

Utjecaj godine berbe na tvari boje i arome vina Malvazija Istarska

Francišković, Marija

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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:109:617465>

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

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

REPOZITORIJ

PTF OS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Repository / Repozitorij:

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



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

Marija Francišković

**UTJECAJ GODINE BERBE NA TVARI BOJE I AROME VINA
MALVAZIJA ISTARSKA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Sveučilišni diplomski studij

Zavod za prehrambene tehnologije
Katedra za Prehrambeno inženjerstvo
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Tema rada je prihvaćena na IX. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2023./2024. održanoj 27. lipnja 2024.
Mentor: prof. dr. sc. Anita Pichler
Pomoć pri izradi: dr. sc. Ivana Ivić

Utjecaj godine berbe na tvari boje i arome vina Malvazija Istarska Marija Francišković, 0113146394

Sažetak: Malvazija istarska je autohtona i najrasprostranjenija sorta vinove loze u Istri. Ova sorta poznata je po visokoj kakvoći grožđa i vina. Vino dobiveno od Malvazije istarske se ističe svjetlom slamnato-žutom bojom sa zelenkastim odsjajem. Karakterizira ga kompleksna voćno-cvjetna aroma s naglaskom na zelenu jabuku i badem, obogaćena prepoznatljivom notom bagremova cvijeta koja je karakteristična za ovu sortu. Cilj ovog istraživanja je bio utvrditi sadržaj polifenola, flavonoida, aromatskih spojeva te antioksidacijsku aktivnost u bijelim vinima Malvazijske Istarske iz vinogorja zapadne Istre. Za istraživanje tvari boje i arome uzeti su uzorci vina od četiri uzastopnih godina berbe. Tijekom istraživanja dodatno se odredio i kemijski sastav vina. Analiza tvari arome provedena je plinskim kromatografom (GC) uz mikroekstrakciju na čvrstoj fazi (SPME). Uređaj koji se koristio tijekom analize bio je plinski kromatograf tvrtke Agilent 7890B s masenim detektorom Agilent 5977A. Polifenolni sastav određen je pomoću spektrofotometra, dok je antioksidacijska aktivnost određena spektrofotometrijski prema metodama DPPH, CUPRAC, ABTS i FRAP. Rezultati analize vina su pokazali da klimatski uvjeti (temperatura, oborine, sunčani sati) utječu na sadržaj navedenih spojeva. Najveća koncentracija polifenola zabilježena je u godini berbe 2023., dok su flavonoidi, antioksidacijska aktivnost i ukupna aroma imali najveću koncentraciju u 2020. godini, što se pripisuje najvećem broju sunčanih sati i povoljnim temperaturama tijekom vegetacije.

Ključne riječi: vino, polifenoli, tvari arome, antioksidacijska aktivnost, Malvazija istarska

Rad sadrži: 56 stranica
16 slika
11 tablica
0 priloga
42 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

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

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

Datum obrane: 6. rujna 2024.

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

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

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. IX. held on June 27, 2024.

Mentor: Anita Pichler, PhD, full prof.

Technical assistance: Ivana Ivić, PhD

The Influence of the Year of Harvest on the Color and Aroma Compounds of Malvazija Istarska Wine

Marija Francišković, 0113146394

Summary: Malvazija istarska is an indigenous and most widespread grape variety in Istria. This variety is known for its high-quality grapes and wine. The wine produced from Istrian Malvasia is distinguished by a bright straw-yellow color with a greenish hue. It is characterized by a complex fruity-floral aroma, highlighting green apple and almond, enriched with a distinctive note of acacia flower, which is characteristic of this variety. The aim of this study was to determine the content of polyphenols, flavonoids, aromatic compounds and antioxidant activity in white wines of Malvasia Istria from the western Istrian wine region. For the study of color and aroma compounds, wine samples from four consecutive years of harvest were taken. During the research, the chemical composition of the wine was also determined. The analysis of aromatic compounds was carried out using gas chromatography (GC) with solid phase microextraction (SPME). The device used during the analysis was an Agilent 7890B gas chromatograph with an Agilent 5977A mass detector. The polyphenol content was determined using a spectrophotometer, while the antioxidant activity was determined spectrophotometrically using DPPH, CUPRAC, ABTS AND FRAP methods. The results of wine analysis showed that climatic conditions (temperature, rainfall, sunshine hours) affect the content of the mentioned compounds. The highest concentration of polyphenols was recorded in the year of harvest 2023, while flavonoids, antioxidant activity and total aroma had the highest concentration in the 2020 harvest year, which is attributed to the highest number of sunshine hours and favorable temperatures during the growing season.

Keywords: wine, polyphenols, aroma components, antioxidant activity, Malvazija istarska

Thesis contains: 56 pages
16 figures
11 tables
0 supplements
42 references

Original in: Croatian

Defense committee:

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

Defense date: September 6, 2024

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

DIPLOMSKI RAD JAVNO JE OBRANJEN DANA

TE OCIJENJEN USPJEHOM

Pred Povjerenstvom za obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Mirela Kopjar

predsjednik _____
(potpis)

2. prof. dr. sc. Anita Pichler

član _____
(potpis)

3. prof. dr. sc. Nela Nedić Tiban

član _____
(potpis)

Zahvaljujem se prije svega svojoj obitelji, roditeljima i sestri, na neizmjerljivoj podršci i bezuvjetnoj ljubavi koju su mi pružili tijekom studiranja. Jednako tako hvala Goranu, što je uvijek vjerovao u mene i bio tu da me ohrabri... bez vas ne bih uspjela!

Hvala mojim dragim prijateljicama, kolegicama i kolegama koji su mi uljepšali studiranje. Vaša podrška, prijateljstvo i zajednički trenuci učinili su ovo putovanje nezaboravnim.

I na kraju, iskreno zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Aniti Pichler, na svakom savjetu, nesebičnoj podršci i pomoći tijekom izrade ovog rada. Jednako tako hvala i asistentici dr. sc. Ivani Ivić.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. VINOVA LOZA	4
2.2. MALVAZIJA ISTARSKA	5
2.2.1. Obilježja Malvazije istarske	6
2.3. UTJECAJ KLIMATSKIH UVJETA NA KAKVOĆU GROŽĐA I VINA	7
2.4. PROIZVODNJA BIJELIH VINA	10
2.5. KEMIJSKI SASTAV	13
2.5.1. Alkoholi	13
2.5.2. Kiseline	14
2.5.3. Ugljikohidrati	15
2.5.4. Esteri	16
2.5.5. Aldehidi i ketoni	16
2.5.6. Terpeni	16
2.5.7. Mineralne tvari (pepeo)	17
2.5.8. Polifenolni spojevi	17
2.5.9. Antioksidacijska aktivnost	19
2.5.10. Aroma vina	19
2.6. KROMATOGRAFSKE METODE	20
2.6.1. Plinska kromatografija	21
3. EKSPERIMENTALNI DIO	23
3.1. ZADATAK	24
3.2. MATERIJALI	24
3.2.1. Vino Malvazija Istarska	24
3.2.2. Klimatski uvjeti područja Višnjan	25
3.3. METODE	27
3.3.1. Određivanje aromatskog profila	28
3.3.2. Određivanje ukupnih polifenola	29
3.3.3. Određivanje ukupnih flavonoida	30
3.3.4. Određivanje antioksidacijske aktivnosti	30
3.3.5. Određivanje kemijskog sastava vina	32
3.3.6. Senzorsko ocjenjivanje vina	36
4. REZULTATI	37
5. RASPRAVA	44
6. ZAKLJUČCI	51
7. LITERATURA	53

Popis oznaka, kratica i simbola

SPME	mikroekstrakcija na čvrstoj fazi
ABTS	2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin sulfonska kiselina)
FRAP	eng. <i>ferric-reducing antioxidant power assay</i>
CUPRAC	eng. <i>cupric-reducing antioxidant capacity</i>
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
IC	infracrveni spektar
UV	ultraljubičasti spektar
NMR	nuklearno magnetska rezonancija
ESR	elektronska spinska rezonancija
GC-MS	plinska kromatografija s masenom spektrometrijom
GSC	plinsko-adsorpcijska kromatografija
GLC	plinsko-tekućinska kromatografija

1. UVOD

Vino je kompleksan prehrambeni proizvod poljoprivrednog porijekla, dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta, od svježeg grožđa koje je prikladno za vinifikaciju (NN 32/19).

Kvaliteta vina ovisi o mnogim čimbenicima, uključujući sortu vinove loze, urod, ekološke uvjete, tehnološku zrelost grožđa, količinu šećera i kiselina u moštu, kvasce koji provode alkoholnu fermentaciju, temperature tijekom fermentacije, metode vinifikacije i korištenu opremu, kao i o klimatskim uvjetima tijekom vegetacije (Lavrić, 2017). Važno je istaknuti da su aroma i boja ključni parametri koji određuju kvalitetu vina. Ova senzorska svojstva ne samo da definiraju karakteristike vina koje potrošači percipiraju, već su i rezultat interakcije hlapljivih i nehlapljivih spojeva u vinu. Tijekom uzgoja i razvoja vinove loze te postupka proizvodnje vina, dolazi do različitih kemijskih, fizikalnih i mikrobioloških procesa koji uzrokuju promjene u aromi i boji vina. Fenolni spojevi koji se formiraju tijekom tih procesa daju trpkost vinu i ujedno imaju pozitivna antioksidacijska svojstva. Najčešći predstavnici su flavonoidi, fenolne kiseline, antocijani i drugi. Odgovorni su za trpkost, boju i doprinose okusu vina (Ivić, 2022).

Klimatske promjene predstavljaju izazov u proizvodnji vina s obzirom da utječu na održivost uzgoja vinove loze, mijenjajući proizvodnju i kvalitetu vina ovisno o regiji. Visoke temperature zraka potiču ubrzanje fenofaza, što rezultira ranijim zrenjem grožđa tijekom toplijih ljetnih perioda. Ove promjene utječu na sastav grožđa, posebno na njegov aromatski profil. Istovremeno, nedostatak vode smanjuje prinose i mijenja kemijski sastav grožđa (Prša, 2022).

Hrvatska Istra, kao jedna od najistaknutijih vinogradarskih podregija u Hrvatskoj, ističe se po Malvaziji istarskoj, najpoznatijoj bijeloj vinskoj sorti u regiji. Malvazija istarska smatra se autohtonom sortom Istre (Anđelini, 2020). Poznata je po visokoj kakvoći grožđa i vina te postiže srednje do visoke udjele šećera u grožđu. Vino dobiveno od Malvazije istarske prepoznatljivo je po svijetloj slamnato-žutoj boji sa zelenkastim odsjajem. Odlikuje se voćno-cvjetnim mirisom koji podsjeća na badem i zelenu jabuku, obogaćen karakterističnom aromom bagremova cvijeta koja je svojstvena ovoj sorti.

Cilj ovog istraživanja je bio utvrditi utjecaj različitih godina berbi na tvari arome i boje vina Malvazija Istarska.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. VINOVA LOZA

Vinova loza jedna je od najstarijih kulturnih biljaka koja prema botaničkim svojstvima spada u porodicu *Ampelideae* ili *Vitaceae*. Višegodišnja je penjačica grmolike građe. Penje se i oslanja pomoću vitica uz različite potpornje. Vinove loze koje se koriste za proizvodnju vina obuhvaćaju sorte *Vitis vinifere* ili križanci *Vitis vinifere* s drugim vrstama roda *Vitis*. Rod *Vitis* se sastoji od dva podroda, *Euvitis* i *Muscadinia*. Podrod *Euvitis* prema geografskoj pripadnosti uključuje sjevernoameričke, euroazijske i istočnoazijske vrste. Sjevernoameričke vrste vinove loze koriste se kao podloge za druge vrste zbog njihove otpornosti na filokseru i hladnoću. Istočnoazijske vrste najčešće se koriste u dekorativne svrhe. Euroazijska vrsta uključuje samo jednu vrstu *Vitis vinifera* L. s dvije podvrste (*Vitis vinifera* L. subsp. *vinifera* i *Vitis vinifera* L. subsp. *sylvestris* (Maletić i sur., 2008; Mirošević, 1996).

Biljku vinove loze pojedino nazivamo trs ili čokot. Sastoji se od nadzemnih i podzemnih organa, pri čemu svaki ima svoju specifičnu ulogu. Razlikuju se generativni (cvat, cvijet, bobica, sjemenka, vitica, grozd) i vegetativni organi (mladica, listovi, stablo) (Mirošević, 1996).

Vinova loza prolazi kroz mali i veliki razvojni ciklus tijekom svog života. Prema Miroševiću (1996) veliki ciklus traje od klijanja ili sadnje do kraja života, a zavisi i o načinu razmnožavanja. Tijekom ovog ciklusa prolazi kroz tri faze:

- Prvo – porast rodosti (7 – 10 g.),
- Drugo – normalna rodost (ovisi o različitim čimbenicima),
- Treće – opadanje rodosti (u posljednjim godinama).

Mali razvojni ciklus podrazumijeva faze razvoja tijekom jedne godine:

1. Suzenje
2. Pupanje
3. Cvatnja i oplodnja
4. Rast bobica
5. Dozrijevanje grožđa
6. Priprema za zimski odmor
7. Zimski odmor (Mirošević, 1996).

Sorta vinove loze jedan je od najvažnijih čimbenika kakvoće vina. Svaka sorta je specifična te izravno utječe na prinos grožđa, sadržaj šećera, količinu i sastav kiselina. Sorta izravno utječe na fizikalno-kemijska, ali i senzorna-olfaktivna i gustativna obilježja vina te mu daje karakter i osobnost.

Grožđe, plod vinove loze, predstavlja esencijalni element u proizvodnji vina, a njegova kvaliteta ovisi o puno čimbenika. Ključni spojevi prisutni u grožđu su: voda, šećeri, organske kiseline, mineralni sastojci, polifenolni spojevi, terpeni, spojevi s dušikom i ostali spojevi (Maletić i sur., 2008).

2.2. MALVAZIJA ISTARSKA

Podrijetlo Malvazije istarske još uvijek nije utvrđeno te se smatra tipičnom i autohtonom sortom Istre. Na svijetu postoji još sorata koje u svom imenu nose naziv *Malvasia*, ali provedbom istraživanja nije utvrđena nikakva sličnost Malvazije istarske s nekom od njih. Prvi pisani tragovi o uzgoju Malvazije istarske u Istri vuku porijeklo iz 1891. godine kada je predstavljena na izložbi vina u Zagrebu. U časopisu *L'Istria Agricola* 1913. godine pod imenom *Malvasia bianca* objavljen je prvi ampelografski opis Malvazije iz Istre te njegov opis odgovara Malvaziji istarskoj (Inđić, 2022).

Malvazija istarska najviše se uzgaja u podregiji Hrvatska Istra, a u manjoj mjeri uzgaja se u podregiji Hrvatsko primorje te je evidentiran uzgoj i u ostalim vinogradarskim podregijama Hrvatske. Izvan Hrvatske uzgaja se u podregiji Slovenska Istra te u talijanskoj regiji Friuli (Maletić i sur., 2015).



Slika 1 Malvazija istarska (Web 1)

2.2.1. Obilježja Malvazije istarske

Vrh mladice i mladi listići su bez dlačica i svijetlozelene boje. Odrasli list je nejednoličan, pentagonalnog do okruglastog oblika i trodijelan s postranim gornjim sinusima nepravilnog i plitkog oblika, blago udubljeni i otvoreni za razliku od postranih donjih sinusa koji su nešto slabije izraženi. Sinus peteljke ima oblik vitičaste zgrade. Lice lista je glatko i tamnozeleno, a naličje golo i svjetlije boje. Mladi listovi starenjem postaju tamnozeleni. Plojka je valovita i neravna, a peteljka lista je kraća usporedno s glavnom žilom plojke. Cvijet je dvospolan. Zreli grozd srednje je zbijen, a nekad i rastresit, srednje veličine i cilindrično-koničan. Peteljka grozda srednje je duljine te odrveni samo uz mladicu dok je ostatak meke građe. Zrele bobice su okruglastog oblika te zelenkasto-žute do zlatnožute boje. Kožica bobice je vrlo čvrsta, ali tanka. Meso bobice je sočno, a kada se uzgajaju na osunčanim i nagnutim položajima imaju blago aromatičan i sladak sok, dok bobice sa slabijim sunčanim osvjetljenjem i u dolinama imaju manje izražen okus (Inđić, 2022).

