna
2. Cabernet Sauvignon crni
3. Portugizac crni
4. Zweigelt
5. Pinot crni
6. Merlot crni

**Najvažnije vinske sorte u primorskoj Hrvatskoj (Maletić, 2008.):**

Bijela vina:

1. Malvazija istarska bijela
2. Pošip bijeli
3. Grk bijeli
4. Maraština bijela
5. Žilavka bijela
6. Kujunduča bijela

Crna vina:

1. Plavac mali
2. Babić crni
3. Merlot crni
4. Teran crni
5. Cabernet Sauvignon crni
6. Plavina crna crljenak

**2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA**

Vino je proizvod koji sadrži velik broj komponenti koje prema kemijskoj građi spadaju u raznolike grupe spojeva. U vinu je identificirano oko dvije stotine različitih komponenti (Vrdoljak, 2009.). Udjeli pojedinih komponenti u vinu i međusobni odnosi određuju se



kemijskom analizom i moraju biti u skladu s propisima određenim u Zakonu o vinu (Zoričić, 1996.).

### **Alkoholi**

Alkoholi su organski spojevi koji sadrže jednu ili više hidroksilnih (OH) skupina vezanih na alkilnu (R-) skupinu.

Vino sadrži velik broj različitih alkohola koji se mogu podijeliti u dvije osnovne skupine:

- alifatski i
- aromatski alkoholi (Vrdoljak, 2009).

Alifatski alkoholi se dalje dijele na monovalentne (1 OH skupina) i viševalentne (2 ili više OH skupina). Najznačajniji predstavnici monovalentnih alkohola u vinu su etanol i metanol. Dopusćeni udio alkohola u vinu se kreće od 8.5% vol. kod stolnih vina do 15% vol. kod kvalitetnih i vrhunskih vina.

Etanol ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ) u vinu nastaje alkoholnom fermentacijom prirodnih šećera iz grožđa, a u iznimnim slučajevima iz saharoze dodane prilikom popravljivanja mošta. Etanol predstavlja glavni produkt alkoholne fermentacije i iza vode je najzastupljeniji sastojak vina. Količina nastalog etanola u vinu ovisi o udjelu šećera u grožđu i moštu. Sadržaj etanola u vinu se kreće između 10 % i 12 %, te je važan čimbenik za kakvoću vina (Vrdoljak, 2009.).

Metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) se u vinu javlja kao prirodni nusprodukt, a nastaje hidrolizom pektinskih tvari. Bijela vina ga sadrže 2 do 3 puta manje od crnih vina. Nalazi se u vinima dobivenima od sorti grožđa bogatih pektinom. Metanol oksidacijom može preći u formaldehid i mravlju kiselinu koji su toksični za centralni živčani sustav (Pozderović, 2010.).

Osim etanola i metanola u vinu se nalaze i viši alkoholi (alkoholi s dva i više C atoma). Međutim, za razliku od etanola oni se javljaju u minimalnim količinama, te s kiselinama daju estere koji poboljšavaju kakvoću vina. Najznačajniji su izobutanol, amilalkohol i izoamilalkohol.

Od viševalentnih alkohola (sadrže više hidroksilnih skupina) posebno se može izdvojiti glicerol. Glicerol je trovalentni alkohol koji nastaje alkoholnom fermentacijom i veoma je važan parametar kvalitete vina jer utječe na viskoznost, slatkoću i harmoničnost vina.

Od aromatskih alkohola koji su prisutni u vinu najznačajniji je fenil-etanol, koji je ujedno i najzastupljeniji te utječe na bouquet vina. Fenil-etanol vinu daje miris meda (Vrdoljak, 2009.; Pozderović, 2010.).

### **Ugljikohidrati**

Ugljikohidrati su organski spojevi građeni od ugljika, vodika i kisika. Nastaju u procesu fotosinteze u zelenim dijelovima vinove (Čobanov, 2016.).

Prema složenosti dijele se na:

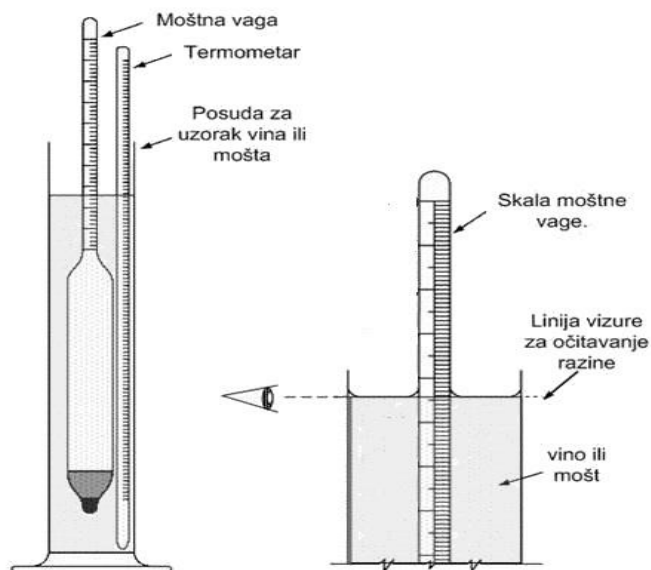
- monosaharide,
- disaharide i
- polisaharide (Stričević i Sever, 2001.).

Od monosaharida u grožđu, moštu i vinu u najvećoj koncentraciji se nalaze glukoza i fruktoza. U tijeku razvoja bobice glukoza je zastupljena u većoj količini u odnosu na fruktozu. Zrenjem grožđa raste udio fruktoze u odnosu na glukozu, međutim kada grožđe dospije u stupanj tehnološke zrelosti taj odnos je gotovo izjednačen.

Od oligosaharida u grožđu su prisutni saharoza, maltoza, laktoza, rafinoza i trehaloza. Samo je saharoza bitna za kakvoću vina, dok ostali oligosaharidi nemaju utjecaj.

Polisaharidi prisutni u grožđu tijekom proizvodnje vina imaju negativan utjecaj. Naime, oni znatno otežavaju taloženje i bistrenje vina (Vrdoljak, 2009.).

Određivanje ugljikohidrata (šećera) u grožđu i moštu provodi se moštnim vagama (Oechslova i Baboova ili Klosterneuburška), te refraktometrom (Horvat, 2010.).



**Slika 2** Upotreba moštne vage (Web 2)

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

### Kiseline

Kiseline u vinu su prisutne kao normalni sastojci vina, ali mogu biti i pokazatelji kvarenja vina. U vinu su prisutne organske kiseline (nehlapljive i hlapljive), anorganske kiseline i soli različitih kiselina.

Organske kiseline u vinu se mogu pojaviti iz:

- grožđa odnosno mošta (vinska, jabučna, limunska, askorbinska, oksalna, glikolna, glukonska),
- alkoholne fermentacije (piruvična, mliječna, octena, sukcinjska, oksalna i fumarna kiselina),
- malolaktičke fermentacije (mliječna kiselina nastala malolaktičkom fermentacijom iz jabučne kiseline) i
- metabolizma sive plijesni na grožđu (Horvat, 2010.).

Organske kiseline koje se nalaze u vinu su vrlo važne za organoleptička svojstva vina.

Kiseline u vinu mogu biti:

- ukupne kiseline (sadržaj svih kiselina u vinu, iskazuju se kao vinska kiselina)
- hlapljive i nehlapljive kiseline (Pozderović, 2010.).

Udio kiselina u grožđu i moštu kreće se od 5 do 15 g/L. Premalo kiseline vinu daje tupi okus. Od nehlapljivih kiselina najznačajniji predstavnici su vinska, jabučna mliječna, jantarna i limunska kiselina.

### **Aldehidi i ketoni**

Aldehidi i ketoni su veoma značajni za organoleptička svojstva vina. Oni tvore karakterističnu aromu i bouquet vina. Aldehidi vinu daju oštar miris koji podsjeća na voće. Najzastupljeniji aldehid u vinu je acetaldehid, koji nastaje alkoholnim vrenjem i od ukupnih aldehida u vinu 90 % otpada upravo na acetaldehid

Ketoni su u moštu i vinu slabo zastupljeni. Najviše ima acetona, zatim acetoina i diacetila. Većina ima miris svježeg maslaca, što u većim količinama može podsjećati na miris užeglosti (Vrdoljak, 2009.).

### **Esteri**

Esteri su spojevi koji nastaju tijekom reakcije esterifikacije između alkohola i kiselina. U grožđu se esteri nalaze u vrlo malim količinama. Vino za razliku od grožđa sadrži veću količinu estera. Jedan dio nastaje tijekom procesa fermentacije (hlapljivi esteri), a drugi tijekom odležavanja i starenja vina (nehlapljivi esteri). Najznačajniji su esteri octene kiseline koji vinu daju svježinu i ugodan miris. To su etil acetat, propil acetat, izopropil acetat, izobutil acetat i izoamil acetat (Vrdoljak, 2009.).

### **Tvari arome**

Aromu vina čine različiti hlapljivi spojevi koji se nalaze u malim koncentracijama. Procjenjuje se da oko 800 hlapljivih spojeva sudjeluje u stvaranju arome vina. Njihov sadržaj ponajprije ovisi o sorti vinove loze, zrelosti grožđa, načinu uzgoja, klimi, sastavu tla, primjeni agrotehničkih mjera, te o samoj tehnologiji prerade grožđa u vino. Bouquet je izraz koji se koristi za aromu vina.

Tvari arome pripadaju velikom broju različitih kemijskih spojeva kao što su hlapljive karboksilne kiseline, alkoholi, esteri, aldehidi, ketoni, eterična ulja, više masne kiseline, terpeni, te tvari slične smolama i voskovima. Aroma vina je kompleksna i nastaje složenim kemijskim, biokemijskim i mikrobiološkim putem.

S obzirom na porijeklo i proces nastajanja aromu vina možemo podijeliti na:

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

Najvažniji hlapljivi spojevi primarne arome iz grožđa su geraniol, linalol, nerol,  $\alpha$ -terpineol, citronelol i hotrineol. Ovi spojevi su odgovorni za voćne i cvjetne mirise pojedinih sorti grožđa. Tvari arome se mogu određivati instrumentalnim metodama, analitičkim metodama i senzorskim ocjenjivanjem (Vrdoljak, 2009.).

### **Enzimi**

Enzimi su organski biokatalizatori. U moštu i vinu imaju važnu ulogu kao pokretači kemijskih reakcija tijekom vinifikacije, taloženja i bistrenja vina, odležavanja, starenja i njege vina. Značajni su također i za razvoj sekundarne arome vina. U vinu je prisutan veliki broj enzima, među kojima su najvažniji saharaza, tanaza, pektaza i katalaza.

Saharaza je vrlo važan enzim zbog sposobnosti hidrolitičkog cijepanja saharoze na glukozu i fruktozu. Enzim tanaza se primarno ne nalazi u vinu. U vino dospijeva sa plijesni trulog grožđa. Tanaza katalizira tvorbu taninskih tvari u vinu. Za bistrenje vina najznačajnija je pektaza koja hidrolizira pektinske tvari na metanol i poligalakturonsku kiselinu. Katalaza je enzim koji ubrzava oslobađanje kisika iz vodikovog peroksida i ostalih peroksidnih spojeva, te na taj način uništava toksično djelovanje navedenih spojeva (Prce, 2014.).

### **Fenolni spojevi**

Fenoli su organski spojevi koji sadrže benzenski prsten i jednu ili više hidroksilnih skupina (-OH) neposredno vezanih na benzenski prsten. S obzirom na broj hidroksilnih skupina fenoli se

dijele na monofenole, difenole, trifenole i polifenole (Osrečak i sur., 2011.). Fenolni spojevi se ekstrahiraju alkoholnom fermentacijom iz masulja, te prelaze u mošt a zatim u vino (Mihovilović, 2016.).

Fenolni spojevi su važni zbog antioksidativne aktivnosti koju posjeduju, te zbog velikog utjecaja na organoleptička svojstva vina (boja, gorčina, trpkost). Udio fenolnih spojeva u bijelim vinima je znatno manji nego u crnim. Razlog tomu je tehnologija proizvodnje bijelih vina, gdje je kožica koja sadrži najveću količinu ukupnih fenola vrlo kratko u doticaju sa sokom grožđa. Problem bijelih sorti je što uopće ne sadrže određene pigmente kao što su antocijani, koji su vrlo značajni za ukupni sastav polifenola (Osrečak i sur., 2011.).

Najznačajniji fenolni spojevi u vinu su fenolne kiseline i njihovi derivati, flavonoidi, tanini i antocijani.

### **Mineralne tvari i pepeo**

Pepeo čine anorganske tvari vina koje ulaze u sastav vina, a zaostaju nakon isparavanja vode i potpunog spaljivanja suhe tvari. Količina pepela u vinu ovisi o sorti vinove loze, kakvoći i zrelosti grožđa, sastavu tla, mikro i makroklimatskim uvjetima te tehnologiji prerade grožđa u vino. Crna vina za razliku od bijelih sadrže veće količine pepela jer se tijekom fermentacije masulja ekstrahiraju veće količine mineralnih tvari iz čvrstih dijelova grožđa.

Pepeo u vinu se većinom sastoji od kalcijevih, kalijevih i magnezijevih soli sumporne, fosfatne i karbonatne kiseline, te od tragova fluora, bakra, željeza, mangana i drugih elemenata. Vina sa većom količinom mikroelemenata (Fe, Mn, Zn, Co, Ni) imaju bolju aromu i bouquet, te izraženije sortne karakteristike grožđa u vinu (Vrdoljak, 2009.).

### **Ekstrakt vina**

Ekstrakt vina čine:

- ugljikohidrati,
- nehlapive kiseline (vinska, mliječna, jabučna),
- mineralne tvari,
- glicerol,
- butilen,
- glikol,

- tanini i
- tvari boje (Vrdoljak, 2009.).

Ekstrakt u vinu može biti:

- ukupni suhi ekstrakt (skup svih organskih i mineralnih tvari sadržanih u vinu koje nisu hlapljive pod specifičnim fizikalnim uvjetima),
- nereducirani ekstrakt bez šećera (dobije se kada se od ukupnog suhog ekstrakta oduzme sadržaj ukupnih šećera u vinu) i
- reducirajući ekstrakt (dobije se kada se od ukupnog suhog ekstrakta oduzme sadržaj ukupnih šećera umanjen za 1 g ako je sadržaj šećera preko 1 g/L) (Vrdoljak, 2009.).

Sadržaj ekstrakta u vinu ovisi o vrsti vina i klimatskim uvjetima. Južniji krajevi sa više sunčanih sati godišnje, daju grožđe i vina sa više ekstrakta (Vrdoljak, 2009.).

### **Dušične tvari**

Dušični spojevi u vino dolaze prvenstveno iz grožđa. Najviše dušičnih tvari nalazi se u čvrstim dijelovima grožđa, peteljkovini, kožici i sjemenkama. Količina dušičnih tvari ovisi o bogatstvu tla dušičnim spojevima, zdravstvenom stanju grožđa (zdravije grožđe sadrži višedušičnih spojeva), te o načinu prešanja (samotok sadrži manje dušičnih tvari od prešavine) (Zoričić, 1996.).

Dušični spojevi su prisutni u manjim količinama za razliku od ostalih spojeva. Bez obzira na malu količinu mogu znatno utjecati na boju, aromu, bistroću i zdravstvenu ispravnost vina (Vrdoljak, 2009.).

Spojevi s dušikom koji se nalaze u moštu i vinu dijele se na organske i anorganske.

U te dvije skupine spadaju:

- proteini,
- polipeptidi,
- amini,
- amidi,
- heksozamini,
- nukleinski dušik i
- biološki amini (Zoričić, 1996.).

### **Koloidi vina**

Koloidne tvari u vinu imaju veoma nepovoljan učinak na organoleptička svojstva vina. One dovode do zamućenja vina, povećanja viskoznosti, opalesciranja i pojave kataforeze (čestice posjeduju istovrstan naboj). Koloidne tvari su sluzave tvari sastavljene od proteina i pektinskih tvari. Veličina čestica koloidnih tvari je od 1 do 100  $\mu\text{m}$ .

Koloidne tvari se dijele na lipofilne i liofobne. Lipofilni koloidi povećavaju kiselost vina, te uglavnom sadrže kompleksne spojeve željeza, fosfora i bakra. Liofobni koloidi su osjetljivi na elektrolite, te pri malim promjenama pH dolazi do njihove koagulacije (Prce, 2014.).

### **Proteini**

Proteini su makromolekule izgrađene od aminokiselina molekularne mase oko 10 000. U vinu proteini potječu iz grožđa i kvasaca. Vrlo su nestabilni spojevi koji se talože sa taninima. U vinu se proteini ponašaju kao koloidi sa pozitivnim (+) električnim nabojem. Koagulacijom proteini postaju negativno (-) nabijene čestice. U mladim bijelim vinima se nalaze u većoj količini i negativno utječu na stabilnost vina. U crnim vinima su manji problem, jer se talože sa taninima kojih ima više u crnim vinima. Proteini u vinu, posebno u bijelom vinu su nestabilni, te se spontano i sporo talože (Vrdoljak, 2009.).

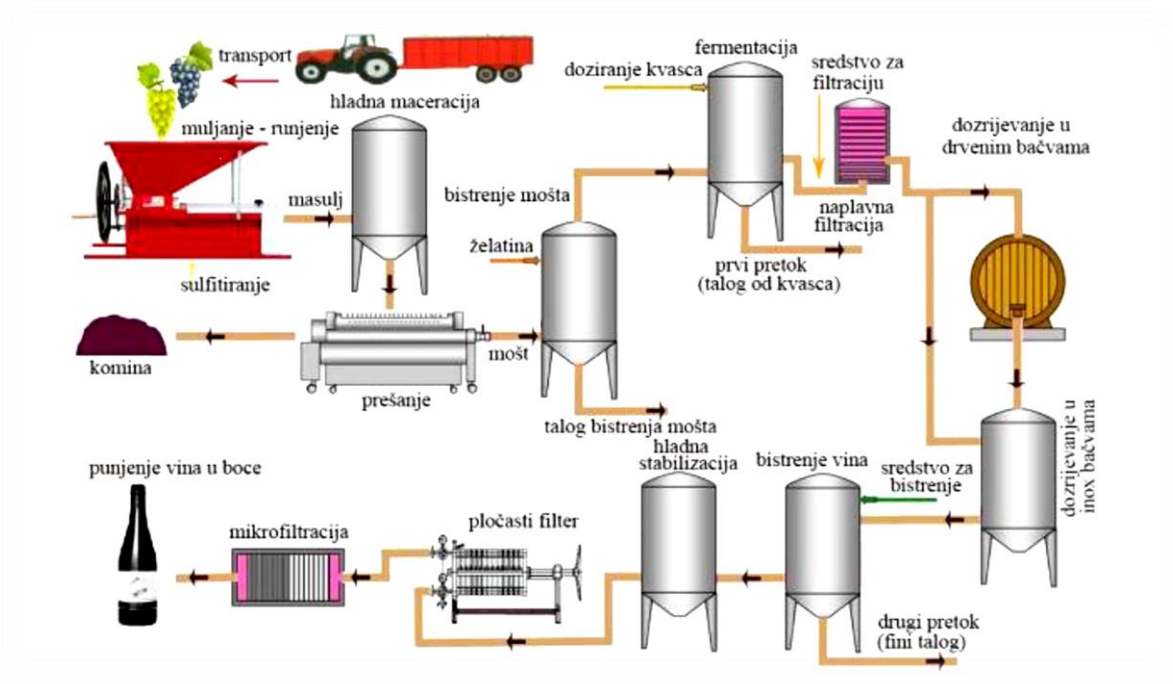
## **2.4. PROIZVODNJA VINA**

Enologija je znanstvena disciplina koja se bavi tehnologijom vina. Ona proučava kemijski sastav vina, proizvodnju vina i čuvanje kakvoće vina s ciljem boljeg iskorištenja sirovine i pronalaženjem načina za dobivanje vina konstantne kakvoće.

### **Proizvodnja bijelih vina**

Proizvodnja bijelih vina razlikuje se u redosljedu određenih operacija od proizvodnje crnih vina. Osnovna razlika proizvodnje je u procesu vrenja. Kod crnih vina provodi se vrenje masulja, dok se kod bijelih vina provodi vrenje mošta.





Slika 3 Vinifikacija bijelih vina (Web 3)

Tehnološki proces proizvodnje bijelih vina može se podijeliti na tri osnovne faze:

- berba i prerada grožđa,
- alkoholno vrenje mošta i
- formiranje prave kakvoće vina (Vrdoljak, 2009.).

Berba i prerada grožđa predstavljaju početnu fazu u proizvodnji vina i obuhvaćaju više različitih operacija. Uglavnom se radi o mehaničkim operacijama berbe, transporta, muljanja, cijedenja, prešanja, taloženja mošta, popravljivanja kemijskog sastava mošta (zaslađivanje i popravljivanje kiselosti) i sumporenja (Vrdoljak, 2009.). Jedan od glavnih uvjeta za proizvodnju dobrog i kvalitetnog vina je pravilno određivanje vremena berbe grožđa. Grožđe se bere ustadiju tehnološke zrelosti jer tada doseže najpovoljnije karakteristike za proizvodnju kvalitetnog vina. Kako bi se pravilno odredilo točno vrijeme tehnološke zrelosti, potrebno je pratiti sazrijevanje grožđa tijekom 15 dana prije berbe (Gospodarski list, 2010.).

Berba grožđa može se obavljati ručno i strojno. Manipulacija grožđem tijekom berbe, transporta i prijema vrlo je važna i utječe na kvalitetu budućeg vina. Potrebno je što manje oštetiti pokožicu bobica kojima je sok u mesu bobice prirodno zaštićen od infekcije nepoželjnim mikroorganizmima i preranog početka alkoholne fermentacije (Pozderović, 2010., Vrdoljak, 2009.).

Prijem grožđa u vinariji se sastoji od:

- vaganja,
- vizualnog pregleda (stanje zrelosti, zdravlje, pljesnivost, oštećenje od tuče) i
- određivanja šećera i ukupnih kiselina (Vrdoljak, 2009.).

### Runjenje i muljanje

Runjenje je operacija kojom se bobica odvaja od peteljki u uređaju sa perforiranim cilindrom i lopaticama, koji može biti prije i poslije muljače. Muljanje grožđa se odvija u muljači. To je proces gnječenja bobica i oslobađanja soka (mošta) iz mesa bobica. Danas na modernim strojevima, runjača – muljača, odvaja se runjanjem u bubnju s rupicama bobica od peteljkovine, a zatim se na valjcima mulja (gnječi) bobica. Na taj način se dobiva smjesa soka i krutih dijelova bobice (sjemenka i kožica) zvana masulj. Odvajanje peteljkovine je vrlo važna faza jer se na taj način vino oslobađa gorčine i trpkosti (Gospodarski list, 2010.).



**Slika 4** Električna runjača-muljača za grožđe (Web 4)

### Cijeđenje i prešanje

Nakon muljanja slijedi proces cijeđenja mošta. Spontanom ocjeđivanjem mošta dobiva se vino najbolje kakvoće. Tako ocijeđeni mošt naziva se samotok. Nakon samoocijeđivanja mošta slijedi prešanje zaostalog masulja. Prije prešanja potrebno je depektinizirati masulj u cilju razgradnje protopektina i pektina kako bi se olakšalo prešanje i povećalo iskorištenje mošta. Prešanje se najčešće provodi kontinuiranim pužnim prešama, pod tlakom čime se dobiva mošt I., II. i III. prešavine. Ukoliko se primjenjuju manji tlakovi prilikom prešanja dobivaju se prešavine bolje kakvoće i s manje taloga (Vrdoljak, 2009., Pozderović, 2010.).

### Sumporenje mošta i vina

Sumporenje je vrlo važan proces prilikom proizvodnje vina. Sumpor štiti mošt i vino od oksidacije, te utječe na selekciju mikroorganizama i koagulaciju bjelančevina pri taloženju

mošta. Ukoliko sumporenje nije provedeno kod muljanja grožđa, mošt se sumpori nakon prešanja sa kalijevim metabisulfitom (vinobran). Količina sumpora koja se dodaje tijekom sumporenja ovisi o zdravstvenoj ispravnosti grožđa. Stoga je bolesno grožđe potrebno jače sumporiti. Potrebe za sumporenjem vina su manje ukoliko se pravilno provodi sumporenje mošta. Premalo sumpora utječe negativno na zdravstvenu ispravnost budućeg vina. Isto tako i dodatak prevelike količine sumpora nije pravilan izbor, budući da sumpor ima loše djelovanje na zdravlje ljudi te negativno djeluje na organoleptička svojstva vina (Pozderović, 2010., Vrdoljak, 2009., Gospodarski list, 2010.).

### **Depektinizacija mošta**

Depektinizacija mošta se provodi kako bi se smanjila viskoznost mošta i ubrzao proces bistrenja mošta. Kako bi se izvršio proces depektinizacije dodaju se enzimi za depektinizaciju, depolimerizaciju i deesterifikaciju. Depektinizacija se provodi u vertikalnim tankovima u kojima se provodi također i bistrenje mošta. Vrijeme depektinizacije ovisi o temperaturi mošta koja se kreće između 10 °C i 25 °C, a ponekad i više. Ukoliko je temperatura niža od potrebne, tijekom depektinizacije u mošt se dodaju veće količine enzima kako bi proces bio uspješan (Vrdoljak, 2009.).

### **Bistrenje mošta**

Bistrenje mošta se provodi s ciljem taloženja nečistoća iz mošta koje su došle sa groždem. Potrebno je ukloniti nečistoće kako kasnije ne bi utjecale na kvalitetu i bistroću vina. Nadalje, ukoliko se nečistoće uklone, vrenje mošta je sigurnije i mirnije te nije potrebno naknadno bistrenje vina. Bistrenje se može provesti spontanom taloženjem mošta kroz 24 sata ili uz dodatak bistrila. Nakon bistrenja mošt se pretače u bačve ili cisterne, te mu se dodaje prethodno pripremljeni selekcionirani vinski kvasac (Vrdoljak, 2009.).

### **Glavno vrenje**

Alkoholna fermentacija mošta predstavlja glavno vrenje i početak nastanka vina. Može se provoditi u drvenim, metalnim ili betonskim vrionicima. Alkoholna fermentacija se odvija u dvije odvojene faze.

Prva faza je glavno ili burno vrenje. Može se odvijati na temperaturama od 15 do 18 °C (maksimalno 20 °C) u trajanju pet do deset dana i predstavlja toplo vrenje. Osim toplog postoji i hladno vrenje koje se odvija na temperaturama od 10 do 15 °C i traje od 7 do 14

dana. Druga faza je naknadno ili tiho vrenje koje se odvija na minimalnoj temperaturi od 15 °C i traje tri do šest tjedana.

Mošt predstavlja hranjivu podlogu pogodnu za rast i razmnožavanje kvasaca jer sadrži tvari za njegovu ishranu kao što su šećeri, dušične tvari, mineralne tvari i vitamini (Vrdoljak, 2009.). Osnovna hranjiva tvar potrebna za rast i razmnožavanje kvasaca je šećer kojeg razlažu na etanol i ugljikov dioksid. Navedeni produkti predstavljaju primarne produkte fermentacije, ali osim njih nastaju i manje količine sekundarnih produkata kao što su glicerol, jantarna kiselina, acetaldehid, hlapljive kiseline, viši alkoholi, aminokiseline i metanol. Nastajanje svih navedenih produkata metabolizma kvasaca popraćeno je oslobađanjem topline. Proces alkoholnog vrenja izuzetno je važan za kreiranje arome vina, budući da najveći dio arome vina nastaje upravo u procesu alkoholnog vrenja djelovanjem kvasaca. Zbog toga je vrlo važno pravilno odabrati soj kvasca i optimalnu temperaturu.

Stručnjaci preporučuju vrenje pri niskim temperaturama (hladno vrenje) koje se provodi na temperaturama od 8 do 17 °C. Takvo vrenje zahtjeva upotrebu selekcioniranih kvasaca pogodnih za hladno vrenje. Najvažniji razlog provođenja vrenja pri navedenim uvjetima je gubitak tvari arome koji se događa pri temperaturama od 25 °C i više. Na visokim temperaturama vrenje je burno, ugljikov dioksid naglo isparava i povlači za sobom veliku količinu aromatičnih tvari i alkohola, što ima negativan utjecaj na kvalitetu budućeg vina. Vina dobivena pri visokim temperaturama nemaju dovoljno izražen sortni miris.