Malvazija istarska dozrijeva u III. razdoblju te vegetacija započinje kasno. U uvjetima plodnih i dubokih tala rast mladica je bujan. Rodnost je srednje visoka i uglavnom redovita. Problemi u oplodnji mogu se javiti tijekom kiše, vjetra i hladnog vremena. Zbog krhke peteljke grozda teško podnosi tuču. Iako otporna na većinu bolesti, jedini izazov predstavlja joj crna pjegavost koja može zahvatiti mladice (Maletić i sur., 2015).

Poznata je po visokoj kakvoći grožđa i vina te ovisno o uvjetima uzgoja postiže srednje do visoke razine šećera u grožđu. Najčešće udio alkohola u vinu iznosi od 12 do 14 vol.%, dok se kiselost kreće od 5,0 do 6,5 g/L. Najbolje rezultate u kvaliteti vina daje na brdovitim i flišnim terenima južne i jugozapadne ekspozicije. Problemi s oplodnjom mogu se javljati na zatvorenim slabo prozračnim položajima te na plodnim i vlažnim tlima zbog njezine visoke bujnosti (Maletić i sur., 2015).

Vino dobiveno od sorte Malvazija istarska prepoznatljivo je po svijetloj, slamnato-žutoj boji s zelenkastim odsjajem. Odlikuje se voćno-cvjetnim mirisom koji podsjeća na miris badema, zelene jabuke s karakterističnom sortnom aromom na miris bagremova cvijeta. Okus vina zaokružen je i harmoničan. Visoka kvaliteta grožđa i vina te prepoznatljivost vezana za područje Istre i okolice opravdavaju visoku gospodarsku vrijednost Malvazije Istarske (Maletić i sur., 2015).

2.3. UTJECAJ KLIMATSKIH UVJETA NA KAKVOĆU GROŽĐA I VINA

Klimatske promjene veliki su izazov u proizvodnji vina. Diljem svijeta rastu temperature, a većina regija sve je češće izložena nedostatku vode. Visoke temperature potiču naprednu fenologiju. Time se faza sazrijevanja pomiče u toplije ljetne periode, što će utjecati na sastav grožđa, posebice na aromu. Veći nedostatak vode smanjuje prinose i mijenja sastav ploda. Vjerojatno će se povećati učestalost ekstremnih klimatskih pojava kao što su tuča i poplave. Ovisno o količini promjene i regiji, to može imati pozitivne ili negativne učinke na kvalitetu vina. Nužno je razviti strategije prilagodbe kako bi se osigurala kontinuirana proizvodnja visokokvalitetnih vina i sačuvala tipičnost njihovom podrijetlu u uvjetima promjenjive klime (van Leeuwen i Darriet, 2016).

Klima je glavni faktor u proizvodnji vina. Klimatski uvjeti imaju značajniji utjecaj na razvoj vinove loze i karakteristike njenog ploda u usporedbi s tlom i sortama vinove loze. Vinova loza je vrsta koja uspijeva u umjerenom klimatskom pojasu. Većina glavnih vinogradarskih regija nalazi se između 25° i 52° sjeverne zemljopisne te 30° i 45° južne zemljopisne širine. Temperatura, vlažnost i svjetlost su ključni klimatski faktori za uzgoj vinove loze (Maletić i sur., 2008).

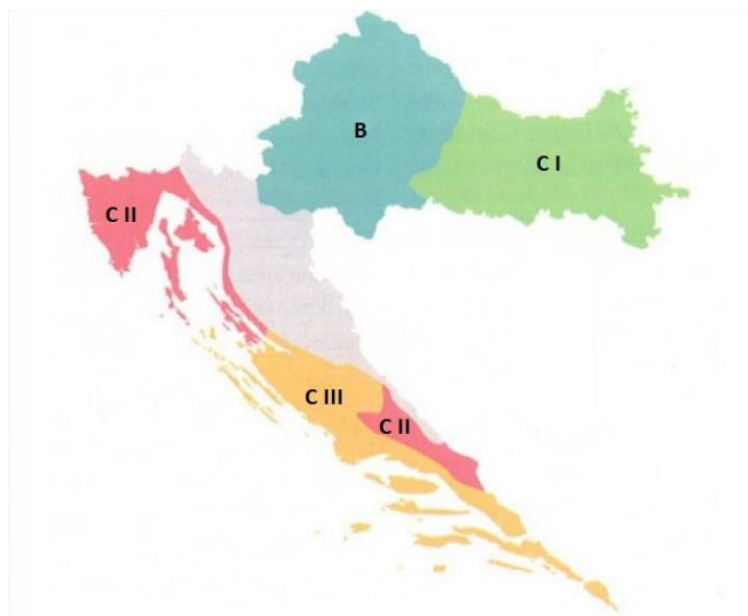
Duga povijest uzgoja vinove loze rezultirala je time da su najbolja vina povezana s geografski različitim vinogradarskim regijama koje se nalaze u mediteranskim klimama diljem svijeta. Klimatski i vremenski uvjeti u ovim regijama jako utječu na proizvodnju kvalitetnog grožđa, a time i kvalitetnog vina. Vrste grožđa koje se mogu uzgajati i cjelokupni stil vina koje regija proizvodi rezultat su osnove klime, dok varijabilnost klime određuje razlike u kvaliteti od berbe do berbe. Postoji više vremenski i klimatski čimbenika koji mogu utjecati na rast grožđa i kvalitetu vina, a to su sunčevo zračenje, akumulacija topline, ekstremne temperature, vjetar, oborine i tuča). Duljina vegetacijske sezone i temperatura su ključni aspekti jer imaju najveći utjecaj na sposobnost sazrijevanja grožđa do optimalnih razina šećera, kiselina i okusa, što omogućuje postizanje maksimalnog kvaliteta određenog stila vina (Jones i sur., 2005). Na toplinu utječu: geografska širina, nadmorska visina, blizina velikih masiva vode, blizina većih kamenih goleti, blizina većih kompleksa šuma, smjer pružanja planinskih lanaca i ekspozicija i inklinacija terena (Matošević, 2017).

Temperature tijekom vegetacije mogu utjecati na kvalitetu i održivost grožđa. Dugotrajne temperature iznad 10 °C pokreću proljetni vegetativni rast i time određuju početak vegetacijske sezone. Početak rasta označava ključni trenutak u vinogradu jer određuje kada će se dogoditi

cvatnja i sazrijevanje grožđa. Tijekom cvatnje i razvoja bobica, ekstremno visoke temperature u kombinaciji s niskom vlagom zraka i izravnim sunčanim osvjetljenjem mogu izazvati preuranjenu promjenu boje i početak nakupljanja šećera, visoku smrtnost grožđa opadanjem, inaktivaciju enzima ili nepotpuno dozrijevanje okusa. Visoki raspon dnevne temperature u vrijeme sazrijevanja grožđa rezultira visokim sadržajem šećera, manjim sadržajem kiselina i manjim sadržajem aromatskih tvari. Ukoliko su tijekom dozrijevanja grožđa niske srednje dnevne temperature to će dovesti do manjka šećera, višeg sadržaja kiselina i intenzivnije arome. U uvjetima niskih temperatura, cvijet će stradati na 0 °C, mladi listići na -2 °C, a pup u fazi otvaranja na -4 do -5 °C. Vinova loza akumulira škrob i šećer u grozdovima tijekom njihovog sazrijevanja, nakon berbe sve do otpadanja lišća, te razgrađuje škrob u šećer tijekom zimskog mirovanja. (Jones i sur., 2005; Matošević, 2017).

Prema Maletić i sur. (2008), toplinski uvjeti nekog područja ključni su za procjenu njegove prikladnosti za uzgoj vinove loze. Središnja godišnja temperatura primarni je pokazatelj i treba biti od 9 do 21 °C. Minimalne i maksimalne temperature bitne su u pojedinim fazama biološkog ciklusa. Na početku i kraju vegetacijskog ciklusa glavni faktor regulacije je temperatura, a u sredini vegetacijskog ciklusa ograničavajući faktori su ekstremno visoke temperature. Biološka aktivnost započinje kada srednja dnevna temperatura iznosi 10 °C pa se ta temperatura naziva biološka nula. Aktivne temperature su sve srednje dnevne temperature više od 10 °C, a kada od njih odbijemo 10 °C dobije se efektivna temperatura. Kako bi se postigla puna zrelost grožđa i kraj vegetacijskog ciklusa potrebna je suma aktivnih temperatura u vegetacijskom periodu. Raspon suma efektivnih temperatura za vinogradarske zone u Republici Hrvatskoj:

- Zona B: 1250 – 1450 °C,
- Zona C1: 1450 -1650 °C,
- Zona C2: 1650 – 2000 °C,
- Zona C3: > 2000 °C .



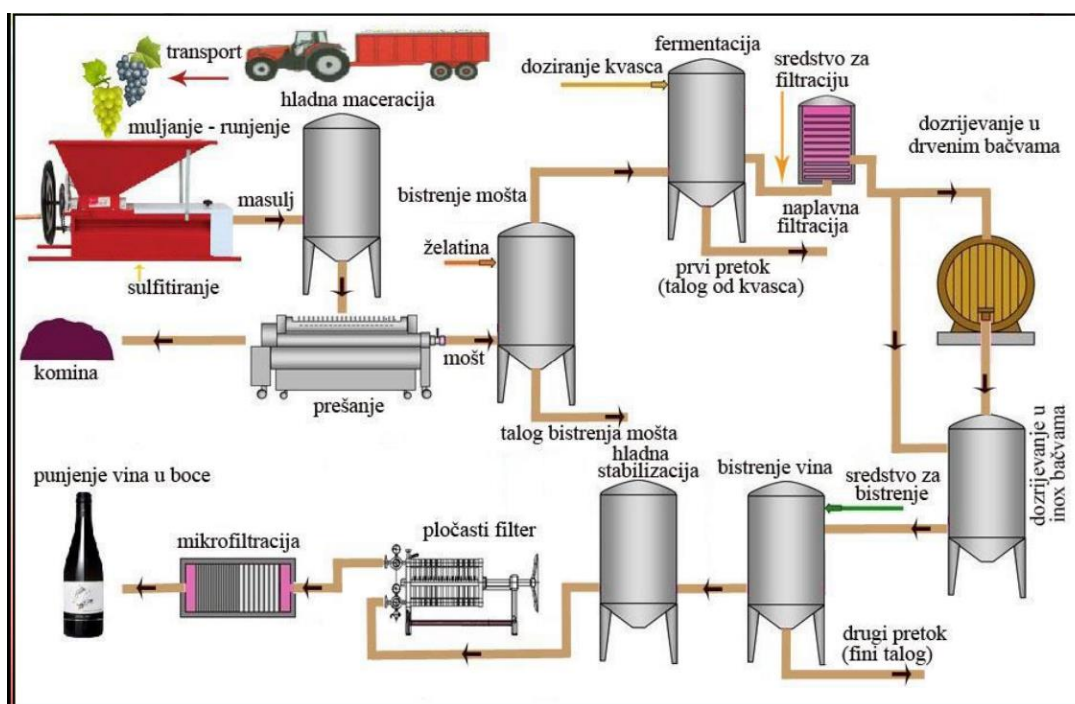
Slika 2 Klimatske zone u Republici Hrvatskoj (Web 2)

Vinovoj lozi je za pravilan rast i razvoj potrebna redovita opskrbljenost vodom iz tla i vlažnost zraka. Godišnja količina oborina od 600 do 800 mm zadovoljava potrebe vinove loze. U fazi intenzivnog rasta bobica i mladica nužna je dovoljna vlažnost. Obilne oborine štetne su u fazi dozrijevanja i cvjetanja jer neće doći do oplodnje i moguć je razvoj gljivičnih bolesti zbog pucanja kože bobica. Veća vlažnost u zraku i tlu povećavaju tolerantnost vinove loze na visoke temperature.

Sunčeva svjetlost je neophodna za fotosintezu i razvoj vinove loze. Tijekom dozrijevanja veći broj sunčanih sati potiče brže nakupljanje šećera, dok je za bolju boju bobice ključno da grozdovi budu izloženi suncu (Maletić i sur., 2008).

2.4. PROIZVODNJA BIJELIH VINA

Proizvodnja vina započinje berbom grožđa. Trenutak berbe i sama berba jedan je od najbitnijih koraka u proizvodnji vina. Berba grožđa se provodi kada grožđe dostigne tehnološku zrelost odnosno kada je omjer kiselina i šećera optimalan. Berba se može obavljati strojno ili ručno. Vrijeme koje protječe od berbe do početka prerade grožđa utječe na kakvoću budućeg vina stoga se grožđe treba što prije transportirati i preraditi. Nakon što se grožđe transportira u vinariju provodi se vaganje, vizualni pregled i određivanje zrelosti. Proces proizvodnje bijelog vina uključuje sljedeće postupke: muljanje i runjenje, cijedenje i prešanje, sumporenje mošta i vina, depektinizacija mošta, bistrenje mošta, glavno vrenje, tiho vrenje, dozrijevanje, pretakanje, filtriranje i punjenje u boce (Babić, 2022; Mačinković, 2017).



Slika 3 Shematski prikaz procesa proizvodnje vina (Web 3)

Runjenje je proces koji se koristi za odvajanje peteljki od bobica. Muljanje je proces kojim se bobice grožđa gnječe i oslobađa se sok (mošt). Proces se provode u runjači-muljači gdje se prvo odvaja peteljka od bobice u bubnju s rupicama, a nakon toga se na valjcima gnječe bobice i dobiva se masulj, smjesa sjemenki, soka i kože (Mačinković, 2017).



Slika 4 Električna muljača – runjača za grožđe (Web 4)

Sumporenje se treba provesti u fazi muljanja i runjenja ukoliko grožđe nije zdravo. Potrebno je dodati samo dio sumporaste kiseline, a ostatak se dodaje nakon bistrenja mošta (Herjavec, 2019).

Nakon runjenja i muljanja grožđa, sljedeći korak je prešanje koje je potrebno odmah napraviti kako bi se osigurala visoka kvaliteta vina s poboljšanom aromom i okusom. Masulj se stavlja u prešu i otoči se samotok. Samotok je mošt koji se dobiva odvajanjem tekućine iz preše prije tlačenja. Ima veći udio šećera od prešavine i manji udio tanina i pektina te daje najkvalitetnije vino. Obično se prešanje obavlja u dva koraka koristeći kontinuirane pužne preše. Potrebno je vršiti prešanje polako i postupno povećavati tlak. Kvaliteta dobivene prešavine ovisi o pravilnom doziranju tlaka i trajanju procesa prešanja (Herjavec, 2020).



Slika 5 Preša za grožđe (Web 5)

Sumporenje mošta potrebno je provesti nakon otakanja mošta i prešanja ukoliko se nije provelo tijekom muljanja grožđa. Kod proizvodnje vina sumporenje je nužno da bi se proizvelo zdravo vino. Količina sumpora koju je potrebno dodati ovisi o više faktora, kao što su zdravstveno stanje grožđa, temperatura grožđa i mošta, te vremenski uvjeti tijekom berbe, posebice u jesen.

Vrste i oblici sumpora koji se primjenjuju u vinarskoj praksi su elementarni sumpor, sumporni dioksid i kalijev metabisulfit (vinobran). Učinak sumpora je višestruk. Djeluje kao antiseptik i antioksidans te se veže s pojedinim sastojcima vina pa utječe na miris i okus. Kao antiseptik sumpor utječe na rad cjelokupne mikroflore mošta i vina. Mikroorganizmi pod utjecajem sumpora smanjuju svoju aktivnost te ugibaju ako se primjeni veća doza. Najmanje su otporne plijesni i bakterije, a kvasci ugibaju uz primjenu vrlo visoke količine sumpora. U moštu ima više hranjivih sastojaka u odnosu na vino pa će i kvasci bolje podnositi veće količine sumpora. Antiseptičko djelovanje sumpora ovisi i o stanju u kojem se kvasac nalazi. Za vrijeme burnog vrenja i razmnožavanja biti će najotporniji jer je u tom stadiju puno kvasaca i stvara se acetaldehid koji će vezati dio sumpora. Primjenom sumpora postiže se selekcija kvasaca te ostaju otporniji koji obave vrenje do kraja. Sumpor kao antioksidans veže kisik i štiti vino od oksidacije, veže se na fenolne tvari i sprječava njihovu oksidaciju. Sumporenjem se ubrzava u taloženje nečistoća u moštu. Pretjerano sumporenje vina loše djeluje na zdravlje ljudi. Sumpor iz prejako sumporenog vina utjecajem klorovodične kiseline u želucu, ulazi u krv i veže se na dio kisika pa se smanjuje količina kisika koja je potrebna za normalnu funkciju organizma. Posljedica toga je glavobolja (Zoričić, 1993).

Pektini mogu izazvati zamućenje vina tijekom fermentacije te je nužno provesti depektinizaciju mošta kako bi se ubrzalo bistrenje i smanjio viskozitet mošta. To se postiže dodavanjem enzima za depektinizaciju, depolimerizaciju i deesterifikaciju. Enzimi razgrađuju pektine i to će rezultirati bistrijim moštom i kasnije vinom. Brzina depektinizacije ovisi o temperaturi mošta, a optimalna temperatura se kreće između 10 i 25 °C ili više (Mačinković, 2017; Matošević, 2017).

Nakon depektinizacije provodi se bistrenje mošta prilikom kojeg se talože nečistoće iz mošta koje su došle s grožđem. Vežu se aroma, tvari boje i druge tvari koje utječu na okus vina. Nečistoće bi u kasnijim fazama proizvodnje vina mogle negativno utjecati na njegovu kvalitetu. Bistrenje se može provesti na dva načina: taloženjem mošta tijekom 24 sata ili dodatkom bistrila. Bistrenjem vina i mošta bistrilima uklanja se dio arome pa ga je nužno provesti onda kada se oduzima najmanje arome, a to je prije vrenja. Može se provesti i nakon vrenja, ali tada će oduzeti više arome. Ako je mošt izbistren, vrenje će biti mirnije i neće biti pjene. Nakon

bistrenja mošt se pretače u posudu u kojoj će se provoditi alkoholno vrenje (fermentacija) te mu se dodaju selekcionirani vinski kvasci i hrana za kvasce. Kvasci igraju ključnu ulogu u stvaranju arome vina jer određeni tipovi kvasaca stvaraju aromatične tvari. Stoga je važno pažljivo odabrati kvasac i kontrolirati temperaturu fermentacije kako bismo postigli željene arome u vinu (Herjavec, 2019; Mačinković, 2017).

Alkoholna fermentacija predstavlja ključnu fazu u proizvodnji vina. Alkoholna fermentacija je anaeroban proces u kojem se šećer iz mošta pomoću kvasaca pretvara u alkohol i ugljikov dioksid. Mošt sadrži šećer, dušične i mineralne tvari i vitamine koji su potrebni za rast i razmnožavanje kvasaca. Sekundarni produkti alkoholne fermentacije su glicerol, hlapljive kiseline, viši alkoholi, metanol, acetaldehid (Mačinković, 2017).

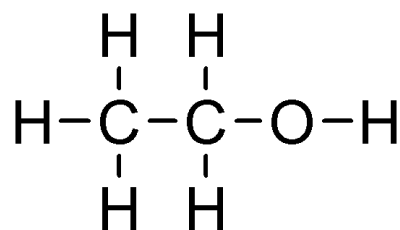
Proces alkoholne fermentacije je najprije buran i u tom stadiju se najviše oslobađa ugljikov dioksid. Provodi se prvo toplo vrenje na temperaturi od 15 do 18 °C stupnjeva u trajanju pet do deset dana, a zatim hladno na temperaturi od 10 do 15 °C, od 7 do 14 dana. Nakon završetka glavnog (burnog) vrenja, kada u vinu ostane mali udio šećera započinje tiho (naknadno) vrenje. Ukoliko zaostane veći udio šećera, naknadno vrenje može biti intenzivnije i najčešće se događa nakon pretoka, obično u proljeće. Tiho (naknadno) vrenje se odvija na temperaturi od minimalno 15 °C, tri do šest tjedana (Mačinković, 2017).

Nakon završetka alkoholne fermentacije vino treba vrijeme za odležavanje kako bi se istaložile čestice mutnoće, postigla bistra boja i razvila aroma. Odležavanje se odvija na temperaturama od 10 do 12 °C. Slijedi pretakanje, filtriranje kako bi se odstranile čestice mutnoće iz vina te punjenje u boce (Vrdoljak, 2009).

2.5. KEMIJSKI SASTAV

2.5.1. Alkoholi

Prema odredbama Pravilnika o proizvodnji vina (NN 2/05), alkoholna jakost vina mora iznositi najmanje 8,5 vol.% (stolna vina), a najviše 15 vol.% za proizvodnju vrhunskih i kvalitetnih vina. Vino sadrži različite vrste alkohola, ali najzastupljeniji je etanol (etilni alkohol). Etanol u vinu nastaje tijekom alkoholne fermentacije prirodnih šećera. Količina proizvedenog etanola ovisi o količini šećera u grožđu i moštu (Šafranjević, 2018).



Slika 6 Strukturna formula etilnog alkohola (Web 6)

Metanol (metilni alkohol) je nusprodukt alkoholne fermentacije koji nastaje hidrolizom pektinskih tvari posredstvom pektinesteraze. Pektinski spojevi se prirodno nalaze u bobicama grožđa. Bijela vina sadrže najčešće oko 60 mg/L metanola, dok crna vina sadrže 2-3 puta više jer njihova proizvodnja uključuje maceraciju i fermentaciju masulja, a to rezultira višim udjelom metanola. Alkohol metanol je toksičan jer se transformira do mravlje kiseline ili formaldehida koji uzrokuju otežano disanje i abdominalnu bol. U većim koncentracijama može biti izuzetno opasan, pa čak i smrtonosan (Ivić, 2020).

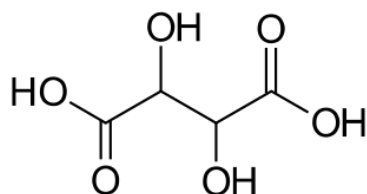
Nakon vode i etanola, glicerol je po količini treći najzastupljeniji sastojak u vinu. Glavni je nusprodukt fermentacije koji neizravno pridonosi senzornom karakteru vina. U suhim stolnim vinima nalazi se u koncentraciji od 4 – 10 g/L, ali povremeno može biti prisutan u moštu koji je zaražen plemenitom plijesni. Glicerol je nehlapljivi spoj, a veća koncentracija glicerola pridonosi slatkoći, punoći i viskoznosti vina. Njegova koncentracija reducira se odležavanjem (Šehović i sur., 2004).

2.5.2. Kiseline

Organske kiseline predstavljaju najznačajniju grupu spojeva za okus vina. Koncentracija kiselina u grožđu i moštu, izražena kao vinska kiselina, kreće se od 4 do 14 g/L. Kiseline u vinu mogu biti ukupne kiseline (sadržaj svih kiselina u vinu, a iskazuju se kao vinska), hlapljive i nehlapljive kiseline. Najbitnije nehlapljive organske kiseline u moštu su: vinska, jabučna, jantarna, mliječna i limunska kiselina. Tijekom proizvodnje kiselina dio njih se gubi, ili nastaju neke druge kiseline. Organske kiseline koje nastaju alkoholnom fermentacijom su piruvična, fumarna, oksalna, octena, sukcininska i mliječna kiselina. Hlapljive kiseline nastaju kao sekundarni produkti alkoholne fermentacije. Grupa su masnih kiselina koje daju vinu njegov prepoznatljiv miris jer isparavaju pri sobnoj temperaturi. Ukupni sadržaj hlapljivih kiselina izražava se u octenoj kiselini, koja je njihov glavni predstavnik. Octena kiselina nastaje putem oksidacije etanola pod utjecajem octenih bakterija u aerobnim uvjetima ili kvasaca u anaerobnim uvjetima tijekom procesa alkoholne fermentacije. Ako je prisutna u koncentraciji

manjoj od 9 g/L, može doprinijeti aromi vina, dok u većim koncentracijama može uzrokovati octikavost (neželjene promjene u okusu i mirisu (Ivić, 2020).

Kiseli okus vina potječe od kiselina, osim vrste i količine, ovisi o tome da li su kiseline u mješavini s njihovim alkalnim solima ili same. Vinska kiselina daje osnovni okus kiselosti, jabučna kiselina daje opori okus, limunska kiselina daje osjećaj oštine i mliječna stvara osjećaj ugodnosti. Na kiseli okus vina mogu utjecati i drugi sastojci: alkohol, šećer, glicerol, tvari arome i druge (Zoričić, 1993).



Slika 7 Strukturna formula vinske kiseline (Web 7)

2.5.3. Ugljikohidrati

Najznačajniji ugljikohidrati prisutni u moštu i vinu su monosaharidi, oligosaharidi, pektin i sluzave tvari. Nastaju procesom fotosinteze najviše u listovima i malim dijelom u bobicama. Udio šećera koji se nalazi u grožđu i moštu ovisi o sorti, zrelosti i zdravlju grožđa i vremenskim uvjetima. Tijekom procesa alkoholne fermentacije, fermentirajući šećeri se prevode u alkohol, ugljikov dioksid i sekundarne metabolite uz pomoć kvasaca. U vinima u kojima je alkoholna fermentacija provedena do kraja može ostati dio neprevrelog šećera koji daje slatkoću vinu.

Prema količini neprevrelog šećera, vina se dijele na:

- Suho vino (do 4 g/L neprevrelog šećera),
- Polusuho vino (4 – 12 g/L neprevrelog šećera),
- Poluslatko vino (12 – 50 g/L neprevrelog šećera),
- Slatko vino (više od 50 g/L neprevrelog šećera).

Šećeri se mogu prevesti do estera masnih kiselina, viših alkohola i aldehida, što će utjecati na aromu vina. Šećer je idealan spoj za balansiranje okusa u vinu pa se često ciljano prekida alkoholna fermentacija. Reducira okus kiselosti, trpkosti i gorčine. Tijekom proizvodnje vina nije dopušteno dodavanje industrijskog šećera, osim kod nekih specijalnih vina (Alpeza, 2008; Ivić, 2020).

Za određivanje količine šećera u grožđu i moštu koristi se moštna vaga (Baboova ili Oechslova) ili refraktometar (Matošević, 2017).

2.5.4. Esteri

Esteri u vinu nastaju kao rezultat reakcije između kiselina i alkohola. Vrlo su važna skupina spojeva u vinu jer utječu na aromu i okus vina. U vinu se nalaze dvije grupe estera: voćni esteri, koji se formiraju tijekom alkoholne fermentacije i odlikuju se svježim, voćnim aromama, dok se druga skupina estera formira tijekom dozrijevanja vina. Tijekom fermentacije nastaju acetatni esteri viših alkohola i etil esteri masnih kiselina, obje su grupe produkti metabolizma kvasaca. Vrlo su hlapljivi spojevi pa njihove koncentracije opadaju u prisutnosti kisika i visoke temperature, stoga je čuvanje vina na nižim temperaturama ključno za očuvanje voće arome vina. Zaslužni su za intenzivni voćni miris u mladim vinima. Najzastupljeniji ester je etil acetat, koji u količini do 50 – 60 mg/L doprinosi voćnosti vina (Alpeza, 2008).

2.5.5. Aldehidi i ketoni

Aldehidi i ketoni predstavljaju skupinu karbonilnih spojeva koji utječu na senzorska svojstva vina. Skloni su oksidaciji u karboksilne kiseline u prisutnosti kisika što može dovesti do neželjenih promjena u okusu i aromi vina, stoga se koristi sumporasta kiselina za inaktivaciju tih spojeva. Aldehidi nastaju alkoholnom fermentacijom, osobito acetaldehid koji je međuprodukt tijekom razgradnje šećera. Veći dio acetaldehida se prevodi u etanol, a tek mali dio doprinosi aromi. Acetaldehid u većim količinama vinu daje miris na oksidiranost ili starost što je posljedica manje sumporenog vina. Etanal vinima daje miris svježije zelene jabuke, dok vanilin kao aromatski aldehyd pridonosi mirisu vanilije. Najzastupljeniji ketoni u vinu su acetone, diacetil i acetoin. Aroma po svježem maslacu je karakteristična za prisutnost ketona (Ivić, 2020; Šafranjević, 2018).

2.5.6. Terpeni

Terpeni su glavna skupina spojeva koji predstavljaju primarnu aromu grožđa koja je karakteristična za svaku sortu. U grožđu mogu biti u dva oblika: slobodni terpeni koji su odgovorni za aromu, te vezani (za šećere) terpeni koji se oslobađaju tijekom postupka proizvodnje vina. Terpeni se u grožđu većinom nalaze u vezanoj, glikozidnoj formi koji nemaju utjecaj na miris. Cijepanje glikozidnih veza je moguće tijekom dozrijevanja vina pri čemu dolazi do oslobađanja terpena i jače izražene arome vina. Ulaskom slobodnih terpena u reakcije

razgradnje dolazi do gubitka cvjetno voćne arome. Korištenjem enzima zajedno s maceracijom (od nekoliko sati) prije početka alkoholne fermentacije potiče se oslobađanje vezanih terpena i poboljšanje arome (Alpeza, 2008).

2.5.7. Mineralne tvari (pepeo)

Pepeo se sastoji od anorganskih tvari prisutnih u vinu koje ostaju nakon isparavanja vode i potpunog spaljivanja suhe tvari. Ovisno o tehnološkim procesima koji obuhvaćaju sve faze od berbe grožđa do punjenja u boce, količina pepela u vinu kreće se od 1,1 do 4,6 g/L. Na nju utječu različiti faktori kao što su vrsta vinove loze, kakvoća grožđa, mikro i makroklimatski uvjeti, sastav tla i reljef. Pepeo se pretežno sastoji od soli kalcija, kalija i magnezija, sumporne, fosfatne i karbonatne kiseline, te od tragova bakra, fluora, mangana, željeza i ostalih elemenata. Vina koja sadrže visoke koncentracije mikroelemenata (Fe, Zn, Co, Mn, Ni) imaju bogatiju aromu i bouquet, te su jače izražene sortne karakteristike grožđa.

2.5.8. Polifenolni spojevi

Polifenoli su organski spojevi koji su prirodno prisutni u namirnicama biljnog podrijetla i to su sekundarni biljni metaboliti (Matošević, 2017).

Prema Kennedy i sur. (2005) istraživanje polifenola u grožđu i vinu može se podijeliti u tri područja: razvoj polifenolnih spojeva u vinogradu, modifikacija i ekstrakcija polifenolnih spojeva tijekom proizvodnje vina i sudbina fenolnih spojeva tijekom starenja vina.

Polifenoli i njihovi srodni spojevi utječu na okus, izgled, miris i antimikrobna svojstva vina. Djeluju i kao antioksidansi, sprječavaju štetan učinak slobodnih radikala u organizmu (Jackson, 2008).

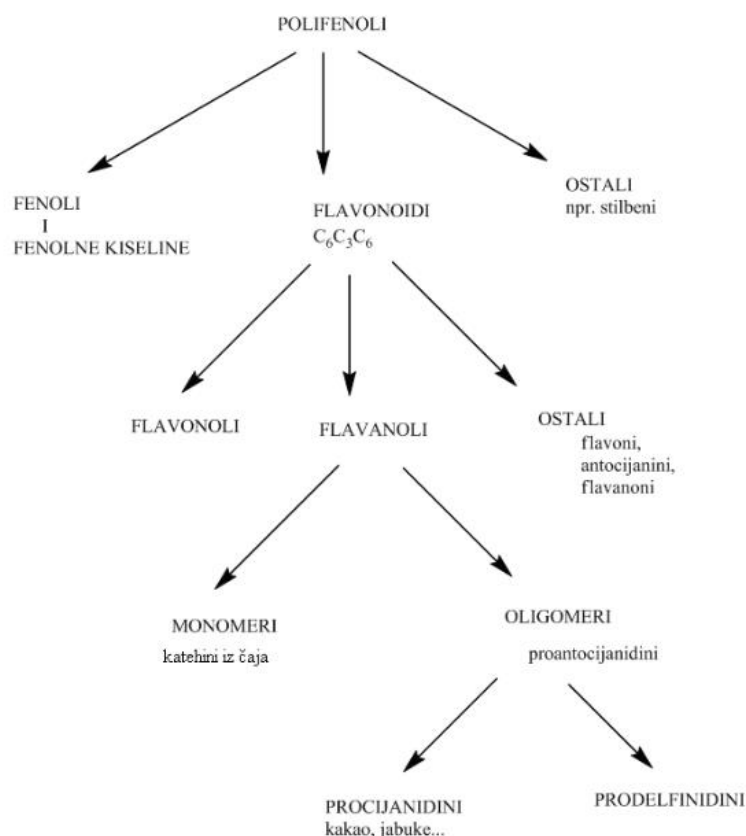
Većina polifenolnih spojeva u vinu potječe iz grožđa (sjemenka, kožica, peteljka), a manji dio može nastati aktivnošću mikroorganizama ili ekstrakcijom iz drvenih bačvi dozrijevanjem vina (Cedilak, 2016).