Za razliku od vrenja na visokim temperaturama, vrenjem kod nižih temperatura (max. 17 °C) iskorištenje šećera je bolje, te dobivena vina imaju više aromatičnih tvari. Kod nižih temperatura ugljikov dioksid se otapa u vinu i daje mu svježinu. Ovako dobivena vina imaju izražen sortni miris, bolji okus i bolje zadržavaju svježinu.

Alkoholna fermentacija je prirodno zaštićen proces jer vinski kvasci proizvode ugljikov dioksid čime stvaraju anaerobne uvjete, nepogodne za rast i razmnožavanje nepoželjnih mikroorganizama. Prva faza fermentacije je aerobna, odnosno kvasci koriste kisik iz zraka i potpuno razlažu šećer do ugljikovo dioksida. Oslobađa se velika količina energije koju kvasci koriste za intenzivan rast i razmnožavanje. U drugoj fazi (anaerobno) oslobađa se znatno manja količina energije. Šećeri se u ovoj fazi razlažu do etanola i CO<sub>2</sub>. Iako je fermentacija strogo anaeroban proces, povremeno provjetravanje rezultira boljim iskorištenjem šećera (Vrdoljak, 2009.; Pozderović, 2010.).

### Tiho vrenje

Nakon što je završilo glavno vrenje, vrionici se dopunjavaju kako bi se održali anaerobni uvjeti. Nadopunjavanje vrionika rezultira naglim hlađenjem vina, oslobađanje nagomilanog CO<sub>2</sub>, intenzivnim taloženjem nepoželjnih produkata vrenja i prirodnim spontanim bistrenjem. Hlađenjem se talože stanice vinskog kvasca, soli teških metala, proteini i zaostale čestice grožđa, te se razgrađuju vinska i jabučna kiselina (Vrdoljak, 2009.).

### Dozrijevanje, hladna stabilizacija, filtracija i punjenje u boce

Zrenjem tj. odležavanjem, mlado vino se diže sa taloga te se dobivaju aromatične tvari, boja i bistroća. Zrenje vina se provodi na temperaturi od 10 do 12 °C uz pretakanja u pravilnim vremenskim razmacima u svrhu odvajanja vina od stanica kvasaca i taloga. Tijek zrenja ovisi o uvođenju kisika, a uvelike pridonosi kakvoći i stabilnosti vina. Vina se danas najčešće čuvaju u bocama. Vina u bocama su dobro zaštićena jer je minimalan pristup kisika i tako je bolje očuvana kakvoća vina (Vrdoljak, 2009.).

## 2.5. ODREĐIVANJE SASTOJAKA AROME PLINSKOM KROMATOGRAFIJOM

### Plinska kromatografija (GC)

Kromatografskom analizom se odjeljuju, identificiraju i kvantitativno određuju kemijski sastojci prisutni u smjesama (grč. *chroma* – boja, *graphein* – pisati) (Vrdoljak, 2009.).

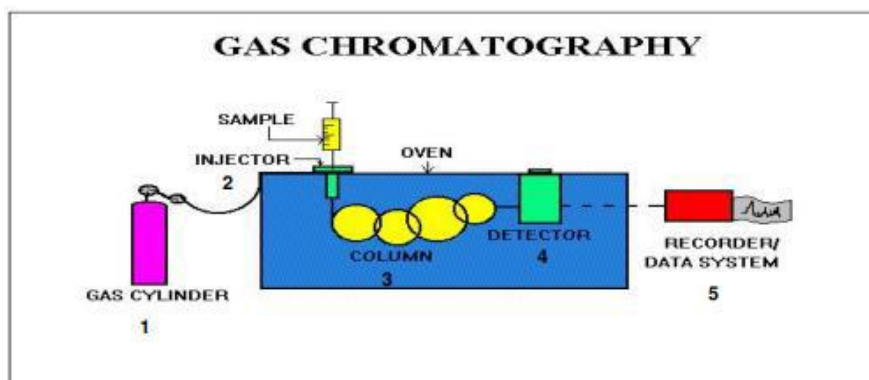
Kromatografija je fizikalna metoda separacije u kojoj se sastojci raspodjeljuju između dviju faza, od kojih je jedna nepokretna (stacionarna), dok se druga kreće u određenom smjeru (pokretna faza). Uzorak se nalazi otopljen u pokretnoj fazi i kreće se uzduž nepokretne faze, koja može biti u koloni ili na ravnoj plohi. Pokretna faza može biti tekućina, plin ili fluid u superkritičnim uvjetima.

Kod plinske kromatografije (GC), pokretna faza se nalazi u plinovitom stanju (plin nositelj), a stacionarna faza je kruti adsorbens ili tekućina nanosena na kruti nosač. Uzorak se injektira na početak kromatografske kolone gdje isparava. Eluiranje se provodi pomoću protoka inertnog plina kao mobilne faze. Odvajanje sastojaka na GC koloni uvjetovano je razlikom u njihovoj hlapivosti. Plin nositelj ne reagira s analiziranim komponentama, već služi isključivo kao transportno sredstvo (Primorac, 2007.).

Prilikom eluiranja, određena količina ispitivane smjese uvodi se strujom plina nositelja u kromatografsku kolonu. Prolaskom kroz kolonu, smjesa se razdjeljuje između nepokretne faze i pokretne faze. Plin nositelj ispire iz kolone pojedine frakcije, pa je zbog toga olakšano kvalitativno i kvantitativno određivanje komponenata (Vrdoljak, 2009.).

Uređaj u kojemu se vrši ovaj proces naziva se plinski kromatograf i izgrađen je od nekoliko osnovnih dijelova:

- izvor stalne struje plina nosioca (boca ili generator),
- uređaj za unošenje uzorka (injektor),
- kromatografska kolona smještena u termostatisanom prostoru (peć),
- uređaj za registriranje izeluiranog sastojka u struji plina nosioca kao funkcije vremena (detektor) i
- pisač – integrator – računalo (Primorac, 2007.).



**Slika 5** Shematski prikaz sustava za plinsku kromatografiju (Web 5)

### Plin nositelj

Plin nositelj ne smije reagirati s uzorkom, odnosno mora biti kemijski inertan. U tu svrhu upotrebljavaju se helij, argon, dušik, ugljikov dioksid i vodik. Izbor plina ovisi također i o vrsti primijenjenog detektora, mogućnosti nabave, cijeni, sigurnosnim mjerama, te o brzini i efikasnosti (Vrdoljak, 2009., Šeruga, 2010.).

### Uređaj za unošenje uzoraka (injektor)

Kako bi se dobio točan rezultat analize, uzorak se u sustav za analizu unosi kroz gumenu ili silikonsku membranu u zagrijani dio uređaja koji je smješten na vrhu kolone. Uzorak se unosi

brzo u maloj količini kao čep plina i to najčešće pomoću mikrolitarske štrcaljke. Da bi isparavanje uzorka bilo potpuno, temperatura prostora gdje dolazi do rasprskavanja i isparavanja uzorka mora biti za 50 °C viša od temperature vrelišta najslabije hlapive komponente u uzorku (Primorac, 2007.).

### **Kromatografske kolone**

Odabir kromatografske kolone ima ključnu ulogu u uspješnom provođenju analize. Osnovni zahtjev koji kromatografska kolona mora ispuniti je dobra selektivnost. Kromatografska kolona je smještena u termostatiranoj pećnici, te ima mogućnost zagrijavanja i kontrole temperature. Prostor u kojem će se nalaziti kolona i termostat određuju njen oblik. Kolone mogu biti preparativne i analitičke. Razlika između ovih dviju vrsta je u veličini promjera. Preparativne kolone imaju promjer 10 mm ili više. Analitičke kolone se mogu podijeliti na punjene (promjer 2 – 5 mm), mikropunjene (promjer 1 mm) i kapilarne (promjer 0.1 – 0.5 mm). Sve kolone mogu biti građene od metala, plastičnih masa, stakla i kvarca (Vrdoljak, 2009., Šeruga, 2010.).

### **Detektori**

Detektor je uređaj koji mjeri promjenu u sastavu eluata. Promjena se očituje mjerenjem fizikalnih i kemijskih svojstava kao što su toplinska vodljivost, radioaktivna i plamena ionizacija, kemijske reakcije, infracrvena i UV spektrometrija, spektrometrija masa, nuklearno-magnetska rezonancija i druge promjene. Detektor mora pokazati brz odziv na male promjene koncentracije sastojaka (Šeruga, 2010.).

Prednost imaju detektori koji su osjetljivi prema što većem broju odjeljivanih sastojaka, brzo reagiraju i imaju široko područje linearnog odgovora, te se mogu upotrebljavati pri različitim temperaturama. S obzirom na selektivnost detektori u plinskoj kromatografiji mogu biti:

- univerzalni – daju odziv za svaki sastojak u eluatu osim za čistu mobilnu fazu i
- selektivni – daju odziv samo na određene grupe komponenata u eluatu (Primorac, 2007.).

## Spektrofotometrija masa

Spektrometri su uređaji koji daju podatke o molekularnoj strukturi.

Razlikuju se:

- infracrveni spektar (IC),
- spektar nuklearno – magnetske rezonancije (NMR),
- ultraljubičasti spektar (UV) i
- spektar elektron-spinske rezonancije (ESR) i spektar masa (Vrdoljak, 2009.).

Spektrometar masa je uređaj u kojem se molekule bombardiraju snopom elektrona bogatih energijom. Bombardiranjem molekule se ioniziraju i cijepaju u mnogo fragmenata od kojih su neki pozitivno nabijeni ioni. Svaka vrsta iona ima određenu masu i naboj, odnosno određeni odnos  $m/e$ . Taj odnos je karakteristična veličina za svaku vrstu iona. Niz iona se analizira na način da se dobije signal za svaku vrijednost  $m/e$  koja je prisutna. Intenzitet svakog signala prikazuje relativnu količinu iona koja daje taj signal. Najviši signal ili maksimum (engl. peak) naziva se osnovni signal. Njegov intenzitet se označava sa 100.

Spektar masa je dijagram koji pokazuje relativne intenzitete signala za različite vrijednosti  $m/e$ . On može poslužiti za dokazivanje identičnosti dvaju spojeva i kao pomoć pri određivanju strukture nepoznatog spoja. Za dva spoja se kaže da su jednaki, ako su im jednake fizikalne konstante (talište, vrelište, gustoća).

U kombinaciji plinskog kromatografa i masenog spektrometra, plinski kromatograf razdvaja sastojke, a maseni spektrometar služi kao detektor (Vrdoljak, 2009.).

## SPME analiza

SPME analiza odnosno mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (engl. solid phase microextraction) je tehnika koja se koristi za analizu širokog spektra hrane. Korištenje SPME analize je sve veće prvenstveno iz razloga što zahtijeva manju manipulaciju, ali i zato što je ekonomski prihvatljiva. Sve više se primjenjuje za pripremu čvrstih i tekućih uzoraka poput vina, piva, voća, meda i ulja.

SPME analiza se sastoji od dvije odvojene faze:

- apsorpcije, prilikom koje dolazi do zaostajanja analita na stacionarnoj fazi i
- desorpcije (Vrdoljak, 2009.).



Za uspješan postupak obje faze moraju biti optimizirane. Na desorpciju utječu temperatura i vrijeme desorpcije, dok na ekstrakciju utječe tip uzorka, vrijeme ekstrakcije, ionska jakost, pH uzorka, temperatura ekstrakcije i mućkanje uzorka (Zhang i sur., 1993.).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. ZADATAK

Zadatak rada je ispitati utjecaj skladištenja na osnovni kemijski sastav, tvari boje i arome u tri bijela vina, Palava, Pinot sivi i Traminac. U tu svrhu odredit će se kemijski sastav, sadržaj tvari boje i arome u navedenim uzorcima bijelih vina. Nakon toga uzorci će biti skladišteni na temperaturama 4°C i 25°C kroz tri mjeseca. Nakon provedenog skladištenja, u uzorcima će se odrediti kemijski sastav, sadržaj tvari boje i arome te će se isti usporediti s početnim, neskladištenim uzorcima bijelih vina. Polifenoli, flavonoidi i antioksidacijska aktivnost odredit će se upotrebom spektrofotometra, a osnovni kemijski sastav odredit će se prema Pravilniku o fizikalno-kemijskim metodama analize mošta, vina, drugih proizvoda od grožđa i vina te voćnih vina, NN 106/2004. Određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka provest će se primjenom instrumentalne plinske kromatografije i mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME). U radu će biti korišten plinski kromatograf tvrtke Agilent 7890 B s maseno-selektivnim detektorom Agilent 5977.

### 3.2. MATERIJAL I METODE

#### Sorta vinove loze Palava

Palava je sorta vinove loze dobivena u Češkoj, križanjem sorti Müller-Thurgau i Traminca. Križanje sorti je izvršio Jozef Veverka 1953. godine. Sorta je namijenjena za proizvodnju bijelih vina i najviše je rasprostranjena u Češkoj, a zatim u Slovačkoj. Ime sorte proizlazi iz naziva zaštićenog krajolika Pálava u južnoj moravskoj regiji. Sorta nema sinonima.

Listovi Palave su žuto-zelene boje, a bobice blijedo crvene boje s prosječnom težinom od 1,1 g. Palava je pogodna za proizvodnju kvalitetnih vina. Vina su uglavnom zlatno žute-boje i arome slične sorti Traminac. Vrlo su aromatična, a u aromi prevladavaju ruža, vanilija i mandarina.

Prosječni prinos ove sorte je 8-11 t/ha. Sadržaj kiselina u vinu sorte palava iznosi 6-11 g/L. Sorta je pogodna za rast na srednje tvrdim, hranjivim tlima s odgovarajućom opskrbom vodom. Vino Palava u gastronomskom smislu odgovara uz tjestenine, masline, sir, meso (Web 13).



Slika 6 Sorta vinove loze Palava (Web 7)

### Sorta vinove loze Pinot sivi

Sorta Pinot sivi je poznata u brojnim zemljama po njenim karakterističnim imenima. Tako je u našim krajevima sorta poznata još kao i Burgundac sivi, Italiji kao Pinot Grigio, Njemačkoj kao Ruländer, Francuskoj kao Tokay d'Alsace, te u Mađarskoj kao Szürke burgundi.

Sorta potječe iz Francuske i pretpostavlja se da je nastala u francuskoj pokrajini Burgundiji, mutacijom sorte Pinot crni. Riječ "pinot" na francuskom znači "šišarka" i pretpostavlja se da je asocijacija na oblik grozda sorte, koji raste upravo u grupacijama takvog oblika.