Polifenolni spojevi u grožđu i vinu dijele se u dvije osnovne skupine: flavonoidi i neflavonoidi. U flavonoide spadaju flavonoli, antocijani, proantocijanidini i flavan-3-oli. Predstavnici neflavonoida su fenolne kiseline (derivati benzojeve i cimetine kiseline) te stilbeni, kumarini, hlapljivi fenoli i drugi (Ivić, 2020).

Bijelo vino sadrži manje koncentracije polifenolnih spojeva u odnosu na crno. Budući da se bijela vina proizvode od mošta blagim prešanjem, u njihovom polifenolnom sastavu dominiraju

neflavonoidi koji potječu iz kože i mesa bobice. Neflavonoidi se lako ekstrahiraju prilikom gnječenja. U proizvodnji crnog vina što je duži kontakt s kožicom (maceracija) nakon muljanja, a prije prešanja ili primjena većeg pritiska tijekom prešanja, rezultira većom koncentracijom flavonoida (Perić, 2018). Prema (Jackson, 2008) vjeruje se da je većina žute boje u mladom bijelom vinu posljedica ekstrakcije i oksidacije flavonola. Flavonoidi se sintetiziraju u sjemenkama i kožicama i u malim količinama u peteljka. Antocijani i flavonoli prvenstveno se nalaze u kožici grožđa, dok se flavan-3-oli i njihovi polimeri procijanidina primarno nalaze u sjemenkama i peteljka.

Bijela vina i mošt sadrže benzojevu i cimetnu kiselinu, flavonole i katehin. Glavna fenolna tvar bijelih vina je tirozol koja je prisutna u koncentraciji 6 – 25 mg/L. U slobodnom obliku i u kombinaciji s vinskom kiselinom u bijelom vinu nalazi se p-kumarinska i ferulinska kiselina, one učestvuju u posmeđivanju mošta bijelog grožđa. Prisustvo proantocijanidina može se prepoznati po dubokoj žutoj boji bijelih vina. Ukupni fenoli u suhim bijelim vinima kreću se u koncentracijama od 50 do 250 mg/L (Herjavec, 2022).



Slika 8 Osnovna podjela polifenola (Forgić, 2012)

Od ostalih polifenola za kakvoću grožđa su važni tanini, polimeri neflavonoidnih i flavonoidnih fenola koji se nalaze u sjemenkama, kožici i peteljci grožđa. Dije se na kondenzirane (u kožici i sjemenki bobice grožđa) i hidrolizirajuće (potječu iz drveta). Odgovorni su za trpkost i gorčinu vina. Tanini su u crnim vinima najzastupljeniji (oko 50% ukupnih polifenolnih spojeva), dok se u bijelim vinima mogu pronaći u vrlo malim koncentracijama. Reagirajući s antocijanima stvaraju stabilnije pigmente koji doprinose boji crnog vina. Antocijani su najvažniji polifenoli odgovorni za crvenu, plavu i ljubičastu boju grožđa (smješteni u kožici i mesu bobice, mala količina u sjemenkama (Alpeza, 2008; Maletić i sur., 2008).

2.5.9. Antioksidacijska aktivnost

Antioksidansi su tvari koje sudjeluju u obrani organizma od štetnog učinka slobodnih radikala. Neutraliziraju slobodne radikale donirajući mu svoj elektron ili vodikov atom. Slobodni radikali su molekule koje imaju jedan ili više nesparenih elektrona i zbog toga su vrlo reaktivni (Babić, 2022).

Prema (Lachman i sur., 2009) uzgajivači vinove loze i proizvođači vina trebali bi težiti proizvodnji grožđa i vina s visokim sadržajem fenolnih spojeva s obzirom da fenolni spojevi imaju brojne zdravstvene prednosti poput antioksidativnog i protuupalnog djelovanja.

2.5.10. Aroma vina

Aroma je izuzetno značajna organoleptička karakteristika vina koja predstavlja kombinaciju različitih kemijskih spojeva, organskih i lako hlapljivih spojeva, aldehida, estera, terpena, kiselina i dr. Aroma se počinje formirati u vinogradu, a razvija se tijekom procesa fermentacije i sazrijevanja. Aromu vina s obzirom na porijeklo pojedinih spojeva dijelimo na: primarnu, sekundarnu i tercijarnu (Ivić, 2020).

Primarne arome

Primarne arome potječu iz sorte grožđa i formiraju se tijekom njegovog zrenja. Njihova koncentracija u grožđu ovisi o sorti, vremenskim uvjetima, sastavu tla i vinogradarskim tehnikama. Dije se u dvije skupine: slobodne aromatske molekule (metoksipirazini, tioli, monoterpeni) i prekursori (nezasićene masne kiseline, fenolne kiseline, karotenoidi, konjugati S-cisteina i dr.). Najveće koncentracije ovih spojeva nalaze se u pokožici grožđa, stoga veliku ulogu u proizvodnji crnog vina ima proces maceracije kada se ekstrahiraju iz pokožice u mošt. Glavni nositelji primarnih aroma su terpeni, koji se ubrajaju u jednostavne lipide. Najčešće su to biljne, cvjetne ili voćne arome. Mogu se pronaći u svim vinima, ali je njihova koncentracija

vrlo mala te nije prepoznatljiva kao specifična aroma (Ivić, 2020; Nežić 2019). Monoterpen je najjednostavniji terpen i javlja se u dva oblika kao slobodni (nevezani) i vezani (glikozidni). Za vino najznačajniji su monoterpeni u obliku alkohola: geraniol, linalol, nerol, citronelol, terpineol i hotrineol. Dimetil-sulfid je važan sastojak koji pozitivno utječe na aromu bijelih vina čuvanih u bocama (Herjavec, 2022).

Sekundarne arome

Sekundarne arome nastaju prilikom prerade grožđa, tijekom alkoholne fermentacije. Glavni spojevi koji nastaju su viši alkoholi, esteri, karbonilni spojevi, masne kiseline, hlapljivi fenoli i spojevi sa sumporom. Voćne i cvjetne fermentacijske arome vina primarno su rezultat hlapljivih estera. Mogući su gubitci estera zbog prisutnosti visokih temperatura i oksidativnih uvjeta tijekom prve godine dozrijevanja. Najzastupljeniji ester u vinima je etil-acetat koji je glavni nosilac voćnih aroma (Nežić, 2019; Ivić 2022).

Merkaptani, nastaju tijekom fermentacije te ima značajnu ulogu u proizvodnji vina, posebice sumporovodik (hidrogen sulfid) koji daje specifičan miris na trula jaja. Zračenje vina i otvoreni pretok mogu pomoći u smanjenju mirisa sumporovodika u vinu (Nežić, 2019).

Tercijarne arome

Tercijarne arome nastaju tijekom dozrijevanja i starenja vina u drvenim bačvama ili u staklenim bocama, nizom biokemijskih i kemijskih reakcija. Tijekom starenja vina, događaju se procesi oksidacije već prisutnih aromatski spojeva kao i ekstrakcija tvari iz drvenih bačvi. Oksidacija rezultira povećanjem aldehidnih spojeva (acetaldehid) koji daju mirisnu notu dunje, jabuke, suhog orašastog voća, maslaca i meda (Nežić, 2019).

2.6. KROMATOGRFSKE METODE

Kromatografske metode koriste se za identifikaciju, odjeljivanje i kvantitativno određivanje kemijskih sastojaka u smjesama (Skoog i sur., 1999)

Metoda je separacije u kojoj se sastojci smjese raspodjeljuju između dviju faza, od koji je jedna mobilna (pokretna), a druga stacionarna (nepokretna). Mobilna faza može biti tekuća, tekuća u superkritičnim uvjetima ili plinovita, a njena uloga je prenositi komponente kroz stacionarnu fazu koja je u obliku tekućine ili gela. Razdvajanje faza događa se zbog njihovih različitih brzina kretanja kroz stacionarnu fazu (Zobundžija, 2016).

2.6.1. Plinska kromatografija

U prehrambenoj industriji se često koristi plinska kromatografija kao analitička metoda za razdvajanje i identifikaciju arome tvari u namirnicama (Vinković, 2022).

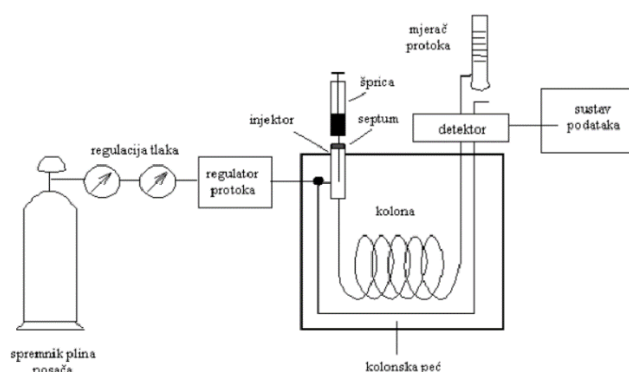
Plinska kromatografija je separacijska tehnika koja se koristi za odvajanje hlapljivih spojeva. Mobilna faza je inertni plin, a stacionarna faza je u krutom ili tekućem stanju.

Obzirom na stacionarnu fazu, metodu dijelimo na:

- plinsko-adsorpcijsku (GSC),
- plinsko-tekućinsku (GLC).

Osnova ove metode je inertni plin (mobilna faza) koji eluira sastojke smjese iz kolone napunjene stacionarnom fazom (silikonska ulja, esteri na krutom nosaču, ugljikovodici velike molekulske mase) pri čemu se najprije razdvajaju lakše hlapljive komponente. Eluiranje se vrši pomoću protoka inertnog plina koji ispire s kolone pojedine komponente koje su se razdvojile. Inertni plinovi (plin nosioc) koji se najčešće koriste su vodik, dušik, helij i argon. Plin nositelj služi samo kao transportno sredstvo, te ne smije reagirati s uzorkom. Mora biti visoke čistoće, suh te ne smije sadržavati ugljikovodike. Kako bi razdvajanje komponenti bilo učinkovitije, kolone moraju biti selektivne, termički stabilne, nehlapljive te kemijski inertne prema sastojcima u smjesi. Detektor je uređaj koji identificira razdvojene spojeve koji izlaze iz kromatografske kolone, bilježi promjene u fizičkim ili kemijskim svojstvima spojeva i pretvara ih u električne signale koji se mogu analizirati. Razlikuju se detektori koji mjere toplinsku vodljivost komponenti, spektrometriju masa, plamenu i radioaktivnu ionizaciju te infracrvenu i ultraljubičastu spektrometriju (Ivić, 2022; Skoog i sur., 1999).

Plinski kromatograf sastoji se od: izvora plina nosioca, injektora, kromatografske kolone, pisaača, detektora i regulatora protoka i tlaka.



Slika 9 Shematski prikaz plinskog kromatografa (Web 8)

Spektrofotometrija masa

Spektrometri su uređaji koji daju podatke o molekularnoj strukturi. Vrste spektrometra: infracrveni spektar (IC), ultraljubičasti spektar (UV), spektar nuklearno magnetske rezonancije (NMR), spektar masa i spektar elektron-spinske rezonancije (ESR).

Spektrometrija masa se temelji na razlici molekula s obzirom na njihov omjer mase i naboja (m/z). Spektrometar masa je uređaj u kojem se molekule bombardiraju snopom elektrona bogatih energijom pri čemu dolazi do cijepanja kemijskih veza u njihovoj strukturi i nastaju ioni karakteristični za pojedinu molekulu. Ionima se određuju masene razlike pomoću magnetskog i električnog polja, a za kvantifikaciju je potrebna mala količina uzorka. Maseni spektar na dijagramu pokazuje vrijednosti pomoću navedenog omjera m/z . Svaki spoj posjeduje specifičan spektar masa koji omogućava njegovu identifikaciju. Prilikom analize smjese, svaka komponenta smjese proizvest će svoj vlastiti maseni spektar, a ukupni spektar smjese dobiva se zbrajanjem pojedinačnih spektara komponenata (Barbarić, 2018; Vinković, 2022).

Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi

Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (SPME) koristi se za izolaciju hlapljivih komponenti u analizi uzorka uz pomoć plinskog kromatografa s masenim detektorom. Učinkovita je za razdvajanje samo hlapljivih komponenti uzorka, što sprječava ulaz vlage i kisika u kolonu. SPME se sastoji od kućišta s iglom koja je ispunjena vlaknom (polimerna stacionarna faza) na kojem se adsorbiraju hlapljive komponente. Nakon što se hlapljive komponente adsorbiraju na vlakno, ono se smješta u injektor plinskog kromatografa. Tamo pod visokom temperaturom i vakuumom dolazi do desorpcije pojedinih komponenti s vlakna u kolonu plinskog kromatografa. Maseni spektrometar detektira razdvojene spojeve i rezultati se prikazuju u obliku kromatograma s pikovima koji predstavljaju različite hlapljive komponente u uzorku vina. Najčešće korištena vlakna su polidimetilsiloksan sa slojem poliakrilata, divinilbenzen ili Carboxen (Vinković, 2022).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog diplomskog rada bio je ispitati utjecaj godine berbe na tvari boje i aromu vina Malvazija Istarska. Uzeti su uzorci vina Malvazija Istarska iz godine berbe 2020., 2021., 2022. i 2023. koji su fermentirali s istim tipom kvasca te uz iste uvjete fermentacije i odležavanja. U navedenim uzorcima bilo je potrebno odrediti kemijski sastav, tvari boje i aromu te ih međusobno usporediti. Osnovni kemijski sastav određen je prema Pravilniku o fizikalno-kemijskim metodama analize, NN 106/2004. Primjenom instrumentalne plinske kromatografije i mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME) odredio se kvantitativni udio aromatskih sastojaka na plinskom kromatografu Agilent 7890 B s maseno-selektivnim detektorom Agilent 5977. Polifenoli, flavonoidi i antioksidacijska aktivnost odredili su se pomoću spektrofotometra.

3.2. MATERIJALI

3.2.1. Vino Malvazija Istarska

Analizirana su četiri vina u četiri uzastopne godine berbe. U uzorcima vina Malvazija Istarska iz berbi 2020., 2021., 2022. i 2023. godine primijenjen je kvasac *Linyeast Extra AR* uz kontrolirane uvjete fermentacije. Kvasac *Linyeast Extra AR* odabran je zbog svoje sposobnosti poticanja izraženih cvjetnih i voćnih aroma u bijelim vinima. Fermentacija je provedena pri početnim temperaturama od 17 i 18 °C s postupnim smanjenjem na 13 – 15 °C tijekom procesa.

Tablica 1 Podaci o analiziranim vinima

Vinogradarska regija	Primorska Hrvatska
Podregija	Hrvatska Istra
Vinogorje	Zapadna Istra
Sorta	Malvazija istarska
Godina berbe	2020., 2021., 2022., 2023.