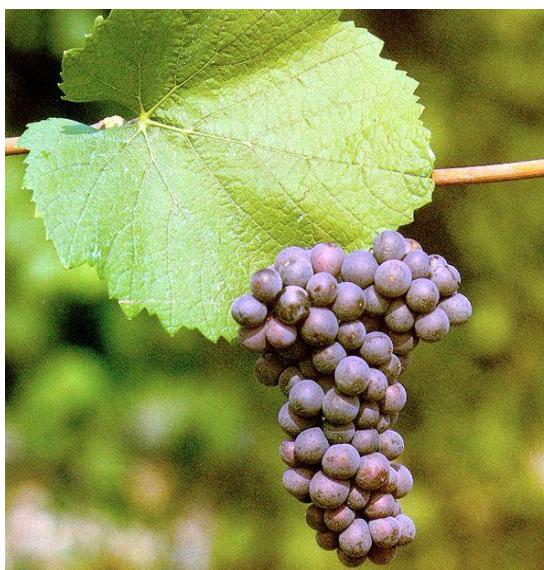
Sorta je dosta homogena, a razlike među biotipovima se odnose na veličinu grozda i intenzitet mirisa. Listovi sorte su mali, srcolikog oblika i tamnozelene boje. Grozdovi su cilindrični i zbijeni zbog čega je bobica često deformirana. Kožica bobice je tanka a može biti sivo ružičaste, sivo plave ili čak boje bijelog grožđa. Ponekad se na istom grozdu javlja različita obojenost bobica. Meso bobice je sočno i jednostavnog neutralnog okusa. Mošt je bezbojan, veoma prijatnog okusa i mirisa, a najčešće sadrži 20-24 % šećera i 6-7 g/L ukupnih kiselina.

Sorta je prikladna za različita tla ali ne podnosi previše vlažna i vapnenačka tla. Uzgaja se na područjima s umjerenom klimom i na položajima s dobrom ekspozicijom s obzirom na sunce. Sorta ima veliku rodnost, a gustom sadnjom mogu se postići dosta veliki prinosi grožđa.

Pinot sivi je neotporan prema botritisu, a donekle i na klorozu stoga zahtjeva posebne tretmane prilikom vegetacije.

Vina ove sorte znatno variraju po karakteristikama u zavisnosti od područja iz kojeg potječu. S obzirom na boju mogu biti žuto-zelene preko zlatno-žute pa do bakrene, pa čak i svijetlo roza. U aromi se mogu prepoznati med, agrumi, kruška, jabuka pa čak i dinja, a sve u zavisnosti od mjesta porijekla.

Danas se ova sorta grožđa uzgaja u mnogim zemljama kao što su: Francuska, Njemačka, Italija, Švicarska, Austrija, Češka, Slovačka, Mađarska, SAD, Rusija i mnoge druge (Web 15).



**Slika 7** Sorta vinove loze Pinot sivi (Web 9)

#### **Sorta vinove loze Traminac**

Točno vrijeme nastanka vinove loze iz porodice Traminac i nije jednostavno zbog veoma nestabilnog genoma. Stari zapisi kažu da potječe iz sjeverne Italije točnije iz sela Tramin i datiraju iz 1000. godine. Prvi nastali Traminac je imao list i bobicu zelene boje, te se zbog sličnosti često dovodi u vezi sa Sauvignon Blanc sortom. Populacija Traminaca sadrži više varijacija i klonova. Najpoznatiji klonovi su Traminac crveni i Traminac mirisni koji se koristi u ovom radu. Traminac mirisni je u Njemačkoj poznat kao Gewürztraminer, Francuskoj kao Traminer parfume, te Italiji kao Traminer aromatico. Ova sorta je jedna od najkarakterističnijih vinskih sorti, čiji snažan i aromatičan miris može čak i laik prepoznati.

U Europi, pored Francuske, Italije i Njemačke, ova loza se uzgaja još i u Španjolskoj, Austriji, Bugarskoj, Hrvatskoj, Mađarskoj, Luksemburgu, Češkoj i Slovačkoj. Većih zasada ima još i na Novom Zelandu i Čileu.

Iako se Traminac cijeni zbog vina koje daje, u isto vrijeme predstavlja veliki vinogradarski izazov. Budući da pupa rano u proljeće podložan je zamrzavanju, a kasnije u vegetativnom periodu osjetljiv na brojne infekcije. Već neko vrijeme se u Francuskoj i Njemačkoj radi na razvijanju klonova koji pupaju i sazrijevaju kasnije, daju veći prinos i koji su otporniji na viruse. Glavni problem leži u balansiranju između potrebe da se sa jedne strane poprave nedostaci, a sa druge zadrži sortni karakter i intenzitet.

Bobice su tamno roze boje i daju vina čija boja varira od svijetlo do tamno zlatno-žute sa bakrenim tonom. Vino je punog tijela, više od većine drugih bijelih vina, uljaste teksture i egzotične arome, zbog čega za određenu populaciju ljudi može biti prejako. U nekim slučajevima postoji i blaga tendencija ka gorčini koja raste sa zrelošću grožđa, tako da u proizvodnji treba biti oprezan kod prešanja bobica. Zahvaljujući velikoj količini šećera od ove sorte se proizvode i izvrsna desertna vina.

Grožđe može sadržavati velike količine šećera, te je zbog toga moguće postići visoke koncentracije alkohola u suhim vinima. S druge strane, niska kiselost i visok pH su problemi kod Traminca. Zbog svih tih osobina od velike je važnosti kontinuirano praćenje sazrijevanja, kao i precizno određivanje vremena berbe. Rano branje zadržava kiselinu ali bez kasnije berbe neće doći do razvijanja karakterističnih sortnih osobina. Arome koje se mogu prepoznati u tramincu su latice ruže, orhideje, breskve, manga, grejpfruta, vanilije, zatim mineralni tonovi, dim, začini itd (Web 17).



**Slika 8** Sorta vinove loze Traminac (Web 11)

### **Skladištenje uzoraka**

Neskladištenim uzorcima bijelih vina je određen kemijski sastav, sadržaj tvari boje i arome. Nakon analize neskladištenih uzoraka uzorci su skladišteni na temperaturama 4°C i 25°C. Skladištenje uzoraka je trajalo tri mjeseca. Nakon skladištenja kroz tri mjeseca uzorcima je ponovno određen kemijski sastav, sadržaj tvari boje i arome. Dobiveni rezultati analiza se su uspoređeni s rezultatima neskladištenih uzoraka.

### **Kemijska analiza vina**

#### **Određivanje ukupnog ekstrakta i alkohola**

Ukupni ekstrakt ili ukupna suha tvar predstavlja sve tvari koje nisu hlapive pri specifičnim fizičkim uvjetima. Fizički uvjeti moraju biti takvi da tvari koje čine ukupni ekstrakt podliježu što je manje moguće promjenama koje se odvijaju tijekom izvođenja testa.

Pri određivanju ukupnog ekstrakta provedena je destilacija uzorka vina (50 mL). Suhi ostatak ili ekstrakt predstavlja količinu onih tvari koje destilacijom ne prijeđu u destilat (zagrijavanjem na 100 °C). Ukupni ekstrakt se mjeri pomoću piknometra. Prvo se izračuna relativna gustoća ekstrakta.

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

gdje je:

$y$  – relativna gustoća ekstrakta

$Q$  – masa praznog piknometra

$Q_1$  – masa piknometra sa ekstraktom

$Q_2$  – masa piknometra sa destiliranom vodom

$K$  – faktor korekcije = 0,99823

Iz izračunate gustoće ekstrakta, pomoću Tablice za preračunavanje očitava se količina ekstrakta izražena u g/L.

Ekstrakt bez šećera izračunat je matematički:

$$\text{ekstrakt bez šećera (g/L)} = \text{ekstrakt (g/L)} - \text{količina šećera (g/L)}$$

Destilat dobiven destilacijom služi za mjerenje alkohola. Formula za izračunavanje je jednaka formuli za ekstrakt, a udio alkohola (vol %) se očitava iz Tablice za preračunavanje g alkohola u litri na volumne postotke.

$$y(\text{destilata}) = \frac{Q_1 - Q}{Q_2 - Q} * K$$

### **Određivanje ukupnih kiselina u vinu**

Određivanje količine ukupnih kiselina u vinu vrši se pomoću metode neutralizacije, koja se temelji na principu neutralizacije svih kiselina u vinu. Obzirom da je u vinu najvažnija vinska kiselina u većini zemalja, tako se i u Hrvatskoj količina ukupnih kiselina izražava kao vinska kiselina. Pri određivanju ukupnih kiselina koriste se odgovarajući indikatori ili metode potenciometrijske titracije.



Količina ukupnih kiselina u vinima se uglavnom kreće od 4 do 7 g/dm<sup>3</sup> izraženih kao vinska kiselina. Za vina koja sadrže ispod 4 g/dm<sup>3</sup> smatra se da su sumnjivog podrijetla.

Postupak određivanja ukupnih kiselina u vinu:

Bireta se napuni otopinom 0,25 N NaOH. Zatim se pipetom uzme 25 cm<sup>3</sup> uzorka vina i stavi u čašu od 100 cm<sup>3</sup>. Vino se prethodno zagrije do vrenja kako bi se uklonio CO<sub>2</sub>, a zatim se djelomično ohladi i pristupi titraciji uz fenolftalein kao indikator. Titracija se provodi sve do promjene boje, što je znak da je neutralizacija završena. Količina ukupnih kiselina se dobije na način da se utrošak 0,25 N NaOH u cm<sup>3</sup> pomnoži sa faktorom 0,75 ili se očita u odgovarajućoj tablici. Dobivena vrijednost predstavlja količinu ukupnih kiselina u g/dm<sup>3</sup> izraženih u vinskoj kiselini. Postupak titracije se radi u dvije paralele (Pozderović i Pichler, 2009.).

#### **Određivanje slobodnog i ukupnog SO<sub>2</sub> u vinu**

SO<sub>2</sub> u vinu se može pronaći u vezanom i slobodnom obliku. Ukoliko se nalazi u vezanom obliku, predstavlja komplekse sa aldehidima, šećerima ili polifenolnim tvarima. Određivanje se vrši pomoću otopine joda pri čemu dodatkom joda SO<sub>2</sub> oksidira, a jod se reducira pa se na osnovu utroška otopine joda izračuna količina SO<sub>2</sub>.

#### **Određivanje slobodnog SO<sub>2</sub>**

Postupak:

U Erlenmeyer–ovu tikvicu sa brušenim grlom prenese se 50 cm<sup>3</sup> vina, a zatim doda 10 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ( 1:4 ) i 3 cm<sup>3</sup> otopine škroba, w = 0,01. Sulfatna kiselina se dodaje kako bi se stvorila kisela sredina u kojoj je oksidacija intenzivnija, a škrob služi kao indikator. Titracija se vrši otopinom I<sub>2</sub> c = 0,02 do pojave plave boje, koja treba biti tako intenzivna da se održi 30 sekundi. Količina slobodnog SO<sub>2</sub> se dobije tako što se utrošak otopine joda u cm<sup>3</sup> pomnoži sa faktorom 12,8. Dobivena količina se izražava u mg/dm<sup>3</sup> vina. Postupak se radi u dvije paralele.

#### **Određivanje ukupnog SO<sub>2</sub>**

Postupak:

U Erlenmeyer–ovu tikvicu sa brušenim grlom stavi se 50 cm<sup>3</sup> vina, kao i prethodnom slučaju, a zatim se doda 25 cm<sup>3</sup> otopine NaOH c = 1 mol/dm<sup>3</sup> i ostavi da odstoji 10–15 minuta. NaOH

se dodaje kako bi se stvorila alkalna sredina u kojoj se vezani SO<sub>2</sub> oslobađa. Nakon 10-15 minuta se doda 15 cm<sup>3</sup> otopine H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ( 1:4 ) i 3 cm<sup>3</sup> škroba w = 0,01. Tikvica se sa istom otopinom joda titrira do pojave plave boje. Utrošak otopine joda u cm<sup>3</sup> množi se sa faktorom 12,8 i dobije količina ukupnog SO<sub>2</sub> u mg/dm<sup>3</sup> vina. Postupak se provodi u dvije paralele (Pozderović i Pichler, 2009.).

### **Određivanje količine pepela u vinu**

Sadržaj pepela u vinu predstavlja ukupan sadržaj svih produkata koji ostaju nakon žarenja taloga preostalog od isparavanja vina. Žarenje se provodi na temperaturi između 500 °C i 550 °C do potpune oksidacije organskih tvari (NN 106/2004).

Porculanska zdjelica u kojoj se vrši isparavanje vina i žarenje treba biti potpuno čista. Prije svake analize vrši se čišćenje i pranje porculanske zdjelice, prvo sa deterdžentom, a nakon toga kromsumpornom kiselinom. Oprana i očišćena zdjelica se nakon pranja i čišćenja stavlja na sušenje u sušionik. Sušenje se provodi na temperaturi od 120 °C i traje 1 sat, a nakon sušenja porculanska zdjelica se hladi u eksikatoru (1 sat) i važe.

Postupak:

U izvaganu porculansku zdjelicu za žarenje otpipetira se 25 cm<sup>3</sup> uzorka vina. Vino se prije pipetiranja mora homogenizirati u boci. Otparavanje vina na vodenoj kupelji, temperature 100 °C, provodi se sve dok se ne dobije gusti, sirupasti, sasušeni talog. Nakon toga se zdjelica sa talogom stavlja na sušenje u sušionik kroz 1 sat kako bi isparila preostala voda, a potom u mufolnu peć na spaljivanje. Spaljivanje počinje sa temperaturom od 200 °C i svaki sat vremena se povećava za 100 °C, sve dok se ne postigne željena temperatura od 500 °C. Na temperaturi od 500 °C masa se spaljuje 1 sat, pri čemu prvo dolazi do pougljenjivanja mase, a zatim do potpunog sagorijevanja i prelaska u pepeo. Postupak spaljivanja je završen kada masa pobijeli. Nakon spaljivanja, porculanska zdjelica se vadi iz mufolne peći, 15 minuta prohladi na azbestnoj mrežici i nakon toga stavlja u eksikator na daljnje hlađenje. Hlađenje u eksikatoru traje 1 sat, a nakon toga porculanska zdjelica se važe. Postupak se provodi u dvije paralele (Pozderović i Pichler, 2009.).