3.2.2. Klimatski uvjeti područja Višnjana

Tablica 2 Srednja mjesečna količina oborina na području Višnjana u 2020., 2021., 2022. i 2023. godini (izvor: *Državni hidrometeorološki zavod*)

Mjesec	Srednja mjesečna količina oborina (mm)			
	2020.	2021.	2022.	2023.
Siječanj	10,2	75,8	24,9	84,1
Veljača	18,1	57,3	39,8	20,2
Ožujak	54,2	17,2	10,7	52,0
Travanj	10,3	95,3	57,6	49,1
Svibanj	30,5	52,8	24,5	76,7
Lipanj	124,9	29,1	64,1	41,8
Srpanj	44,2	60,7	28,2	102,5
Kolovoz	96,1	102,5	49,6	219,8
Rujan	210,4	48,9	179,6	43,8
Listopad	174,1	30,6	10,5	119,8
Studeni	29,7	78,6	199,9	163,0
Prosinac	240,3	88,5	107,2	77,4
Σ	1043,0	737,3	796,6	1050,2

*podebljane vrijednosti prikazuju vrijeme vegetacije

*plave vrijednosti prikazuju najmanju količinu padalina nakupljenih u jednom mjesecu

*crvene vrijednosti prikazuju najveću količinu padalina nakupljenih u jednom mjesecu

Tablica 3 Broj sunčanih sati na području Višnjana u 2020., 2021., 2022. i 2023. godini (izvor: *Državni hidrometeorološki zavod*)

Mjesec	Srednje mjesečno trajanje sijanja sunca (h)			
	2020.	2021.	2022.	2023.
Siječanj	177,5	81,1	156,1	110,4
Veljača	156,6	119,8	151,9	156,7
Ožujak	211,8	247,2	246,3	191,6
Travanj	282,9	212,7	252,8	215,7
Svibanj	263,4	244,9	290,1	255,1
Lipanj	298,3	359,0	342,6	327,5
Srpanj	369,4	312,7	374,0	355,6
Kolovoz	300,4	324,8	311,9	319,4
Rujan	259,1	270,9	213,0	250,5
Listopad	166,0	194,6	220,0	180,2
Studeni	166,7	93,4	106,0	117,4
Prosinac	69,8	114,7	34,5	119,5
Σ	2721,9	2575,8	2699,2	2599,6

*podebljane vrijednosti prikazuju vrijeme vegetacije

*plave vrijednosti prikazuju najmanje sati nakupljenih u jednom mjesecu

*crvene vrijednosti prikazuju najviše sati nakupljenih u jednom mjesecu

Tablica 4 Maksimalna temperatura zraka na području Višnjana u 2020., 2021., 2022. i 2023. godini (izvor: *Državni hidrometeorološki zavod*)

Mjesec	Maksimalna temperatura zraka (°C)			
	2020.	2021.	2022.	2023.
Siječanj	17,3	15,7	17,2	17,0
Veljača	19,0	25,0	17,0	18,6
Ožujak	22,5	24,7	23,2	21,5
Travanj	27,6	23,7	25,0	24,4
Svibanj	27,7	25,6	30,7	29,1
Lipanj	33,7	34,6	38,4	35,6
Srpanj	36,5	36,6	38,5	38,5
Kolovoz	37,5	36,9	39,5	38,1
Rujan	33,0	31,5	31,1	32,5
Listopad	29,2	26,0	26,6	30,5
Studeni	21,6	21,8	22,7	23,3
Prosinac	19,9	16,3	19,0	21,5
Prosjeck	27,1	26,5	27,4	27,6

*podebljane vrijednosti prikazuju vrijeme vegetacije

*plave vrijednosti prikazuju najnižu maksimalnu temperaturu zraka u godini

*crvene vrijednosti prikazuju najveću maksimalnu temperaturu zraka u godinu

Tablica 5 Srednja mjesečna temperatura zraka na području Višnjana u 2020., 2021., 2022. i 2023. godini (izvor: *Državni hidrometeorološki zavod*)

Mjesec	Srednja mjesečna temperature zraka (°C)			
	2020.	2021.	2022.	2023.
Siječanj	8,5	7,0	7,1	8,8
Veljača	10,4	9,5	8,8	7,8
Ožujak	10,4	9,7	9,4	11,3
Travanj	14,9	11,8	12,8	12,9
Svibanj	19,2	16,8	20,1	18,8
Lipanj	21,8	24,7	25,4	23,7
Srpanj	25,0	26,1	27,3	26,5
Kolovoz	25,9	25,0	26,3	25,6
Rujan	21,6	21,4	20,3	22,9
Listopad	15,3	14,9	18,4	19,1
Studeni	11,8	12,3	12,8	12,8
Prosinac	9,7	8,7	10,4	10,6
Prosjeck	16,2	15,7	16,6	16,7

*podebljane vrijednosti prikazuju vrijeme vegetacije

*plave vrijednosti prikazuju najnižu prosječnu temperaturu u godini

*crvene vrijednosti prikazuju najvišu prosječnu temperaturu u godini

Tablica 6 Minimalna temperatura zraka na području Višnjana u 2020., 2021., 2022. i 2023. godini (izvor: Državni hidrometeorološki zavod)

Mjesec	Minimalna temperature zraka (°C)			
	2020.	2021.	2022.	2023.
Siječanj	-4,6	-4,6	-4,5	-4,6
Veljača	-4,8	-5,0	-2,7	-5,6
Ožujak	-2,9	-2,9	-4,4	-2,1
Travanj	-2,1	-3,5	0,0	-1,4
Svibanj	5,5	4,8	7,0	8,0
Lipanj	11,3	9,5	14,6	11,0
Srpanj	12,5	15,5	14,8	15,0
Kolovoz	15,0	11,7	14,4	14,1
Rujan	7,8	9,0	8,0	11,4
Listopad	2,9	2,8	8,0	5,5
Studeni	0,0	-3,5	2,5	-3,2
Prosinac	-0,7	-1,4	-2,4	-2,4
Prosjeak	3,3	2,7	4,6	3,8

*podebljane vrijednosti prikazuju vrijeme vegetacije

*plave vrijednosti prikazuju najnižu minimalnu temperaturu zraka u godini

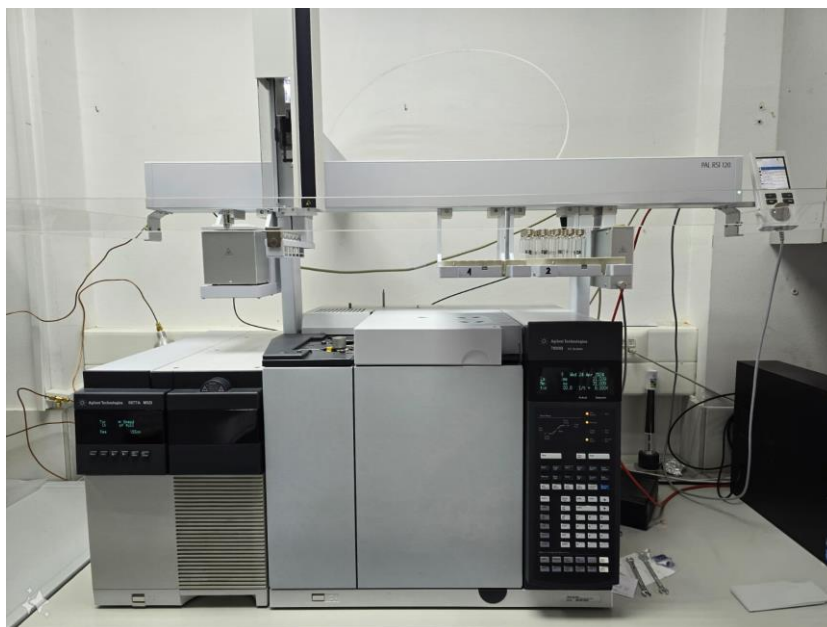
*crvene vrijednosti prikazuju najvišu minimalnu temperaturu zraka u godini

3.3. METODE

3.3.1. Određivanje aromatskog profila

Tvari arome u bijelom vinu određene su plinskim kromatografom Agilent 7890B s masenim detektorom Agilent 5977A (Agilent Technologies, Santa Clara, SAD). Uzorci su se uzimali mikroekstrakcijom na čvrstoj fazi (SPME) pomoću igle unutar koje se na polimernu stacionarnu fazu adsorbiraju aromatski sastojci. Unutar igle nalazi se punilo od polidimetilsiloksana-divinilbenzena koje djeluje kao polimerna stacionarna faza (Ivić, 2022).

Analiza je započela injektiranjem 5 mL uzorka u staklenu vijalu od 10 mL (bijelog vina), zajedno s 1 g NaCl radi poboljšanja ekstrakcije spojeva arome. U svrhu određivanja koncentracija spojeva arome u vijalu je dodano 10 μ L internog standarda mirtenola. Vijala se miješaju pomoću magnetne miješalice 5 minuta u vodenoj kupelji zagrijanoj na 40 °C kako bi se omogućilo oslobađanje hlapljivih spojeva iz vina u nadprostor vijale, nakon toga je u nadprostor umetnuta SPME igla s punilom. Adsorpcija aromatskih spojeva na punilo trajala je 45 minuta na 40 °C, nakon čega je igla stavljena u injektor plinskog kromatografa. U injektoru plinskog kromatografa dolazi do toplinske desorpcije spojeva arome u kolonu (plinskog kromatografa). Kolona se polako zagrijava kako bi se aromatski spojevi razdvojili prema svojoj hlapljivosti, pri čemu najprije u maseni detektor dopijevaju lakše hlapljivi spojevi.



Slika 10 Plinski kromatograf Agilent 7890B s masenim detektorom Agilent 5977A

Uvjeti rada plinskog kromatografa:

Parametri ekstrakcije:

- Temperatura ekstrakcije: 40 °C,
- Vrijeme ekstrakcije: 45 minuta,
- SPME punilo: 65 µm PDMS/DVB (Supelco).

GC-MS analitički uvjeti:

- kolona: HP-5MS (30m x 0,25 mm x 0,25 µm),
- početna temperatura: 40 °C (10 minuta),
- temperaturni gradijent 1: 3 °C/min do 120 °C,
- temperaturni gradijent 2: 10 °C/min do 250 °C,
- završna temperatura: 250 °C,
- temperatura injektora: 250 °C ,
- vrijeme desorpcije: 7 minuta,
- temperatura detektora: 250 °C,
- plin nosač: helij 5,0 (čistoća 99,9%),
- energija ionizacije: 70 eV,
- maseni interval (m/z): 40 – 400.

3.3.2. Određivanje ukupnih polifenola

U vinima Malvazija Istarska, koncentracija ukupnih polifenola određena je po Folin-Ciocalteu metodi. Folin-Ciocalteu metoda zasniva se na reakciji fenola s Folin-Ciocalteu reagensom pri čemu dolazi do promjene boje otopine koja je proporcionalna količini polifenola u uzorku vina. Mjeri se intenzitet promjene boje na valnoj duljini od 765 nm (Ivić, 2022).

Analiza je započela tako što je u epruvetu redom otpipetirano 0,2 mL analiziranog vina, 1,8 mL destilirane vode, 10 mL Folin-Ciocalteu reagensa i 8 mL 7,5%-tne otopine Na₂CO₃. Smjesa se promućka i ostavi stajati u mračnom prostoru 2 – 20 sati pri sobnoj temperaturi. Nakon toga, izmjerena je apsorbancija koristeći spektrofotometar Cary 60 UV-Vis (Agilent Technologies, Santa Clara, SAD) na valnoj duljini od 765 nm. Napravljena je i slijepa proba korištenjem

destilirane vode umjesto stvarnog uzorka. Rezultati su prikazani koristeći kalibracijsku krivulju galne kiseline i izraženi su kao koncentracija galne kiseline u g/L uzorka.

3.3.3. Određivanje ukupnih flavonoida

Ukupni flavonoidi u bijelim vinima Malvazije Istarske određeni su pomoću spektrofotometrije s otopinom AlCl_3 . U epruvetu se prvo dodaje 0,5 mL uzorka (vina), zatim 4 mL destilirane vode i 0,3 mL 5%-tne otopine NaNO_2 . Nakon 5 minuta, u epruvetu je dodano 1,5 mL 2%-tnog AlCl_3 . Kroz još 5 minuta dodano je 2 mL 1 M otopine NaOH i 1,7 mL destilirane vode. Kada je smjesa uzoraka bila pripremljena odmah je izmjerena apsorbancija na 510 nm. Rezultati su prikazani pomoću kalibracijske krivulje za katehin te su izraženi u g katehina/L uzorka (kao srednja vrijednost tri mjerenja).

3.3.4. Određivanje antioksidacijske aktivnosti

Antioksidacijska aktivnost određena je spektrofotometrijski prema metodama DPPH, ABTS, CUPRAC i FRAP kako bi dobili što preciznije rezultate antioksidacijske aktivnosti. Nema jedinstvene metode za određivanje antioksidacijske aktivnosti jer postoji puno različitih spojeva s različitim strukturama koji mogu djelovati kao antioksidansi (Ivić, 2022).

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Ova metoda koristi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) reagens (ljubičaste boje) koji se u prisutnosti antioksidansa reducira primanjem elektrona od antioksidanasa. To dovodi do promjene boje iz ljubičaste u žutu (Ivić, 2022).

Za provedbu metode prvo je bilo potrebno dodati 0,2 mL uzorka (bijelog vina) i 3,0 mL DPPH otopine u epruvetu. Napravljena su po tri mjerenja za svaki pojedinačni uzorak. Nakon 15 minuta stajanja mjerila se apsorbancija na spektrofotometru pri valnoj duljini od 517 nm. Za slijepu probu korišteno je 0,2 mL vode i 3,0 mL DPPH. Rezultati su prikazani koristeći kalibracijsku krivulju Troloxa u $\mu\text{mol TE}/100 \text{ mL}$.

Metoda CUPRAC

Metoda CUPRAC zasniva se na redoks reakciji između CUPRAC reagensa i antioksidanasa prisutnih u uzorku, što rezultira pojavom žutog obojenja. Ova metoda se koristi za određivanje antioksidacijske aktivnosti flavonoida, fenolnih kiselina i tiola (Gupta, 2015).

Za provedbu CUPRAC metode korištena su tri reagensa koja se redom dodaju u epruvetu: 1 mL otopine $\text{CuCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (10 mM), 1 mL 7,5 mM otopine neokuproina i 1 mL otopine NH_4Ac (pri pH 7,0). Nakon toga, u epruvetu je otpipetirano 0,2 mL uzorka vina i na kraju 0,9 mL destilirane vode. Potrebna su tri ponavljanja za svaki uzorak. Nakon 30 minuta mjerio se intenzitet žute boje na spektrofotometru pri apsorbciji od 450 nm. Rezultati su prikazani pomoću kalibracijske krivulje Troloxa ($\mu\text{mol TE}/100 \text{ mL}$) kao prosječna vrijednost tri mjerenja.

Metoda FRAP

Metoda FRAP temelji se na sposobnosti antioksidanasa iz uzroka da reduciraju kompleks trovalentnog željeza s piridin triazinom u dvovalentno željezo, na pH vrijednosti od 3,6. Prilikom ove reakcije dolazi do pojave plave boje (Ivić, 2022).

Za provedbu ove metode u epruvetu je otpipetirano 0,2 mL uzorka vina i 3,0 mL FRAP otopine (25 mL acetatnog pufera, 2,5 mL TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazin) i 2,5 mL $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$) koja je prethodno zagrijana na 37 °C. Za slijepu probu umjesto uzorka koristila se destilirana voda. Nakon što je pripremljeni uzorak odstajao 15 minuta u mraku, izmjerena mu je apsorbcija pri 593 nm. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost tri mjerenja, preko kalibracijske krivulje Troloxa ($\mu\text{mol TE}/100 \text{ mL}$).

Metoda ABTS

Prije provedbe metode reagens ABTS se miješa s kalijevim persulfatom i nastaje zeleno obojeni oksidirani ABTS radikal. ABTS radikal u reakciji s antioksidansom gubi zelenu boju i nastaje bezbojan oblik radikala (Gupta, 2015). Priprema ABTS reagensa treba se obaviti dan ranije prije njegove upotrebe (7,4 mmol/L otopine ABTS pomiješano je s 2,45 mmol/L otopinom kalijevog persulfata). Metoda je započela pipetiranjem 0,2 mL uzorka i 3,2 mL ABTS u pripremljenu epruvetu. Pripremljeni uzorak ostavi se 95 minuta u mraku i nakon toga se mjeri apsorbcija na 734 nm. Za slijepu probu korišteno je 0,2 mL destilirane vode i 3,2 mL ABTS.

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost tri mjerenja pomoću kalibracijske krivulje Troloxa u $\mu\text{mol TE}/100 \text{ mL}$.

3.3.5. Određivanje kemijskog sastava vina

Određivanje alkohola i ukupnog ekstrakta

Količina ekstrakta i alkohola u vinu određuje se pomoću piknometra. Prije početka rada potrebno je odrediti točnu masu piknometra.

Sastavi se aparatura za destilaciju vina i u tikvicu se ulije 100 mL vina (termostiranog na 20 °C). Destilacija se vrši zagrijavanjem špiritnom lampom preko azbestne mrežice uz povratno hladilo. Važno je osigurati da se destilacijom prenese 2/3 od 100 mL vina (oko 66,6 mL destilata) u prihvatnu tikvicu. Potrebno je isprati hladilo i nastavak za destilaciju destiliranom vodom i dodati sakupljenom destilatu. Pomoću specijalnog lijevka, destilat se prelijeva u odmjernu tikvicu od 100 mL, termostatira na 20 °C oko pola sata i nadopuni do oznake.

Zaostali ekstrakt u tikvici za destilaciju se prelije u odmjernu tikvicu od 100 mL, termostatira na 20 °C (u vodenoj kupelji) i nadopuni do oznake. Piknometar 1 se ispere s ekstraktom i nadopuni otopinom ekstrakta, dok se piknometar 2 nadopuni otopinom destilata. Oba piknometra se termostatiraju u vodenoj kupelji na 20 °C, dobro obrišu krpom, ostave da se termostatiraju 10 minuta na sobnoj temperaturi, a zatim se važu.

$$\text{Relativna gustoća destilata} = \frac{Q_1 - Q}{Q_2 - Q} \times K,$$

$$K = 0,99823$$

Q = masa praznog piknometra

Q1 = masa piknometra s destilatom

Q2 = masa piknometra s destiliranom vodom

Količina alkohola računa se preko destilata, a udio alkohola (vol.%) očita se iz Tablice za preračunavanje g alkohola u litri na volumne postotke.