Formula za izračunavanje količine pepela:

$$m_2 - m_1 = m \text{ pepela (g/25 cm}^3 \text{ vina)}$$

$$m \text{ pepela ( g / 25 cm}^3 \text{ vina) x 40 = m pepela (g/L)}$$

gdje je:

$m_1$  - masa prazne porculanske zdjelice

$m_2$  - masa porculanske zdjelice sa pepelom

### Određivanje prirodnih šećera u vinu

Postupak:

U odmjernu tikvicu od 200 cm<sup>3</sup> odvaži se 25 g vina, a zatim se doda 1-2 g CaCO<sub>3</sub> kako bi se postigla slabo kisela reakcija. Nakon toga doda se 5 cm<sup>3</sup> reagensa I i 5 cm<sup>3</sup> reagensa II, promiješa i nadopuni destiliranom vodom do oznake. Sadržaj se promiješa još jedanput da se potpuno homogenizira. Kada se gornji sloj počne izdvajati iz smjese, sadržaj se profiltrira preko suhog, nabranog filter papira u suhu tikvicu. Dobiveni filtrat se označava sa F1. U tikvicu od 300 cm<sup>3</sup> pipetom se odmjeri 25 cm<sup>3</sup> Luffove otopine i doda otopina šećera koja treba sadržavati nešto manje od 100 mg šećera, te toliku količinu destilirane vode da volumen iznosi 50 cm<sup>3</sup>. Postupak se provodi u dvije paralele. Uz navedeno radi se i slijepa proba koja sadržava 25 cm<sup>3</sup> Luffove otopine i 25 cm<sup>3</sup> destilirane vode. U sve uzorke se dodaju kuglice za vrenje, te se sadržaj zagrijava na način da provri za dvije minute, a zatim se vrenje nastavlja 10 minuta. Zagrijavanje se vrši preko azbestne mrežice uz povratno hladilo. Kada je vrenje završeno, sadržaj se naglo hladi pod mlazom hladne vode, a poslije dvije minute dodaje se 3 cm<sup>3</sup> otopine KI. Nakon dodatka 3 cm<sup>3</sup> otopine KI sadržaj se brzo promiješa brzo i pažljivo se propipetom doda 20 cm<sup>3</sup> 25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i 10 cm<sup>3</sup> otopine KCNS. Tikvica se zatim mućka do prestanka šuma. Istaloženi jod se titrira otopinom Na-tiosulfata uz dodatak škroba kao indikatora. Titracija se provodi sve dok se ne izgubi plava boja (Pozderović i Pichler, 2009.).

Formula za izračunavanje prirodnih šećera:

$$\% \text{ reducirajućih šećera} = \frac{a * 100}{\text{uzorak (mg)}}$$

gdje je:

a = mg šećera izračunat iz tablice po Luff-Schoorl-u

### **Određivanje sadržaja polifenolnih spojeva**

Koncentracija ukupnih fenola se određuje Folin-Ciocalteu metodom. Navedena metoda se temelji na reakciji fenola s Folin-Ciocalteu reagensom, te mjerenjem nastalog intenziteta obojenja pri valnoj duljini od 765 nm (Ough i Amerine, 1988). Folin-Ciocalteu reagens predstavlja smjesu fosfowolframove i fosfomolibdenove kiseline. Pri oksidaciji fenolnih tvari navedene kiseline se reduciraju u wolfram oksid i molibden oksid koji su plavo obojeni.

Postupak pripreme Folin-Ciocalteu reagensa (1:10):

Folin-Ciocalteu reagens (1:10) se priprema tako da se otpipetira 3,3 mL FolinCiocalteu reagensa u odmjernu tikvicu od 100 mL. Tikvica se zatim do oznake nadopuni destiliranom vodom.

Postupak mjerenja intenziteta obojenja (apsorbancije):

Otpipetira se 0,2 mL uzorka soka određenog razrijeđenja, te doda 1,8 mL destilirane vode, 10 mL Folin-Ciocalteu reagensa, te nakon stajanja 30 sekundi do 8 minuta doda 8 mL 7,5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (ukupni volumen mora biti 20 mL). Za slijepu probu otpipetira se 2 mL destilirane vode u epruvetu, te doda 10 mL Folin-Ciocalteu reagensa i 8 mL 7,5 %  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Nakon stajanja u mračnom prostoru 2 do 20 sati, pri čemu dolazi do razvijanja boje, mjeri se apsorbanacija na spektrofotometru pri valnoj duljini od 765 nm. Sadržaj polifenolnih spojeva je interpoliran pomoću kalibracijske krivulje galne kiseline i izražen u g galne kiseline/L uzorka.

### **Određivanje ukupnih flavonoida**

Određivanje ukupnih flavonoida provedeno je metodom Kim, Jeong i Lee (2003.) s modifikacijom (Blasa i sur., 2005.; NN 96/03). Za kalibraciju su uzete različite koncentracije kvercetina (5-114  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), a linearnost je 0,9953 (R<sup>2</sup>).

Postupak određivanja:

Uzorak od 1 mL otopine vina (1 mg/mL) je pomiješan s 0,3 mL NaNO<sub>2</sub> (5%), a nakon 5 min je dodano 0,3 mL AlCl<sub>3</sub> (10%). Uzorci su pomiješani i nakon 6 minuta neutralizirani s 2 mL otopine NaOH (1M). Apsorbancija je izmjerena pri 510 nm za sve uzorke, a kvantifikacija je izvedena pomoću kalibracijske krivulje. Rezultati su izraženi u mg ekvivalenata kvercetina (QE)/100 g vina, kao srednja vrijednost od tri ponavljanja.

#### **Određivanje antioksidacijske aktivnosti**

Antioksidansi su spojevi koji usporavaju ili inhibiraju proces oksidacije. Imaju svojstva koja djeluju kao reducirajuće sredstvo, te neutraliziraju slobodne radikale dajući im svoj elektron. Slobodni radikali su molekule koje imaju jedan ili više nesparenih elektrona u elektronskim orbitalama. Kao takvi su vrlo reaktivni u odnosu na druge molekule u stanici. Glavni izvor antioksidanasa, potrebnih za normalno funkcioniranje ljudskog organizma su voće i povrće.

Razvijeno je nekoliko metoda za određivanje antioksidacijske aktivnosti na osnovi uklanjanja sintetskih radikala u polarnom organskom otapalu (npr. metanolu) pri sobnoj temperaturi. Metode koje se najčešće koriste, bazirane su na 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) i 2, 2'-azinobis (3- etilbenzotiazolin-sulfonska kiselina) (ABTS) radikale.

Antioksidacijska aktivnost određena je primjenom ABTS metode. U ovoj metodi prati se raspadanje radikala ABTS koji nastaje oksidacijom 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazilin-6-sulfonat) djelovanjem fenolnih tvari. U odsutnosti fenolnih tvari, ABTS je relativno stabilan, ali brzo reagira u prisustvu donora H<sup>+</sup> te prelazi u nebojeni oblik ABTS-a. Absorbanca se mjeri pri valnoj duljini od 734 nm. Antioksidacijska aktivnost izračunata je iz kalibracijske krivulje uz trolox kao standard (Pichler i sur., 2015.).

#### **Analiza arome vina plinskom kromatografijom primjenom SPME analize**

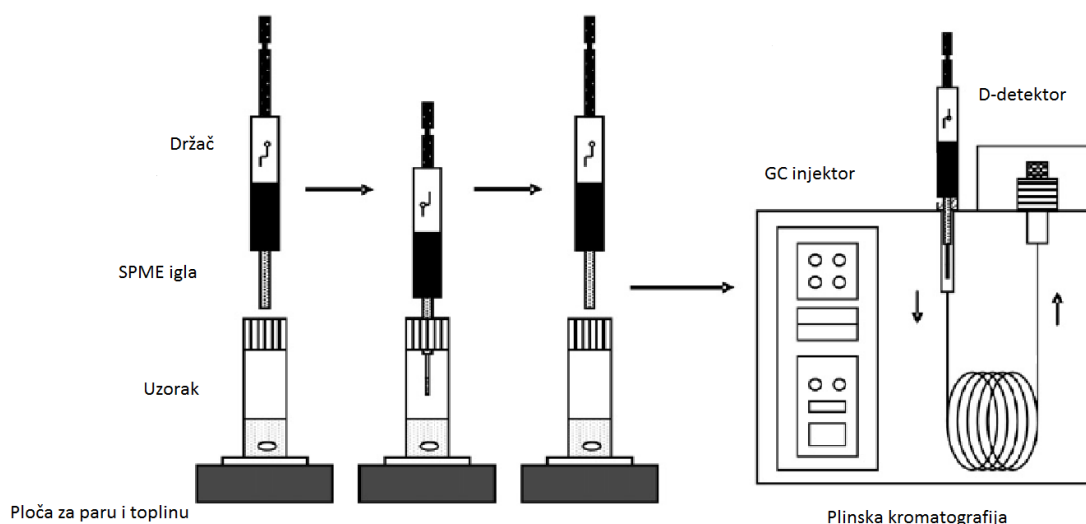
Prilikom pripreme uzorka korištena je tehnika mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME) za koju je potrebna SPME aparatura. Osnova SPME aparature je igla unutar koje se na polimernu stacionarnu fazu adsorbiraju aromatični sastojci. U radu je za pripremu uzoraka korišteno punilo od polidimetilsiloksana-divinilbenzena (polimerna stacionarna faza) debljine 65 µm.

Postupak pripreme uzorka:

U bočicu od 10 mL se odvaži 5 g uzorka vina. Nakon toga, radi bolje adsorpcije aromatičnih sastojaka dodaje se 1 g NaCl. U bočicu se zatim dodaje magnet, te se hermetički zatvori

teflonskim čepom. Bočica se postavi u vodenu kupelj, te se uz stalno miješanje uzorka magnetskom miješalicom, aromatični sastojci adsorbiraju na polimernu stacionarnu fazu unutar igle. Prije samog ispuštanja igle u nadprostor uzorka, uzorak se 10 minuta miješa na vodenoj kupelji (40 °C) radi zasićenja nadprostora sa svrhom što bolje adsorpcije aromatičnih sastojaka. Adsorpcija se provodi na temperaturi od 40 °C (vodena kupelj) u trajanju od 45 minuta. Po završetku adsorpcije igla s adsorbiranim sastojcima odmah se stavlja u injektor plinskog kromatografa, te slijedi njihova toplinska desorpcija.

Određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka vina provedeno je primjenom instrumentalne plinske kromatografije. Tijekom izrade ovog rada korišten je plinski kromatograf tvrtke Agilent 7890 B s maseno-selektivnim detektorom Agilent 5977 A.



**Slika 9** Korištenje SPME držača za uzorkovanje i analizu

#### Uvjeti rada plinskog kromatografa:

Parametri ekstrakcije:

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

#### GC-MS analitički uvjeti:

Kolona: CP-WAX; 60 m x 0,25 mm x 0,25 µm (Agilent)

- početna temperatura: 40 °C (2 min)
- temperaturni gradijent: 6°C/min

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

- konačna temperatura: 230 °C
- temperatura injektora: 250 °C
- temperatura detektora: 280 °C
- desorpcija uzorka u injektor: 7 min

U izradi kromatografske analize korišten je splitless mod.

### Praćenje sastojaka arome

Komponente vina identificirane su na osnovu njihovih spektara masa i na osnovi njihovih vremena zadržavanja, odnosno retencijskih indeksa. Svaka točka na kromatogramu osim vremena zadržavanja i intenziteta sadrži i spektar masa. Dobiveni spektri masa na vrhovima kromatografskih pikova uspoređeni su s bazom podataka NIST 2.0 i s bazom koja je kreirana na instrumentu tijekom prijašnjih analiza vina. Obzirom da su spektri masa komponenata vina jako slični i ovise 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 C8-C20 priređena u laboratoriju prema istim uvjetima analize.

Određena su vremena zadržavanja pojedinih ravnolančanih ugljikovodika te su izračunati retencijski indeksi komponenata vina prema jednadžbi:

$$I = 100 \times \left[ n + \frac{\log(t_{r(\text{unknown})}) - \log(t_{r(n)})}{\log(t_{r(N)}) - \log(t_{r(n)})} \right]$$

gdje je:

I retencijski indeks zadržavanja,

n broj ugljikovih atoma u manjem n-alkanu,

N broj ugljikovih atoma u većem n-alkanu,

$t_r'$  prilagođeno vrijeme zadržavanja.

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

**Sastojci arome koji su očitani na plinskom kromatografu:**

|                         |                    |
|-------------------------|--------------------|
| etil heksanoat          | dietil sukcinat    |
| etil oktanoat           | etil fenilacetat   |
| propil oktanoat         | etil dekanat       |
| etil izopentil sukcinat | izopentil oktanoat |
| etil cinamat            | etil laurat        |
| izopropil laurat        | etil miristat      |
| izopropil miristat      | diizobutil ftalat  |
| etil pentadekanoat      | metil palmitat     |
| dibutil ftalat          | etil palmitat      |
| etil linoleat           | 1-heptanol         |
| metionol                | 2-etil-heksanol    |
| oktanol                 | feniletal alkohol  |
| dodekanol               | heksanska kiselina |
| oktanska kiselina       | nonanska kiselina  |
| dekanska kiselina       | laurinska kiselina |
| miristinska kiselina    | benzaldehyd        |



|                        |                     |
|------------------------|---------------------|
| dodekanal              | geranil aceton      |
| lilial                 | tetradekanal        |
| heksadekanal           | $\beta$ -mircen     |
| d-limone               | $\beta$ -ocimen     |
| $\gamma$ -terpinen     | terpinolen          |
| linalool               | hotrienol           |
| nerol oksid            | $\alpha$ -terpineol |
| citronelol             | geraniol            |
| cis- $\beta$ -farnesen | $\alpha$ -farnesen  |
| nerolidol              |                     |

## **4. REZULTATI**

## Tablični prikaz rezultata

Tablica 1 Kemijski sastav analiziranih vina prije skladištenja

|                                       | Pinot sivi | Traminac | Palava  |
|---------------------------------------|------------|----------|---------|
| Udio suhe tvari (%)                   | 6,0        | 5,8      | 6,6     |
| Šećeri (g/L)                          | 0,80       | 1,28     | 4,32    |
| Kiseline (g/L)                        | 6,900      | 6,075    | 7,275   |
| Slobodni SO <sub>2</sub> (mg/L)       | 37,12      | 32,00    | 41,81   |
| Ukupni SO <sub>2</sub> (mg/L)         | 103,68     | 116,48   | 93,44   |
| Alkohol (%)                           | 12,34      | 11,74    | 12,16   |
| Ekstrakt (g/L)                        | 24,00      | 23,70    | 24,60   |
| Pepeo (g/L)                           | 3,104      | 2,890    | 1,792   |
| Antioksidacijska aktivnost (mg/100 g) | 6,003      | 5,720    | 6,780   |
| Polifenoli (mg/L)                     | 245,091    | 272,423  | 270,750 |
| Flavonoidi (mg/L)                     | 55,395     | 37,315   | 37,316  |

**Tablica 2** Kemijski sastav vina sorte Pinot sivi nakon skladištenja na temperaturama 4°C i 25°C kroz 3 mjeseca

| <b>Pinot sivi</b>                            | <b>Kontrolni uzorak</b> | <b>Nakon skladištenja (4°C)</b> | <b>Nakon skladištenja (25°C)</b> |
|--|-------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| <b>Udio suhe tvari (%)</b>                   | 6,0                     | 6,0                             | 6,0                              |
| <b>Šećeri (g/L)</b>                          | 0,80                    | 0,80                            | 0,76                             |
| <b>Kiseline (g/L)</b>                        | 6,900                   | 6,900                           | 7,050                            |
| <b>Slobodni SO<sub>2</sub> (mg/L)</b>        | 37,12                   | 37,12                           | 28,16                            |
| <b>Ukupni SO<sub>2</sub> (mg/L)</b>          | 103,68                  | 103,68                          | 104,96                           |
| <b>Alkohol (%)</b>                           | 12,34                   | 12,34                           | 12,51                            |
| <b>Ekstrakt (g/L)</b>                        | 24,00                   | 24,00                           | 23,70                            |
| <b>Pepeo (g/L)</b>                           | 3,104                   | 3,104                           | 3,104                            |
| <b>Antioksidacijska aktivnost (mg/100 g)</b> | 6,003                   | 6,003                           | 4,575                            |
| <b>Polifenoli (mg/L)</b>                     | 245,091                 | 240,153                         | 213,855                          |
| <b>Flavonoidi (mg/L)</b>                     | 55,395                  | 55,372                          | 18,875                           |

**Tablica 3** Kemijski sastav vina sorte Traminac nakon skladištenja na temperaturama 4°C i 25°C kroz 3 mjeseca

| Traminac                              | Kontrolni uzorak | Nakon skladištenja (4°C) | Nakon skladištenja (25°C) |
|---------------------------------------|------------------|--------------------------|---------------------------|
| Udio suhe tvari (%)                   | 5,8              | 5,8                      | 5,8                       |
| Šećeri (g/L)                          | 1,28             | 1,28                     | 0,96                      |
| Kiseline (g/L)                        | 6,075            | 6,075                    | 6,225                     |
| Slobodni SO <sub>2</sub> (mg/L)       | 32,00            | 32,00                    | 30,72                     |
| Ukupni SO <sub>2</sub> (mg/L)         | 116,48           | 116,48                   | 120,92                    |
| Alkohol (%)                           | 11,74            | 11,74                    | 11,87                     |
| Ekstrakt (g/L)                        | 23,70            | 22,4                     | 21,7                      |
| Pepeo (g/L)                           | 2,890            | 2,890                    | 2,890                     |
| Antioksidacijska aktivnost (mg/100 g) | 5,720            | 5,720                    | 4,036                     |
| Polifenoli (mg/L)                     | 272,423          | 272,418                  | 225,011                   |
| Flavonoidi (mg/L)                     | 37,315           | 37,296                   | 19,598                    |

**Tablica 4** Kemijski sastav vina sorte Palava nakon skladištenja na temperaturama 4°C i 25°C kroz 3 mjeseca

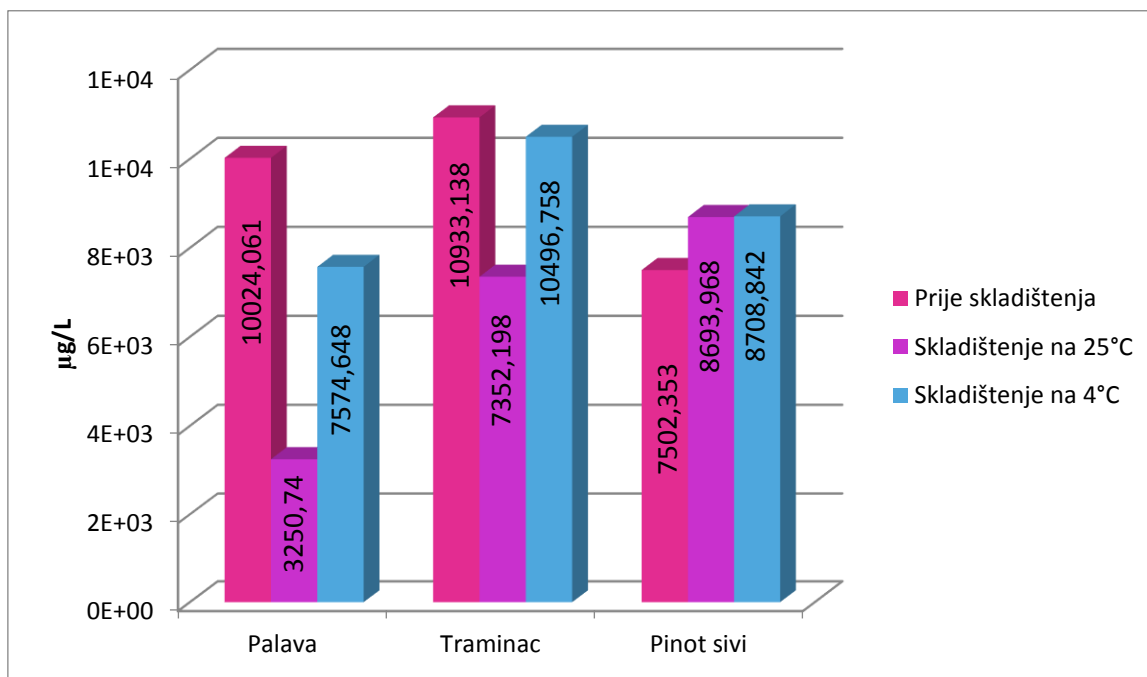
| Palava                                | Kontrolni uзорak | Nakon skladištenja (4°C) | Nakon skladištenja (25°C) |
|---------------------------------------|------------------|--------------------------|---------------------------|
| Udio suhe tvari (%)                   | 6,6              | 6,6                      | 6,6                       |
| Šećeri (g/L)                          | 4,32             | 4,32                     | 4,16                      |
| Kiseline (g/L)                        | 7,275            | 7,275                    | 7,350                     |
| Slobodni SO <sub>2</sub> (mg/L)       | 41,81            | 41,81                    | 21,76                     |
| Ukupni SO <sub>2</sub> (mg/L)         | 93,44            | 93,44                    | 120,12                    |
| Alkohol (%)                           | 12,16            | 12,16                    | 12,34                     |
| Ekstrakt (g/L)                        | 24,60            | 24,60                    | 24,30                     |
| Pepeo (g/L)                           | 1,792            | 1,792                    | 1,792                     |
| Antioksidacijska aktivnost (mg/100 g) | 6,780            | 6,146                    | 5,078                     |
| Polifenoli (mg/L)                     | 270,750          | 270,687                  | 232,076                   |
| Flavonoidi (mg/L)                     | 37,316           | 37,303                   | 20,080                    |

**Tablica 5** Retencijski indeksi aromatičnih spojeva identificiranih u ispitivanim uzorcima vina Palava, Pinot sivi i Traminac

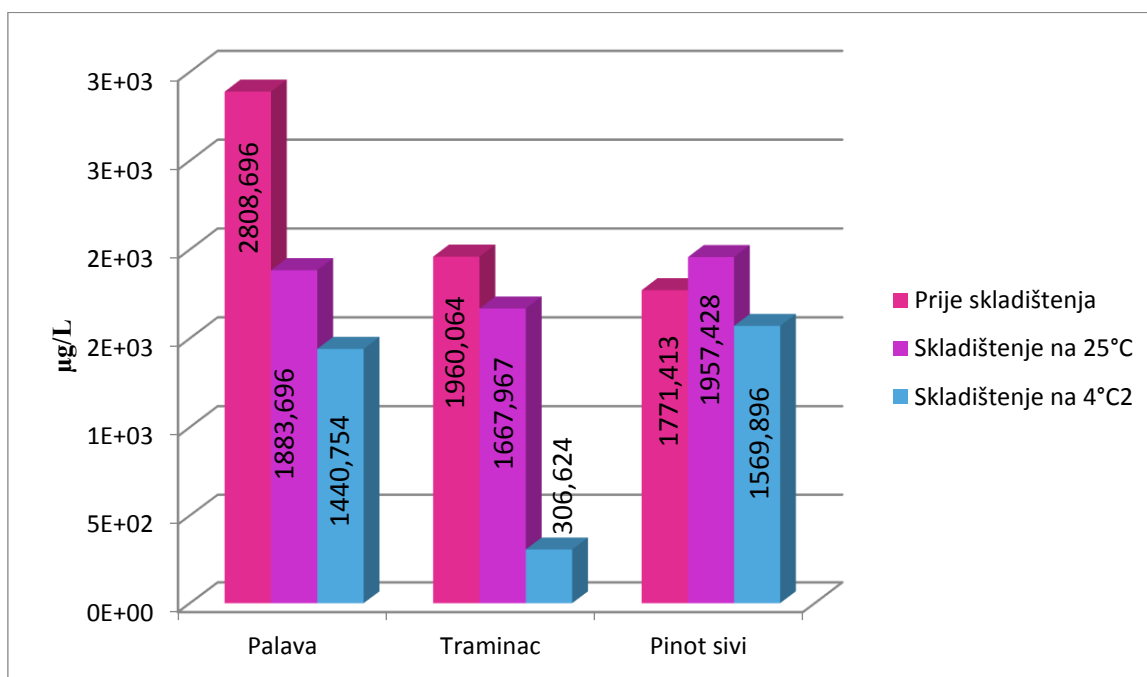
| <b>Spoj</b>              | <b>RI (retencijski indeks)</b> |
|--------------------------|--------------------------------|
| <b>Esteri</b>            |                                |
| Etil heksanoat           | 996                            |
| Dietil sukcinat          | 1179                           |
| Etil oktanoat            | 1191                           |
| Etil fenilacetat         | 1235                           |
| Propil oktanoat          | 1284                           |
| Etil dekanat             | 1383                           |
| Etil izopentil sukcinat  | 1422                           |
| Izopentil oktanoat       | 1441                           |
| Etil cinamat             | 1458                           |
| Etil laurat              | 1583                           |
| Izopropil laurat         | 1615                           |
| Etil miristat            | 1787                           |
| Izopropil miristat       | 1817                           |
| Diizobutil ftalat        | 1862                           |
| Etil pentadekanoat       | 1880                           |
| Metil palmitat           | 1910                           |
| Dibutil ftalat           | 1954                           |
| Etil palmitat            | 1979                           |
| Etil linoleat            | 2144                           |
| <b>Alkoholi</b>          |                                |
| 1-heptanol               | 975                            |
| Metionol                 | 984                            |
| 2-etil-heksanol          | 1027                           |
| Oktanol                  | 1069                           |
| Feniletil alcohol        | 1104                           |
| Dodekanol                | 1469                           |
| <b>Kiseline</b>          |                                |
| Heksanska kiselina       | 1012                           |
| Oktanska kiselina        | 1214                           |
| Nonanska kiselina        | 1276                           |
| Dekanska kiselina        | 1378                           |
| Laurinska kiselina       | 1560                           |
| Miristinska kiselina     | 1754                           |
| <b>Aldehidi i ketoni</b> |                                |
| Benzaldehid              | 955                            |
| Dodekanal                | 1398                           |
| Geranil aceton           | 1447                           |
| Lilial                   | 1517                           |
| Tetradekanal             | 1601                           |
| Heksadekanal             | 1809                           |
| <b>Terpenoidi</b>        |                                |

|                        |      |
|------------------------|------|
| $\beta$ -mircen        | 986  |
| D-limonen              | 1018 |
| $\beta$ -ocimen        | 1044 |
| $\gamma$ -terpinen     | 1051 |
| Terpinolen             | 1079 |
| Linalool               | 1093 |
| Hotrienol              | 1097 |
| Nerol oksid            | 1147 |
| $\alpha$ -terpineol    | 1181 |
| Citronelol             | 1222 |
| Geraniol               | 1279 |
| Cis- $\beta$ -farnesen | 1450 |
| $\alpha$ -farnesen     | 1497 |
| Nerolidol              | 1556 |