Suhi ostatak ili ekstrakt označava sve tvari koje zaostaju u vinu nakon što je zagrijano na 100 °C, odnosno destilacijom ne prelaze u destilat. Suhi ostatak najvećim dijelom se sastoji od ugljikohidrata, boja viših alkohola, mineralnih tvari, nehlapljivih kiselina i dr. Ekstrakt može

biti koristan kao jedan od faktora za otkrivanje patvorenih vina jer se njegov sadržaj značajno mijenja ako se u vino doda voda ili se vrši dotjerivanje vina vodenom otopinom šećera.

Iz izračunate gustoće ekstrakta (jednaka formula kao za alkohole) iz Tablice za preračunavanje očita se količina ekstrakta u g/L.

Određivanje slobodnog i ukupnog SO₂

U vinu SO₂ može biti prisutan u slobodnom i vezanom obliku. SO₂ se veže s aldehidima, polifenolnim tvarima i šećerima. Određuju se slobodni i ukupni SO₂, a količina vezanog se dobije njihovom razlikom. Određivanje se vrši jodnom otopinom, pri čemu SO₂ oksidira, a jod se reducira, pa se na osnovu utroška jodne otopine izračuna količina SO₂.

Određivanje slobodnog SO₂

Prvo se 50 mL vina stavi u Erlenmeyer-ovu tikvicu s brušenim grlom, zatim se doda 10 mL H₂SO₄ i 3 mL otopine škroba (w=0,01). Sumporna kiselina se koristi jer je oksidacija intenzivnija u kiseloj sredini, dok škrob služi kao indikator. Titracija se provodi otopinom I₂ c= 0,02 dok se ne pojavi plava boja koja mora biti intenzivna 30 sekundi. Utrošak otopine joda u mL pomnoži se s faktorom 12,8, čime se dobije količina slobodnog SO₂ u mg/L vina. Postupak se radi u dvije paralele.

Određivanje ukupnog SO₂

Prvo se 50 mL vina usipa u Erlenmeyer-ovu tikvicu s brušenim grlom, nakon toga doda se 25 mL otopine NaOH c = 1 mol/L i ostavi da odstoji 10 – 15 minuta. NaOH stvara alkalnu sredinu koja omogućava oslobađanje vezanog SO₂. Nakon toga, dodaje se 15 mL H₂SO₄ (1:4) i 3 mL otopine škroba w= 0,01. Tikvica se zatim titrira otopinom joda dok se ne pojavi plava boja. Utrošak otopine joda (u mL) množi se faktorom 12,8, te se dobije količina ukupnog SO₂ u mg/L vina. Postupak se radi u dvije paralele.

Određivanje prirodnih šećera u vinu

U odmjernu tikvicu od 200 mL stavi se 25 g vina. U sadržaj tikvice dodaje se 1 – 2 g kalcijevog karbonata (CaCO₃) kako bi se postigla blago kisela reakcija, zatim se promiješa. Doda se 5 mL reagensa I (kalij-ferocijanid, vodena otopina) i 5 mL reagensa II (Cinkov acetat, vodena otopina), ponovo se promiješa i dopuni se destiliranom vodom do oznake. Ponovo se promiješa

kako bi se sadržaj u potpunosti homogenizirao. Kada se gornji sloj počne izdvajati, smjesa se filtrira kroz suh, nabrani filter papir u suhu tikvicu. Filtrat koji se dobije naziva se F1.

U tikvicu od 300 mL dodaje se 25 mL Luffove otopine, a zatim se dodaje otopina šećera koja bi trebala sadržavati manje od 100 mg šećera, uz toliko destilirane vode da ukupni volumen iznosi 50 mL. Rade se dvije paralele i slijepa proba s 25 mL Luffove otopine i 25 mL destilirane vode. Dodaju se staklene kuglice te se sadržaj zagrijava (tako da proključa za 2 minute) i kada proključa, umjereno kuhanje se nastavi 10 minuta. Zagrijavanje se odvija pomoću azbestne mrežice uz povratno hladilo. Nakon potrebnog zagrijavanja, sadržaj se brzo hladi pod mlazom hladne vode, a nakon dvije minute doda se 3 mL otopine kalijevog jodida. Smjesa se brzo promiješa, zatim se polako dodaje 20 mL 25% H₂SO₄ propipetom i 10 mL otopine kalijevog tiocijanata (KCNS). Tikvica se mućka dok ne prestane šum. Istaloženi jod se titrira otopinom natrijevog tiosulfata uz dodatak škroba kao indikatora sve dok se ne izgubi plava boja.

Formula za izračunavanje prirodnih šećera:

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

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

Određivanje ukupnih kiselina u vinu

Za određivanje ukupnih kiselina u vinu koristi se metoda neutralizacije. Ova metoda se temelji na neutralizaciji svih kiselina prisutnih u vinu. Budući da je vinska kiselina najznačajnija, količina ukupnih kiselina se izražava u vinskoj kiselini. Za utvrđivanje ukupnih kiselina koriste se indikatori ili potenciometrijska titracija. U većini slučajeva, količina ukupnih kiselina u vinu varira između 4 – 7 g/L, izraženih kao vinska kiselina. Za vina koja sadrže manje od 4 g/L ukupnih kiselina postoji sumnja da nisu prirodnog porijekla.

Postupak za određivanje ukupnih kiselina:

Bireta se napuni otopinom 0,25 N natrijevog hidroksida (NaOH). Nakon toga, 25 mL vina uzima se pipetom i stavi u čašu od 100 mL. Vino se prethodno zagrije do točke vrenja zbog uklanjanja CO₂, nakon čega se djelomično hladi i pristupi se titraciji uz upotrebu fenolftaleina. Natrijev hidroksid dodaje se postepeno sve dok ne dođe do promjene boje, što ukazuje na završetak neutralizacije. Količina ukupnih kiselina se dobije množenjem utroška 0,25 N NaOH (u mL) s faktorom 0,75 ili se očita iz odgovarajuće tablice. Dobivena vrijednost označava

količinu ukupnih kiselina u vinu (u g/L), izraženih u vinskoj kiselini. Postupak se radi u dvije paralele.

Određivanje količine pepela u vinu

Sadržaj pepela u vinu odnosi se na sve tvari koji ostaju nakon žarenja taloga preostalog od isparavanja vina. Žarenje se vrši na temperaturi između 500 °C i 550 °C kako bi se potpuno oksidirale organske tvari (NN 106/2004).

Određivanje količine pepela vrši se u porculanskoj zdjelici koja mora biti potpuno čista. Prije svake analize potrebno je čišćenje i pranje zdjelice, prvo s deterdžentom, a zatim kromsumpornom kiselinom. Nakon pranja porculanska zdjelica stavlja se na sušenje u sušionik (1 sat, 120 °C), potom ide na hlađenje u eksikator i vaganje.

Postupak:

U izvaganu porculansku zdjelicu za žarenje pipetom se dodaje 25 mL vina, s tim da je prethodno potrebno homogenizirati vino. Vino isparava na vodenoj kupelji pri temperaturi od 100 °C sve dok se ne dobije gusti, viskozni i sasušeni talog. Nakon toga se zdjelica s talogom stavlja u sušionik (oko 1 sat) kako bi isparila zaostala voda, a potom se prebacuje u mufolnu peć na spaljivanje. Spaljivanje započinje s temperaturom od 200 °C i svakih sat vremena se povećava za 100 °C, dok se ne dostigne temperatura od 500 °C. Kada dostigne 500 °C masa se spaljuje jedan sat. Pod utjecajem visoke temperature masa prvo pocrni, zatim postupno sagorijeva i prelazi u pepeo. Nakon sat vremena spaljivanja provjerava se da li je pepeo pobijelio jer je tada postupak spaljivanja pepela gotov. Porculanska zdjelica za žarenje s pepelom se vadi iz mufolne peći, stavi se na azbestnu mrežicu i hladi 15 minuta, nakon čega se stavlja u eksikator na hlađenje (na sat vremena) i na kraju se važe. Analiza se radi u dvije paralele.

Formula za izračunavanje količine pepela:

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

$$m \text{ pepela (g/25 mL vina)} \times 40 = m \text{ pepela (g/L)}$$

gdje je:

m_1 – masa prazne porculanske zdjelice,

m_2 – masa porculanske zdjelice s pepelom.

3.3.6. Senzorsko ocjenjivanje vina

Senzorsko ocjenjivanje uzoraka vina Malvazija Istarska proveo je panel treniranih senzorskih ocjenjivača koji se sastojao od 3 žene i 2 muškarca, starosti od 30 do 50 godina, s petogodišnjim iskustvom senzorskog ocjenjivanja vina. Napravljena je deskriptivna analiza, gdje su se pronađene aromatske note vrjednovale bodovima od 0 do 10, te test 100 bodova prema OIV (International Organisation of Vine and Wine).

4. REZULTATI

Tablica 7 Kemijski sastav analiziranih vina Malvazije Istarske

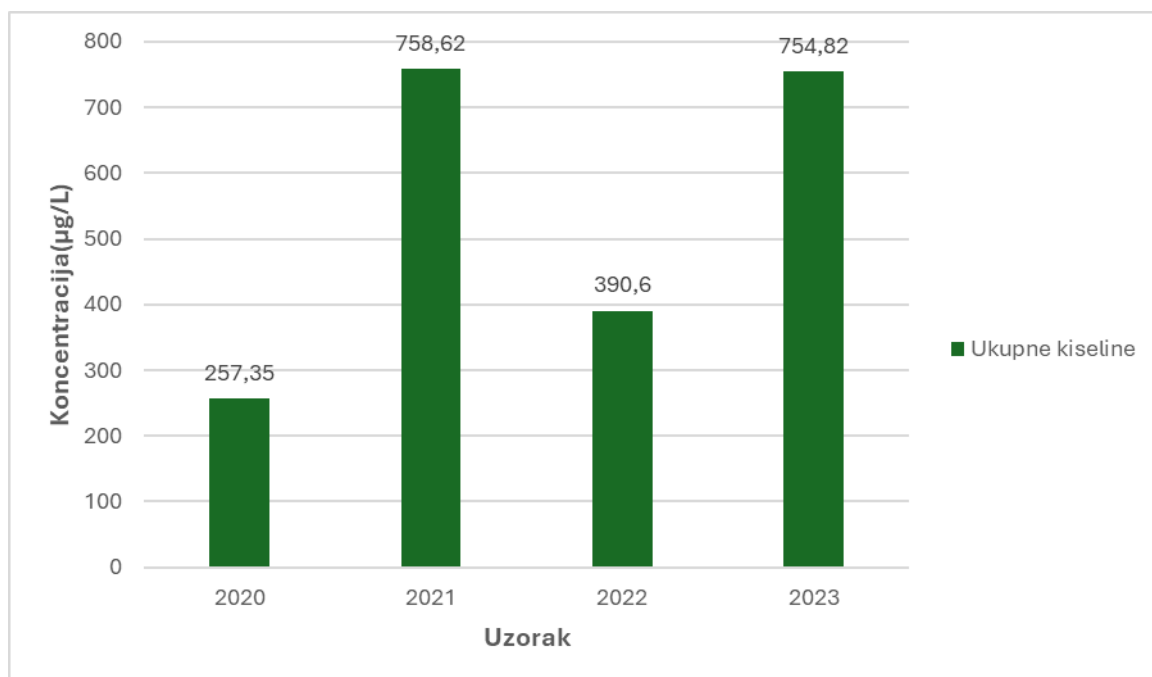
Kemijski sastav	2020.	2021.	2022.	2023.
Alkohol (vol.%)	12,34 ± 0,01	11,23 ± 0,01	12,51 ± 0,01	10,20 ± 0,01
Ekstrakt (g/L)	15,90 ± 0,01	13,30 ± 0,01	14,00 ± 0,01	19,40 ± 0,01
Šećeri (g/L)	0,96 ± 0,02	0,96 ± 0,02	0,48 ± 0,06	0,80 ± 0,08
Slobodni SO ₂ (mg/L)	5,10 ± 0,10	5,80 ± 0,64	4,80 ± 0,32	9,60 ± 0,64
Ukupni SO ₂ (mg/L)	182,10 ± 8,64	117,40 ± 0,96	179,20 ± 2,56	161,60 ± 2,24
Kiseline (g/L)	4,71 ± 0,02	5,87 ± 0,02	4,71 ± 0,13	5,48 ± 0,04
Pepeo (g/L)	2,04 ± 0,02	2,12 ± 0,06	1,93 ± 0,01	2,32 ± 0,01

Tablica 8 Tvari boje u analiziranim vinima Malvazije Istarske

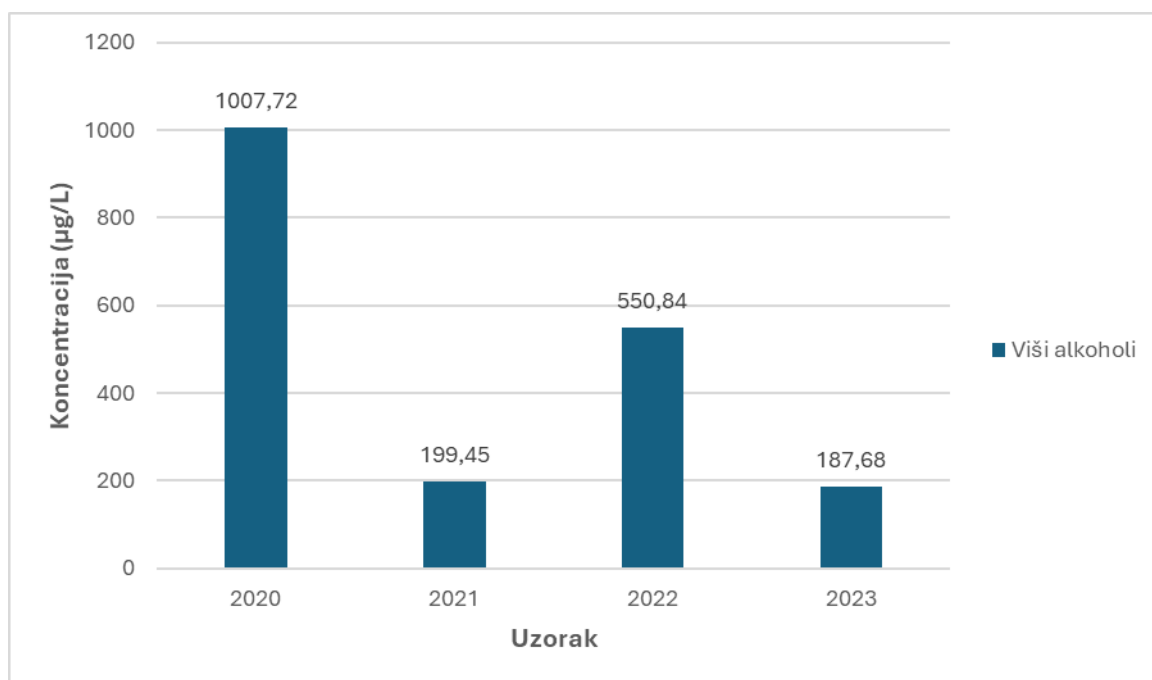
	2020.	2021.	2022.	2023.
Polifenoli (mg/L)	191,28 ± 0,91	182,88 ± 9,31	200,99 ± 1,41	212,22 ± 4,51
Flavonoidi (mg/L)	28,90 ± 0,30	22,13 ± 0,97	21,94 ± 3,05	22,76 ± 2,03
DPPH (μmol/100 mL)	1,56 ± 0,19	1,89 ± 0,12	1,46 ± 0,43	1,61 ± 0,34
ABTS (μmol/100 mL)	4,48 ± 0,64	3,53 ± 0,75	3,18 ± 0,06	3,26 ± 0,18
FRAP (μmol/100 mL)	0,16 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,20 ± 0,01
CUPRAC (μmol/100 mL)	17,06 ± 1,46	14,47 ± 1,51	18,18 ± 0,43	18,13 ± 1,83

Tablica 9 Retencijska vremena i glavna mirisna nota aromatskih spojeva identificiranih u analiziranim uzorcima vina Malvazija Istarska

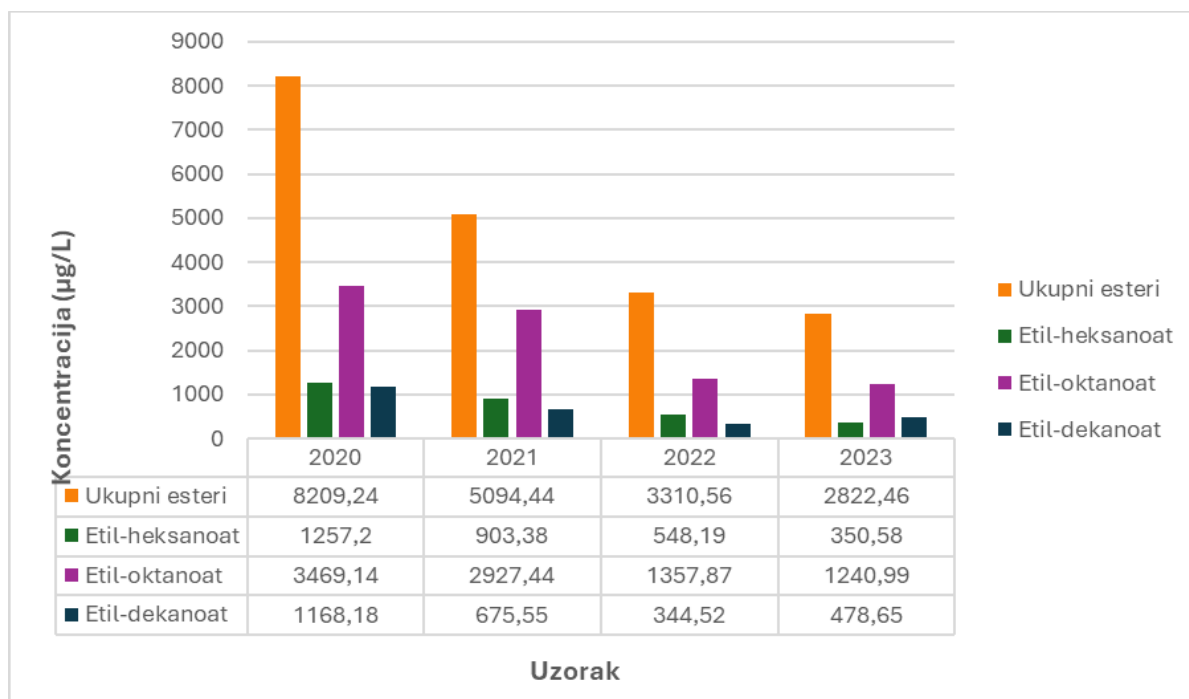
Glavna mirisna nota	Spoj	RV (retencijsko vrijeme)
	Kiseline	
mast	Heksanska kiselina	19,7806
mast	Oktanska kiselina	31,2128
mast	Dekanska kiselina	38,6824
mast	Laurinska kiselina	42,4963
mast	Miristinska kiselina	45,1268
mast	Palmitinska kiselina	47,9290
	Alkoholi	
zelenilo	Heksan-1-ol	11,2255
cvijeće	2-etilheksan-1-ol	21,8182
voće	Benzilni alkohol	22,0414
zelenilo	Oktan-1-ol	24,2672
cvijeće	2-fenetiletanol	26,3650
mast	Dekan-1-ol	34,4555
mast	Dodekanol	40,9289
	Aldehidi i ketoni	
voće/banana	Heptan-2-on	12,5707
zelenilo	Nonan-2-on	25,3450
ruža/naranča	Nonanal	25,9742
slab miris	4-propylbenzaldehyd	34,2545
	Terpeni	
citrus	Linalool	25,7702
citrus	β -citronelol	32,3832
	Esteri	
voće/banana	Izoamil-acetat	11,6195
voće	Etil-heksanoat	20,0145
zelenilo	Heksil-acetat	20,8896
voće/jabuka	2-etil-heksanoat	22,6950
zelenilo	Metil-oktanoat	27,1484
voće	Dietil-sukcinat	30,1380
voće	Etil-oktanoat	30,9065
cvijeće	Fenetil-acetat	33,6476
ruža/voće	Etil-nonanoat	35,5763
voće	Etil-9-decenoat	38,9591
voće	Etil-dekanoat	39,1810
nema info	Etil-izopentil sukcinat	39,9934
voće	Izopentil-oktanoat	40,3526
mast	Etil-laurat	42,9452
mast	Etil-miristat	45,5077
slab miris	Diizobutil-ftalat	46,4062
mast	Etil-palmitat	47,6310
mast	Etil-linoleat	49,2436
mast	Etil-oleat	49,2933
mast	Etil-stearat	49,5118



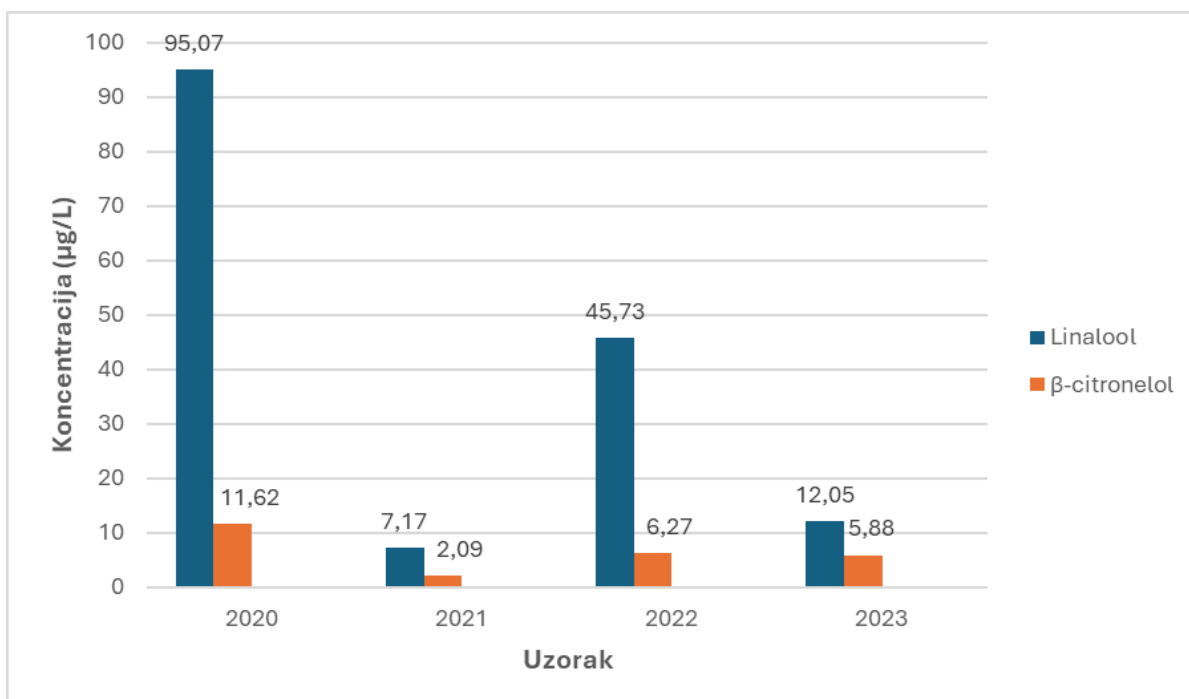
Slika 11 Koncentracija ukupnih kiselina u analiziranim uzorcima vina Malvazija Istarska



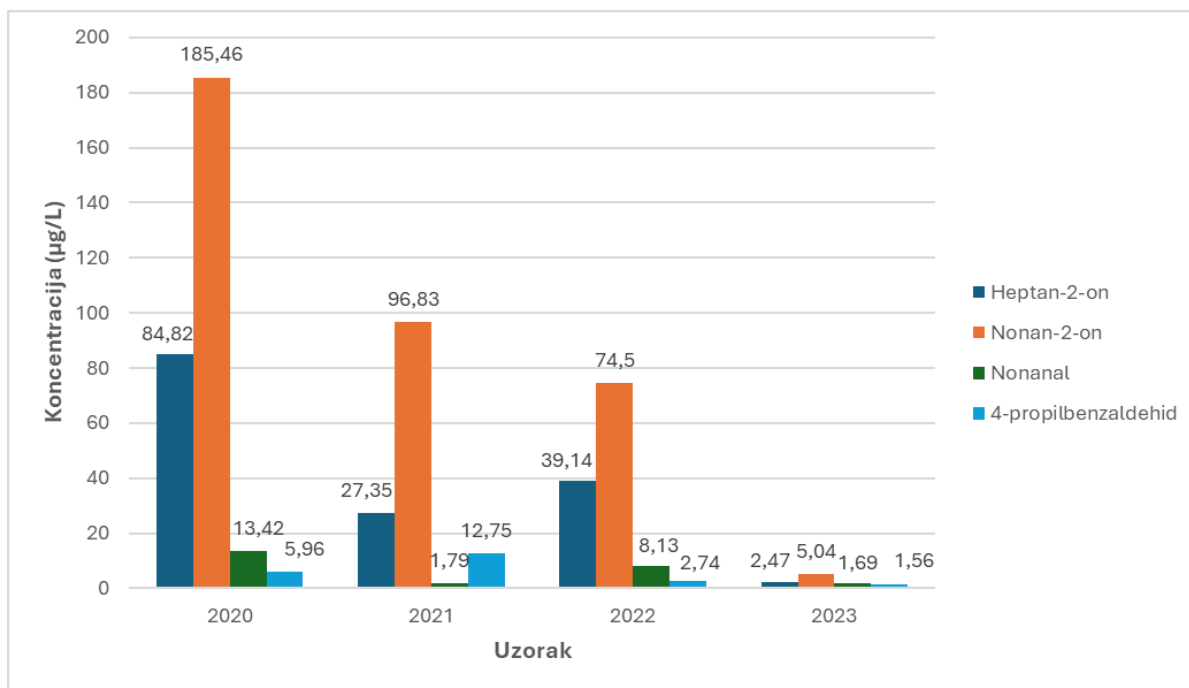
Slika 12 Koncentracija ukupnih viših alkohola u analiziranim uzorcima vina Malvazija Istarska



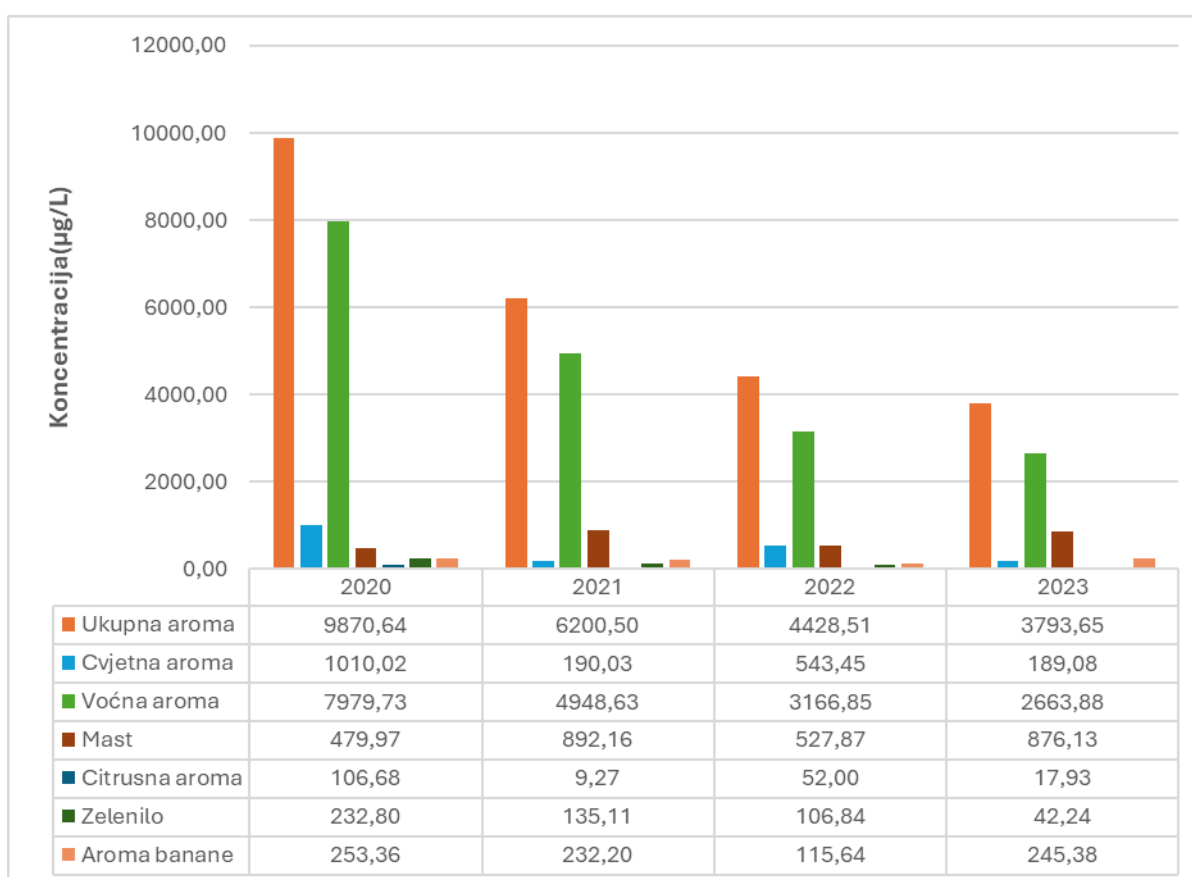
Slika 13 Koncentracija ukupnih i pojedinačnih estera u analiziranim vinima Malvazija Istarska



Slika 14 Koncentracija terpena u analiziranim uzorcima vina Malvazija Istarska



Slika 15 Koncentracija aldehida i ketona u analiziranim uzorcima vina Malvazija Istarska



Slika 16 Koncentracija ukupne arome i pojedinačne arome u analiziranim uzorcima vina Malvazija Istarska

Tablica 10 Senzorsko ocjenjivanje vina Malvazija Istarska testom 100 bodova

Parametar	2020	2021	2022	2023
Izgled	15.0	15.0	15.0	15.0
Miris	27.0	26.2	26.3	25.2
Okus	37.7	36.4	36.9	36.4
Harmoničnost	9.7	9.6	9.7	9.0
Ukupno	89.4	87.2	87.9	85.6

Tablica 11 Deskriptivna analiza vina Malvazija Istarska

Aromatska nota	2020	2021	2022	2023
Jabuka	4.2	7.0	3.8	6.6
Kruška		4.7		3.5
Marelica	2.3	5.8	5.1	4.2
Banana	8.4	7.7	4.3	9.3
Citrus	8.8	3.7	6.1	5.0
Zelena trava	9.6	3.3	6.5	2.3
Livadsko cvijeće	8.6	3.7	5.6	3.2
Biljna nota	6.9	1.3	4.3	2.4
Zelena paprika	2.2	1.6	2.7	2.0
Med	2.8			3.5
Ruža	4.7	3.0	2.7	4.1

5. RASPRAVA

Rezultati istraživanja utjecaja četiri uzastopne godine berbe na tvari boje i arome Malvazije Istarske prikazani su u **Tablicama 7-16** te na **Slikama 11-16**.

Tablica 7 prikazuje kemijski sastav (udio šećera, alkohola, kiselina, suhog ekstrakta, pepela, slobodnog i ukupnog sumpora) analiziranih vina Malvazije Istarske iz 2020., 2021., 2022. i 2023. godine.

Prema kategorizaciji šećera u vinu, koja određuje da suha vina sadrže do 4 g/L neprevrelog šećera, vidljivo je prema **Tablici 7** da uzorci iz sve četiri godine spadaju u ovu kategoriju. Godine 2020. i 2021. imale su identičan sadržaj šećera (0,96 g/L) dok su godine 2022. i 2023. imale značajno niže vrijednosti (0,48 g/L i 0,80 g/L).

Dopušteni udio alkohola u vinu kreće se od 8,5 do 15 vol.%. U ispitivanim se vinima udio alkohola prilično razlikuje: u 2022. godini vino je imalo najveći udio alkohola (12,51%), nešto manje u 2022., zatim 2021., dok je 2023. godina imala najmanji udio alkohola (10,20%).

Ukupni suhi ekstrakt u vinu obuhvaća sve organske i mineralne tvari koje ne isparavaju pod određenim fizikalnim uvjetima, a to su: ugljikohidrati, tvari boje, nehlapljive kiseline, polifenoli, viši alkoholi. Prema **Tablici 7** vidljiva je razlika u ukupnom suhom ekstraktu u sva četiri ispitivana vina. Najmanji sadržaj ekstrakta je u vinu iz 2021. godine (13,30 g/L), te najveći u 2023. godini (19,40 g/L).