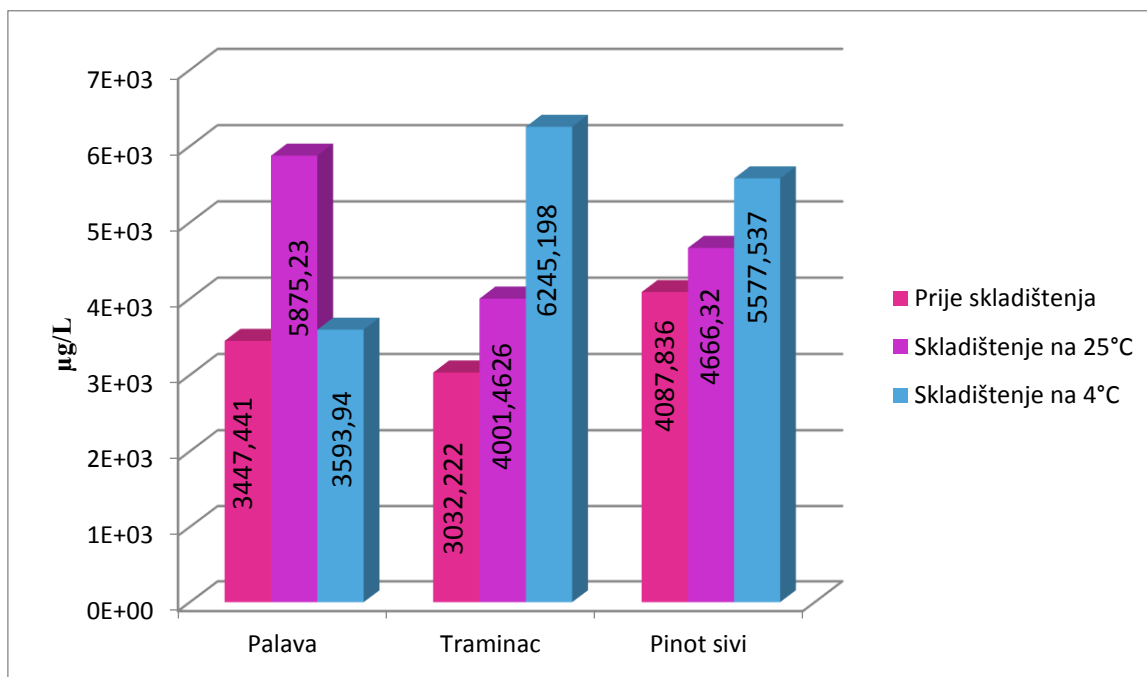




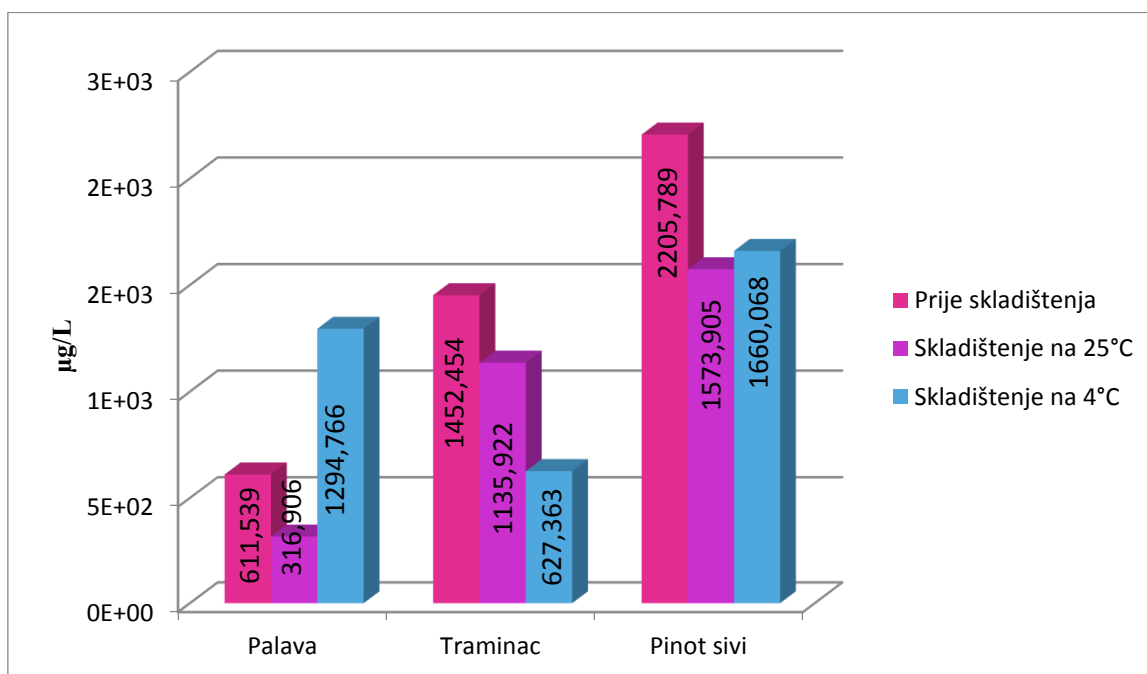
**Slika 10** Sadržaj estera u vinima Palava, Traminac i Pinot sivi prije i nakon skladištenja na 4°C i 25°C kroz 3 mjeseca



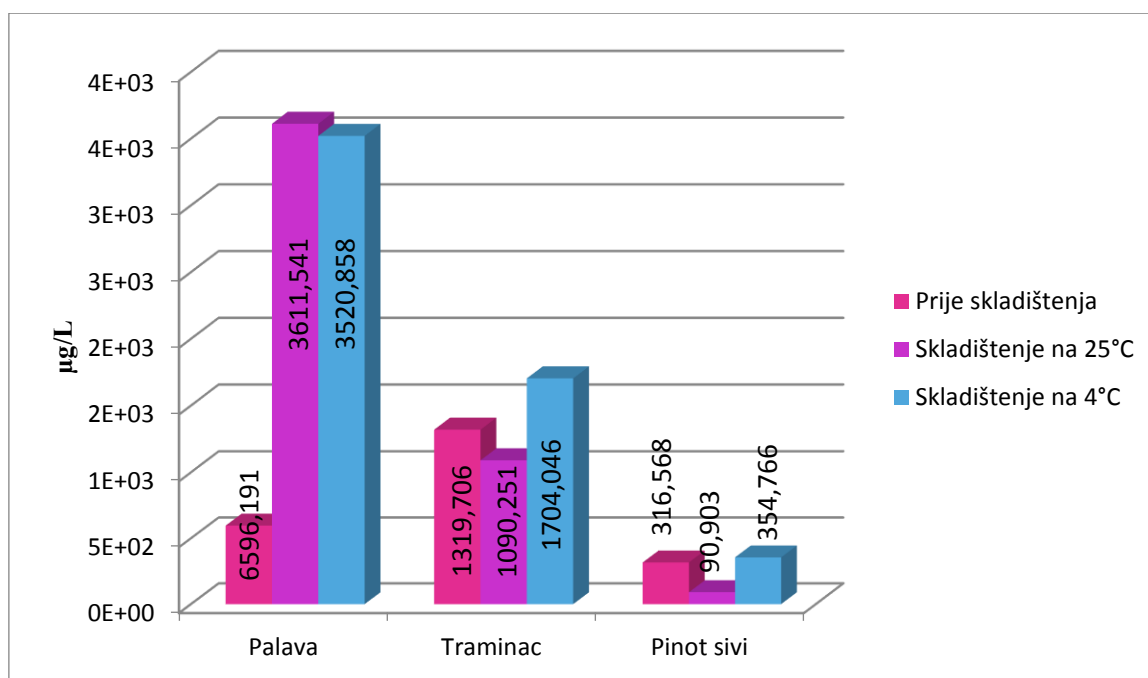
**Slika 11** Sadržaj alkohola u vinima Palava, Traminac i Pinot sivi prije i nakon skladištenja na 4°C i 25°C kroz 3 mjeseca



**Slika 12** Sadržaj kiselina u vinima Palava, Traminac i Pinot sivi prije i nakon skladištenja na 4°C i 25°C kroz 3 mjeseca



**Slika 13** Sadržaj aldehida i ketona u vinima Palava, Traminac i Pinot sivi prije i nakon skladištenja na 4°C i 25°C kroz 3 mjeseca



**Slika 14** Sadržaj terpenoida u vinima Palava, Traminac i Pinot sivi prije i nakon skladištenja na 4°C i 25°C kroz 3 mjeseca.

## **5. RASPRAVA**

Najčešća klasifikacija vina provodi se na osnovu njegovog kemijskog sastava (udio šećera, kiselina, alkohola, suhog ekstrakta, pepela, te fenolnih tvari).

Šećeri predstavljaju glavne pokazatelje zrelosti grožđa, a poznavanjem njihovog udjela u moštu može se utvrditi patvorenje mošta ili gotovog vina (dodavanje šećera od šećerne trske ili repe). Na osnovu koncentracije šećera vina se dijele na suha, polusuha, poluslatka i slatka. U ispitivanim uzorcima dobivene su slijedeće koncentracije šećera: Palava 4,32 g/L, Traminac 1,28 g/L i Pinot sivi 0,80 g/L.

Ukupne kiseline u vinu, osim što daju osvježavajući okus, djeluju i kao konzervansi. Izražavaju se kao grami vinske kiseline po litri vina. Ispitivani uzorci sadržavali su od 6,0 do 7,3 g/L, gdje je najveći udio imalo vino sorte Palava (7,275 g/L).

Ukupni suhi ekstrakt u vinu čine sve organske i mineralne tvari koje nisu hlapive pod specifičnim fizikalnim uvjetima. Najveću koncentraciju ukupnog suhog ekstrakta imalo je vino sorte Palava (24,60 g/L).

Dopušteni udio alkohola u vinu kreće se od minimalno 8,5 % vol. (stolna vina) do maksimalno 15 % vol. Rezultati analize pokazali su da vino sorte Pinot sivi ima najveću udio alkohola (12,34 % vol.), vino sorte Palava 12,16 % vol. i Traminac 11,74 % vol. alkohola.

Osim alkohola i suhog ekstrakta, za kategorizaciju vina na stolno, kvalitetno i vrhunsko vino, važan je i sadržaj pepela. Vino sorte Pinot sivi imao je najveći sadržaj pepela (3,104 g/L), dok je vino sorte Palava imalo najmanji (1,792 g/L).

Kako bi se spriječila oksidacija i kvarenje vina, potrebno je izvršiti sumporenje. Sumpor se u vinu nalazi u obliku sumpornog dioksida, i to kao vezani i slobodni. Udio slobodnog sumpornog dioksida u ispitivanim vinima se kretao od 37,0 do 42,0 g/L, a ukupnog (slobodni i vezani) SO<sub>2</sub> od 93,0 do 120 g/L.

U ispitivanim vinima, najveći sadržaj polifenola imala su vina sorti Traminac i Palava (272,4 i 270,8 mg/L), iako sadržaj polifenola u vinu sorte Pinot sivi nije puno manji (245 mg/L). S druge strane, vino sorte Pinot sivi imalo je najveći sadržaj flavonoida (55,4 mg/L). Antioksidacijska aktivnost za sva tri uzorka kretala se između 5,7 i 6,7 mg/100 g.

Skladištenjem kroz tri mjeseca nastupile su promjene u sadržaju slobodnog i ukupnog SO<sub>2</sub> u sva tri ispitivana vina na 25°C. Što se tiče fenolnog profila vina, također na istoj temperaturi

je došlo do smanjenja sadržaja polifenola i flavonoida te antioksidacijske aktivnosti u sva tri ispitivana uzorka vina.

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

Esteri nastaju reakcijom acetil-CoA s višim alkoholima nastalim degradacijom aminokiselina ili ugljikohidrata, te imaju značajnu ulogu u ukupnoj aromi vina dajući voćne i cvjetne arome. Najveću ukupnu koncentraciju estera sadržavalo je vino sorte Traminac (10933,138 µg/L), a neznatno manje estera sadržavalo je vino sorte Palava (10024,061 µg/L). Međutim, razlika između ta dva uzorka je u sastavu estera. Od ukupno 19 pronađenih estera, vino sorte Palava sadržavalo je samo devet, od čega najveći udio čine esteri voćnih i nešto manje cvjetnih aroma: etil oktanoat (5153,591 µg/L), etil dekanoat (1611,590 µg/L) i etil heksanoat (1435,489 µg/L). S druge strane, vino sorte Traminac sadržavalo je gotovo sve pronađene estere, gdje su najveću koncentraciju imali etil dekanoat (4189,123 µg/L) i etil oktanoat (3730,360 µg/L), a svoj udio u ukupnoj aromi dali su i esteri uljnih, mednih i voštanih aroma (etil miristat, izopropil miristat, metil palmitat, etil palmitat, etil linoleat, dibutil ftalat i dr.). Etil cinamat i izopropil laurat pronađeni su samo u ovom uzorku, a u ostala dva vina nisu bili prisutni. Vino sorte Pinot sivi sadržavalo je najmanju ukupnu koncentraciju estera (7502,353 µg/L), ali nakon skladištenja uzoraka u boci na 4 °C i 25 °C ta se koncentracija povećala, dok se kod druga dva uzorka znatno smanjila. U vinu sorte Pinot sivi, najveću koncentraciju imali su, ponovno, etil oktanoat (3602,685 µg/L) i etil dekanoat (1785,623 µg/L), dok je propil oktanoat s aromom kokosa pronađen samo u ovom uzorku.

Viši alkoholi nastaju kao sekundarni produkti metabolizma kvasaca. Što se tiče ukupne koncentracije alkohola u ispitivanim uzorcima, vino sorte Palava ima najveću (2888,696 µg/L), ali identificirana su smo dva alkohola, feniletil alkohol, cvjetne arome, (2700,909 µg/L) i dodekanol, zemljane, medne arome, (187,787 µg/L). U aromi vina sorte Traminac, pored feniletil alkohola, koji je imao najveću koncentraciju (1712,378 µg/L), pronađeni su i metionol, 2-etil heksanol i dodekanol, te oktanol (aroma naranče i ruže) koji nije identificiran u ostala dva uzorka. Vino sorte Pinot sivi sadržavalo je nešto manju ukupnu koncentraciju alkohola (1771,413 µg/L) koja se tijekom skladištenja nije značajno mijenjala, a najveći udio

imao je feniletil alkohol (1555,054 µg/L). Za razliku od druga dva uzorka, u vinu Pinot sivi pronađen je i 1-heptanol koji daje aromu jabuke i zelenog povrća.

Najveću ukupnu koncentraciju kiselina imalo je vino sorte Pinot sivi (4087,836 µg/L), koja se tijekom skladištenja dijelom povećala. Sva tri uzorka imala su najviše oktanske kiseline (Palava 2200,267 µg/L, Traminac 1889,657 µg/L, Pinot sivi 3359,353 µg/L), koja daje masnu i sirastu aromu. Od ostalih kiselina koje su identificirane u uzorcima, najznačajnije su heksanska, dekanska, miristinska i laurinska, koje zajedno daju masnu, slatkastu, uljnu te dijelom kiselu aromu. U vinu sorte Palava pronađena je nonanska kiselina, zemljane, siraste i mliječne arome.

Karbonilni spojevi, odnosno aldehidi i ketoni, u vinu nastaju u manjim količinama te nemaju važnu ulogu u stvaranju sortnih aroma. Najveću ukupnu koncentraciju karbonilnih spojeva imalo je vino sorte Pinot sivi (2205,789 µg/L), ali se kod sva tri uzorka ukupna koncentracija tih spojeva tijekom skladištenja smanjivala. Najveći udio među sedam pronađenih karbonilnih spojeva zauzimao je tetradekanal (između 400 i 900 µg/L), dajući vinu masnu i voštanu aromu s notom suhe kore citrusa. U svim vinima pronađeni su i heksadekanal (miris kartona) i benzaldehid (aroma višnje i badema). Geranil aceton (voćna aroma s notom ruže i magnolije) je sadržavalo samo vino Palava, dok je u druga dva uzorka pronađen dodekanal, citrusne i cvjetne arome.

Terpeni su skupina aromatičnih spojeva koji predstavljaju sortnu aromu, koja je karakteristična za svaku sortu grožđa. Dijelegu se na slobodne terpene koji su odgovorni za aromu grožđa i mošta, te vezane terpene (vezane najčešće za šećere) koji se oslobađaju tijekom procesa proizvodnje vina raznim tehnološkim postupcima (maceracija, ekstrakcija, enzimaska hidroliza itd.). Vino sorte Palava sadržavalo je značajno veću količinu terpena (6596,191 µg/L) u odnosu na druga dva uzorka. Prevladavaju terpeni sa slatkom, voćnom, cvjetnom i citrusnom aromom: citronelol (1942,122 µg/L), hotrienol (1187,241 µg/L), linalool (1077,515 µg/L) i  $\alpha$ -terpineol (1018,013 µg/L). Pored njih, u vinu sorte Palava i Traminac identificirani su i  $\beta$ -mircen, D-limonen,  $\beta$ -ocime,  $\gamma$ -terpinen, terpinolen, nerol oksid te geraniol. Vino sorte Pinot sivi sadržavalo je najmanju količinu terpena (316,568 µg/L), a identificirani su i cis- $\beta$ -farnesen,  $\alpha$ -farnesen i nerolidol koji daju slatke, citrusne, cvjetne arome s drvenom i voštanom notom.

## **6. ZAKLJUČCI**



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

- Kemijski sastav, udio tvari boje i arome u vinu ovise, ne samo o tehnološkim postupcima proizvodnje, nego i o samoj sorti grožđa od koje se vino proizvodi.
- Prema dobivenim rezultatima analize, vino sorte Palava imalo je veće udjele šećera, kiselina, suhog ekstrakta od druga dva uzorka. Traminac je imao najveći sadržaj polifenola, ali obzirom da se radi o kasnoj bijeloj sorti vinove loze, to je i očekivano. Što se tiče spojeva arome, u uzorku su pronađene visoke koncentracije estera voćne i cvjetne arome, feniletil alkohola te nekolicina terpenskih spojeva koji pridonose slatkoj, voćnoj, citrusnoj i cvjetnoj aromi, karakterističnoj za tu sortu grožđa.
- Vino sorte Traminac sadržavalo je nešto manji udio šećera, kiselina, suhog ekstrakta i alkohola u odnosu na vino sorte Palava, ali je imalo najveći sadržaj polifenola. Obzirom da se radi o kasnoj bijeloj sorti vinove loze, to je i očekivano. Nadalje, koncentracije ukupnih estera, viših alkohola i terpena bile su nešto manje, ali je njihov sastav činilo više vrsta aromatičnih spojeva.
- U odnosu na gore dva navedena ispitivana uzorka, analiza vina sorte Pinot sivi dala je najlošije rezultate. Iznimka su udjeli alkohola i pepela i flavonoida, kojih je bilo najviše u ovom uzorku. Aroma ovog vina imala je najveći udio masnih kiselina i karbonilnih spojeva, ali znatno manji udio estera, viših alkohola i terpena u usporedbi s druga dva uzorka.
- Skladištenjem uzoraka na 25 °C nastupile su promjene u sadržaju slobodnog i ukupnog SO<sub>2</sub> u sva tri ispitivana vina pa možemo zaključiti da je plutani čep bio izvor kontakta sa zrakom. Što se tiče fenolnog profila vina, također je na istoj temperaturi došlo do smanjenja sadržaja polifenola, flavonoida i antioksidacijske aktivnosti u usporedbi sa početnim uzorcima vina i uzorcima skladištenim na 4°C. Obzirom da su vina skladištena na 25°C kroz tri mjeseca bila izložena svjetlosti te da su imala problem sa čepom, dobiveni rezultati su očekivani.
- Skladištenje uzoraka na 4 °C i 25 °C imalo je za posljedicu smanjenje koncentracija pojedinih spojeva arome, posebice estera i terpena. Međutim, koncentracija određenih spojeva arome povećala se tijekom skladištenja, posebice koncentracija kiselina kod sva tri uzorka, te estera kod vina sorte Pinot sivi.

## **7. LITERATURA**

- Blasa M, Candiracci M, Accorsi A, Piacentini PM, Albertini MC, Piatti E: Raw Mille fiori honey is packed full of antioxidants. *Food Chemistry* 97: 217-222, 2005.
- Čobanov A: Kakvoća domaćeg bijelog vina Pinot sivi iz podregije Slavonija. *Završni rad*, Prehrambeno biotehnološki fakultet u Zagrebu, 2016.
- Horvat B: Od berbe do mladog vina. *Gospodarski list*; prilog prema knjizi Zoričić M: Domaće vino. Novinarsko nakladničko i trgovačko d.d., Zagreb, 15. rujan 2010.
- Maletić E, Karoglan Kontić J, Pejić I: *VINOVA LOZA - Ampelografija, ekologija, oplemeljivanje*. Školska knjiga, Zagreb, 2008.
- MPS, Ministarstvo poljoprivrede RH: *Pravilnik o fizikalno-kemijskim metodama analize mošta, vina, drugih proizvoda od grožđa i vina te voćnih vina*. Narodne novine 106/04, 2004.
- MPS, Ministarstvo poljoprivrede RH: *Pravilnik o označavanju vina oznakom sorte vinove loze*. Narodne novine 79/17, 2017.
- MPS, Ministarstvo poljoprivrede RH: *Pravilnik o proizvodnji vina*. Narodne novine 2/05, 2005.
- MPS, Ministarstvo poljoprivrede RH: *Zakon o vinu*. Narodne novine 96/03, 2003.
- MPS, Ministarstvo poljoprivrede RH: *Zakon o vinu*. Narodne novine 14/14, 2014.
- Osrečak M, Kozina B, Maslov L, Karoglan M: Utjecaj djelomične defolijacije na koncentraciju polifenola u vinima Graševine, Traminca i Manzonija bijelog (*Vitis vinifera* L). *Proceedings*. 46th Croatian and 6th International Symposium on Agriculture. Opatija, Croatia. str. 972-975, Zagreb: Regata d.o.o. Zagreb, 2011.
- Ough CS, Amerine MA: *Phenolic Compounds. Methods for Analysis of Musts and Wines (2nd ed.)*. New York: John Wiley & Sons Inc., 1988.
- Paunović R, Dančić M: *Vinarstvo i tehnologija jakih alkoholnih pića*. Zadružna knjiga, Beograd, 1967.
- Pichler A, Pozderović A, Prskalo A, Andrašek A, Kopjar M: Utjecaj geografskih i klimatskih uvjeta na sadržaj tvari arome, polifenola i antocijana u crnim vinima erduskog vinogorja istočne Slavonije. *Glasnik zaštite bilja* 38:34-43, 2015.
- Pichler A: Tehnologija vina – Mehanički sastav grozda. Nastavni materijali, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2016.
- Pichler A: Tehnologija vina – Vinova loza. *Nastavni materijali*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2017.
- Pozderović A, Pichler A: Propisi za vježbe iz predmeta osnove prehrambene tehnologije, Osnove tehnologije vina. *Nastavni materijali*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2009.

Pozderović A: Tehnologija prerade sirovina biljnog podrijetla II – Osnove tehnologije vina. *Nastavni materijali*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2013.

Pozderović A: *Tehnologija vina*. Interna skripta, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2010.

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

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

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

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

Šeruga M: *Instrumentalne metode I: GC - Plinska kromatografija*. Nastavni materijali, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2010.

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

Vuković M: Utjecaj membranske filtracije na organoleptička svojstva vina sorte graševina. *Diplomski rad*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2010.

Web 1

[https://www.google.hr/search?biw=1366&bih=637&tbm=isch&sa=1&ei=S6JPWu6-AcWmsAHoiYWgBw&q=structure+of+grapes&oq=structure+of+grapes&gs\\_l=psy-ab.3..0i19k1.33365.34545.0.34950.6.6.0.0.0.196.762.0j6.6.0...0...1c.1.64.psy-ab..0.2.313...0.HqI9QCJUEgU#imgrc=ZRPEpzi3o3sx-M](https://www.google.hr/search?biw=1366&bih=637&tbm=isch&sa=1&ei=S6JPWu6-AcWmsAHoiYWgBw&q=structure+of+grapes&oq=structure+of+grapes&gs_l=psy-ab.3..0i19k1.33365.34545.0.34950.6.6.0.0.0.196.762.0j6.6.0...0...1c.1.64.psy-ab..0.2.313...0.HqI9QCJUEgU#imgrc=ZRPEpzi3o3sx-M), pristupljeno 25.01.2018.

Web 2

[https://www.google.hr/search?biw=1366&bih=588&tbm=isch&sa=1&ei=R3ZjWt\\_sFZLfgWSspKYAQ&q=mo%C5%A1tna+vaga+slika&oq=mo%C5%A1tna+vaga+slika&gs\\_l=psy-ab.3...4090.7162.0.7352.18.15.0.0.0.253.1829.0j8j3.12.0...0...1c.1.64.psy-ab..6.4.559.0..0j0i5i30k1j0i30k1.104.LWajBLT\\_NU#imgrc=ssaBrC95p7y6rM](https://www.google.hr/search?biw=1366&bih=588&tbm=isch&sa=1&ei=R3ZjWt_sFZLfgWSspKYAQ&q=mo%C5%A1tna+vaga+slika&oq=mo%C5%A1tna+vaga+slika&gs_l=psy-ab.3...4090.7162.0.7352.18.15.0.0.0.253.1829.0j8j3.12.0...0...1c.1.64.psy-ab..6.4.559.0..0j0i5i30k1j0i30k1.104.LWajBLT_NU#imgrc=ssaBrC95p7y6rM), pristupljeno 20.04.2018.

Web 3

[http://studenti.ptfos.hr/Diplomski\\_studij/Tehnologija\\_vina/Tehnologija\\_vina/Tehnologija\\_vina/mehani%C4%8Dki%20sastav%20grozda+bijela%20vina.pdf](http://studenti.ptfos.hr/Diplomski_studij/Tehnologija_vina/Tehnologija_vina/Tehnologija_vina/mehani%C4%8Dki%20sastav%20grozda+bijela%20vina.pdf), pristupljeno 05.09.2018.

Web 4

[https://www.google.hr/search?q=runja%C4%8Damulja%C4%8Da+za+gro%C5%BE%C4%91e&source=Inms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiRsJPSpsHWAhUEG5oKHbiFC2EQ\\_AUICigB&biw=1517&bih=735#imgrc=fkUes-NfNOC2SM](https://www.google.hr/search?q=runja%C4%8Damulja%C4%8Da+za+gro%C5%BE%C4%91e&source=Inms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiRsJPSpsHWAhUEG5oKHbiFC2EQ_AUICigB&biw=1517&bih=735#imgrc=fkUes-NfNOC2SM), pristupljeno 05.09.2018.

Web 5

[http://studenti.ptfos.hr/Preddiplomski\\_studij/Kontrola\\_kakvoce\\_hrane/predavanja/III%20P ARC%20ISPIT/Kromatografske%20metode.pdf](http://studenti.ptfos.hr/Preddiplomski_studij/Kontrola_kakvoce_hrane/predavanja/III%20P ARC%20ISPIT/Kromatografske%20metode.pdf), pristupljeno 16.09.2018

Web 6

<https://vinovinat.webs.com/belesortevinoveloze.htm>, pristupljeno 22.05.2018.

Web 7

<http://www.vinopalava.cz/>, pristupljeno 22.05.2018.

Web 8

<https://casopisvino.co.rs/tajne-vina/burgundac-sivi-samo-za-sladokusce/>, pristupljeno 22.05.2018.

Web 9

[https://www.google.hr/search?biw=1366&bih=637&tbm=isch&sa=1&ei=DbGaWtHmOYiSsAf\\_94Ql&q=pinot+sivi+sorta+gro%C5%BE%C4%91a&oq=pinot+sivi+sorta+gro%C5%BE%C4%91a&gs\\_l=psy-ab.3...5525.13465.0.13786.26.23.2.1.1.0.152.2476.1j21.23.0...0...1c.1.64.psy-ab..0.11.1213.0..0j0i67k1j0i30k1j0i8i30k1j0i24k1.355.-Qnla0W8BM8#imgrc=XcC88YSTe18f\\_M](https://www.google.hr/search?biw=1366&bih=637&tbm=isch&sa=1&ei=DbGaWtHmOYiSsAf_94Ql&q=pinot+sivi+sorta+gro%C5%BE%C4%91a&oq=pinot+sivi+sorta+gro%C5%BE%C4%91a&gs_l=psy-ab.3...5525.13465.0.13786.26.23.2.1.1.0.152.2476.1j21.23.0...0...1c.1.64.psy-ab..0.11.1213.0..0j0i67k1j0i30k1j0i8i30k1j0i24k1.355.-Qnla0W8BM8#imgrc=XcC88YSTe18f_M), pristupljeno 22.05.2018.

Web 10

<https://www.agroportal.hr/vinogradarstvo/26792>, pristupljeno 22.05.2018.

Web 11

[https://www.google.ba/search?biw=667&bih=604&tbm=isch&sa=1&ei=ghCeW77xIOOn1qwGboYKwBA&q=sorta+vinove+loze+traminac&oq=sorta+vinove+loze+traminac&gs\\_l=img.3...13973.18903.0.19210.27.20.0.7.7.0.141.2199.0j17.17.0...0...1c.1.64.img..3.17.1375.0..0j35i39k1j0i67k1j0i30k1j0i8i30k1j0i24k1.0.Am\\_PUYhTWuQ#imgrc=ln17PRFeV SQcOM](https://www.google.ba/search?biw=667&bih=604&tbm=isch&sa=1&ei=ghCeW77xIOOn1qwGboYKwBA&q=sorta+vinove+loze+traminac&oq=sorta+vinove+loze+traminac&gs_l=img.3...13973.18903.0.19210.27.20.0.7.7.0.141.2199.0j17.17.0...0...1c.1.64.img..3.17.1375.0..0j35i39k1j0i67k1j0i30k1j0i8i30k1j0i24k1.0.Am_PUYhTWuQ#imgrc=ln17PRFeV SQcOM), pristupljeno 16.09.2018.

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

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