Najveći udio pepela (2,32 g/L) imalo je vino iz 2023. godine, a najmanji udio (1,93 g/L) bio je u 2022. godini berbe (**Tablica 7**).

Kako bi se spriječilo kvarenje i oksidacija vina, neophodno je sumporenje. U vinu, sumpor se nalazi u obliku sumpornog dioksida, koji može biti vezan ili slobodan. Udio slobodnog sumpornog dioksida u ispitivanim vinima kretao se od 4,80 do 9,60 g/L, a ukupnog (vezani i slobodni) SO₂ od 117,40 do 182,10 g/L.

Polifenoli djeluju zaštitno na organizam uklanjajući slobodne radikale, čime smanjuju njihovo štetno djelovanje. Sadržaj polifenola u vinu ima presudan utjecaj na njegova organoleptička svojstva, a time i na njegovu kvalitetu. Na udio polifenolnih spojeva u grožđu utječu sorta, klimatski čimbenici, područje uzgoja, prerada vina i skladištenje vina (Ivić, 2022.). Flavonoidi su najvažnija skupina polifenola koja sudjeluje u formiranju strukture i boje vina, a jako su ovisni o izloženosti suncu i temperaturama (Jagatić Korenika i sur., 2015).

U **Tablici 8** prikazan je sadržaj polifenola, flavonoida te antioksidacijska aktivnost ispitivanih vina iz vinogorja zapadne Istre. Najveća koncentracija polifenola, 212,22 mg/L, zamijećena je

kod uzorka vina iz 2023. godine, a najmanja kod vina iz 2021. godine (182,88 mg/L). Godina 2023. imala je najviše oborina, najveću maksimalnu temperaturu zraka i najveću srednju godišnju temperature što je moglo inducirati stresne uvjete za vinovu lozu te je povezano s povećanom sintezom polifenola. Godina 2021. imala je najniže temperature u usporedbi s ostalim godinama, najmanji broj sunčanih sati i najmanje oborina što je rezultiralo najmanjom koncentracijom polifenola. Iz rezultata u **Tablici 8** vidljivo je da je najveći sadržaj flavonoida imalo vino iz 2020. godine (28,90 mg/L), dok su ostala vina imala u prosjeku 22,28 mg/L, bez statistički značajne razlike među uzorcima. Budući da je 2020. bila godina s najvećim brojem sunčanih sati, visoka izloženost suncu povećala je sintezu flavonoida. U **Tablici 8** prikazani su rezultati mjerenja antioksidacijske aktivnosti pomoću četiri metode: DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC. Sva četiri uzorka vina imala su vrlo slične vrijednosti antioksidacijske aktivnosti određene s prethodno navedenim metodama. Prema DPPH, ABTS i FRAP metodi uzorak vina iz 2022. godine pokazalo je najmanju antioksidacijsku aktivnost. Prema CUPRAC metodi najmanju antioksidacijsku aktivnost imalo je vino iz 2021. godine. Prema DPPH metodi antioksidacijska aktivnost je najveća u 2021. godini, međutim ABTS, FRAP i DPPH metoda pokazuju različite rezultate za najveću antioksidacijsku aktivnost. Kod ABTS metode najveća antioksidacijska aktivnost zabilježena je u 2020. godini, u FRAP metodi je u 2023. godina, dok je u CUPRAC metodi najveća u vinu iz 2022. godine.

Za pravilan tijek svih životnih procesa vinove loze nužna je dovoljna vlažnost (oborine). Oborine su kiša, magla, snijeg, rosa i led. Ukupna količina vode nije u tolikoj mjeri važna, kao njen raspored kroz vegetacijski period koji je ključan za optimalan rast i prinos. Dovoljna vlažnost je vrlo važna u fazi intenzivnog rasta mladica i bobica, dok je prekomjerna vlažnost štetna za lozu u vrijeme cvatnje i oplodnje. Optimalna količina oborina na godinu trebala bi iznositi od 600 – 800 mm, a optimum za zračnu vlagu u vinogradu iznosi 70 – 80% (Matošević, 2017).

Tablica 9 prikazuje raspored oborina po mjesecima na području Višnjana u 2020., 2021., 2022. i 2023. godini. Prema **Tablici 9** vidljivo je da je 2023. godina imala najviše oborina dok je 2021. godina imala najmanju količinu oborina. Dok su godine 2021. i 2022. bile suše, odnosno s puno manje oborina. Prva godina (2020.) pokazuje da je količina oborina u vrijeme cvatnje i oplodnje bila umjerena što odgovara zahtjevima loze za tu razvojnu fazu, ali u fazi dozrijevanja grožđa dolazi do nakupljanja velike količine padalina što može povećati rizik od gljivičnih bolesti te utjecati na kvalitetu grožđa. Ukupne godišnje oborine bile su iznad optimalnog raspona. Druga godina istraživanja (2021.) pokazuje visoku količinu oborina u period cvatnje i

oplodnje što može negativno utjecati na oplodnju, a može doći i do pojave gljivičnih bolesti. Ukupna količina oborina u 2021. godini iznosila je 737,3 mm, što je optimalno za vinovu lozu. U trećoj godini istraživanja (2022.) palo je ukupno 796,6 mm i količine oborina bile su optimalne za sve fenofaze vinove loze, osim u fazi dozrijevanja grožđa što može nepovoljno utjecati na kvalitetu grožđa. Četvrta godina istraživanja bila je godina s najviše oborina, 1,050,2 mm, što je iznad optimalnog raspona te mogu negativno utjecati na kvalitetu i zdravlje grožđa.

Sunčevo svjetlo nužno je za fotosintezu vinove loze. To je biljka koja zahtjeva puno Sunčeva svjetla u svim fenofazama, naročito u fazi formiranja rodničkih pupova i u fazi dozrijevanja. U fazi dozrijevanja veći broj sati sijanja Sunca potiče brže nakupljanje šećera, a za bolju obojenost bobice je jednako važno. Grožđe u vegetaciji zahtjeva najmanje 1500 sunčanih sati.

Tablica 10 prikazuje broj sunčanih sati na području Višnjana u 2020., 2021., 2022. i 2023. godini. Količina sunčanih sati kao što se može vidjeti u **Tablici 10** bila je najveća u 2020. godini s 2721,9 sati, a najmanja u 2021. godini. Količina sunčanih sati u sve četiri godine zadovoljila je zahtjeve vinove loze koje iznose minimalno 1500 sati.

Temperatura nekog područja primarna je za procjenu prikladnosti za uzgoj vinove loze. Prosječna godišnja temperatura predstavlja temeljni pokazatelj i trebala bi biti u rasponu od 9 do 21 °C. Na početku i kraju vegetacijskog ciklusa (od travnja do listopada) temperatura je glavni faktor regulacije, dok su za sredinu vegetacije ograničavajući čimbenik ekstremno visoke temperature. Ekstremno visoke temperature, više od 35 °C, mogu izazvati opekline na bobicama te nepovoljno djeluju na aromatski profil. Na temperaturama iznad 35 °C intenzitet fotosinteze se smanjuje i remeti se metabolizam fenolnih i hlapljivih spojeva pa je aromatski profil takvog grožđa često siromašan, a smanjen je i sadržaj antocijana.

Tablica 11 prikazuje maksimalnu temperaturu zraka po mjesecima za sve četiri ranije navedene godine. Prosječna maksimalna temperatura zraka bila je najveća u 2023. godini i iznosila je 27,6 °C. Dok je najveća zabilježena temperatura iznosila 39,5 °C u lipnju 2022. godine.

Glavne fenološke faze vinove loze su pupanje, cvatnja i početak faze sazrijevanja. Najveći utjecaj na ove faze ima klima (temperature, vlaga i svjetlost). Temperature u vrijeme dozrijevanja utječu na kvalitetu grožđa. Ako se dozrijevanje odvija pri visokim srednjim dnevnim temperaturama, grožđe će obično nakupiti visok sadržaj šećera, dok će se u isto vrijeme razgraditi veća količina organskih kiselina. Visoke temperature nepovoljno utječu i na aromatski profil vina zbog smanjenje sinteze ovih tvari i gubitka. Dok u uvjetima nižih

temperature grožđe će nakupiti manje šećera, ali će imati viši sadržaj kiselina uz intenzivniju aromu. Važno je spomenuti da će sorte ipak različito reagirati na okolinske uvjete (Maletić i sur., 2008).

U **Tablici 12** prikazane su srednje mjesečne temperature zraka za sve četiri godine na području Višnjana. Temperaturni uvjeti u 2023. godini pokazuju najveći prosjek nakupljenih temperatura od 16,7 °C . Kao što se može vidjeti iz **Tablice 12** u sve četiri godine, srednje mjesečne temperature su bile povoljne kroz sve fenofaze. Srednje godišnje temperature za vinovu lozu trebale bi biti u rasponu od 9 do 21 °C za optimalan rast i razvoj te kvalitetu grožđa, a prema **Tablici 12** vidljivo je da su temperature bile u odgovarajućem rasponu.

Tablica 13 prikazuje minimalne temperature zraka na području Višnjana za 2020., 2021., 2022. i 2023. godinu. Najmanja prosječna minimalna temperatura iznosila je 2,7 °C u 2021. godini, dok je najveća prosječna minimalna temperatura iznosila 4,6 °C.

Aromu vina čine spojevi različitih vrsta i koncentracija koji se formiraju tijekom zrenja grožđa, fermentacije i odležavanja vina. Aroma je ključan pokazatelj za procjenu kvalitete vina, koji utječe na preferencije potrošača.

U analiziranim vinima identificirano je 39 različitih aromatskih spojeva (**Tablica 14**), njihova glavna mirisna nota i retencijsko vrijeme. Ti spojevi su razvrstani u pet skupina: kiseline, alkoholi, karbonilni spojevi (aldehidi i ketoni), terpeni i esteri. Različite kombinacije aromatski tvari važne su za formiranje primarne arome mošta, a kasnije vina te se po istom ona razlikuju. Većina aromatskih tvari iz grožđa gubi se tijekom procesa prerade vina, stoga se glavnina arome formira tijekom fermentacije i odležavanja vina. Stoga je vrlo važno razumjeti kako svaka komponenta arome doprinosi kvaliteti grožđa, mošta i vina. Temeljito poznavanje ključnih aromatičnih sastojaka može unaprijediti tehnologiju prerade i kakvoću vina (Matošević, 2017).

Kiseline potječu iz grožđa, ali dijelom nastaju i alkoholnom fermentacijom. Identificirane kiseline u vinima su: heksanska, oktanska, dekanska, laurinska, miristinska i palmitinska kiselina (**Tablica 14**).

Na **Slici 11** vidljivo je da najveću koncentraciju ukupnih kiselina ima 2021. godina što se može povezati s najnižom temperaturama zraka tijekom te godine, kao i najnižom prosječnom godišnjom temperaturom zraka u usporedbi s ostalim godinama. Dok je najniža koncentracija kiselina zabilježena u 2020. godini zbog velike količine oborina.

Alkoholi su aromatični spojevi koji nastaju kao rezultat sekundarnog metabolizma kvasca. Doprinosu aromi vina, ali ukoliko je njihova koncentracija veća od 400 mg/L tada imaju

negativan utjecaj na aromu vina (Babić, 2022). **Slika 12** prikazuje prisutnost ukupnih alkohola u analiziranim uzorcima i vidljivo je da je vino iz 2023. godine imalo najmanji sadržaj alkohola, dok je najveći sadržaj alkohola imalo vino iz 2020. godine.

Esteri su glavni hlapljivi sastojci koji su odgovorni za voćne i cvjetne arome vina. Nastaju najčešće tijekom alkoholne fermentacije i tijekom dozrijevanja vina. Identificirano je 20 različitih estera u uzorcima vina, ali u različitim koncentracijama što utječe na ukupnu aromu vina. Izoamil acetat najviše utječe na ukupnu mirisnu notu te daje miris na voće i banane. Na **Slici 13** prikazana je koncentracija ukupnih estera u analiziranim uzorcima Malvazije Istarske (2020., 2021., 2022., 2023. Godina) Godina 2020. imala je najveću koncentraciju ukupnih estera (8209,24 $\mu\text{g/L}$), dok su 2021. i 2022 imale nešto niže koncentracije (5094,44 i 3310,56 $\mu\text{g/L}$), a najmanja koncentracija bila u 2023. godina (2822,46 $\mu\text{g/L}$). **Slika 13** prikazuje uz ukupne estere, tri najzastupljenija estera u analiziranim uzorcima vina. Najzastupljeniji su etil-heksanoat, etil-oktanoat i etil-dekanoat. Najveće koncentracije etil-heksanoata i etil-oktanoata imala je također 2020. godina, dok je najmanju imala 2023. godina. Koncentracija etil-dekanoata bila je najmanja u 2022. godini, a najveća u 2020. godini.

Terpeni su kemijski spojevi koji predstavljaju primarnu aromu grožđa koja je karakteristična za svaku sortu. Njihova koncentracija u vinu ovisna je i o tehnološkom postupku prerade i njege vina. Glavna mirisna nota terpena je citrus. U ispitivanim vinima identificirani terpeni su linalool i β -citronelol (**Slika 14**). Vina su varirala u koncentraciji terpena, a najveća koncentracija oba terpena vidljiva je u 2020. godini, dok je najmanja u 2021. godini.

Od aldehida i ketona u analiziranim vinima pronađeni su heptan-2-on, nonan-2-on, nonanal i 4-propilbenzaldehyd (**Slika 15**). Najveće koncentracije heptan-2-ona, nonan-2-ona, nonanala i 4-propilbenzaldehyda zabilježene su u uzorku vina iz 2020. godine, dok su najmanje koncentracije navedenih spojeva zabilježene u 2023. godini. Tijekom četiri uzastopne godine, sva ispitivana vina su pokazala najviše koncentracije spojeva heptan-2-ona i nonan-2-ona. **Slika 16** prikazuje ukupnu aromu pojedinih uzoraka vina iz 2020., 2021., 2022. i 2023. godine. Iz slike je vidljivo da uzorak vina iz 2020. godine ima najveću koncentraciju ukupne arome, a uzorak vina iz 2023. godine najmanju. Godina 2023. bila je obilježena najvišim količinama oborina i visokim temperaturama što je znatno utjecalo na ukupnu aromu. Najveću koncentraciju cvjetne i voćne arome imao je uzorak vina iz 2020. godine, a najmanju uzorak iz 2023. godine. Citrusna aroma, aroma banane i aroma zelenila također pokazuju najveću koncentraciju u 2020. godini. Nadalje, najmanje koncentracije citrusne arome bile su u 2021. godini, dok je aroma banane bila najmanja u 2022. godini, a aroma zelenila bila je najmanje

prisutna u vinu iz 2023. godine. Najviše masne note zabilježeno je u 2021. godini, a najmanje u 2020. godini.

Rezultati senzorske analize vina Malvazija Istarska prikazani su u **Tablicama 15 i 16**. Test 100 bodova je pokazao da su svi uzorci vina izrazito visoke kvalitete i ocjenjeni su ocjenama iznad 85. Najveću ocjenu dobilo je vino iz 2020. godine (89,4), a najmanju iz 2023. godine (85,6). Deskriptivnom analizom izdvojene su glavne aromatske note (jabuka, kruška, marelica, banana, citrus, zelena trava, livadsko cvijeće, biljna nota, zelena paprika, med i ruža) koje su se isticale u ispitivanim uzorcima. Intenzitet pojedine aromatske note ocjenjen je bodovima od 0 do 10, gdje 10 predstavlja najintenzivnije. Iz rezultata je vidljivo da se arome banane, citrusa, zelene trave i livadskog cvijeća ističu u vinu iz 2020. godine. Općenito voćne arome su bile najizraženije u vinima iz 2021. i 2023. godine. Vino iz 2022. godine imalo je najmanje izražene navedene arome, a prevladavali su citrusi, zelena trava i livadsko cvijeće. Deskriptivnom analizom dobiveno je da su voćne arome prevladavale u 2021. i 2023. godini, što ukazuje da tome pogoduju visoke temperature i velika količina oborina tijekom vegetacije. Citrusna i biljna aroma prevladavala je u vinu iz 2020. godine, kada je za vrijeme vegetacije bilo više sunčanih sati, a manja količina oborina. U svim analiziranim godinama, rezultati deskriptivne analize i plinske kromatografije pokazuju podudaranje u identifikaciji i kvantifikaciji pojedinačnih aroma vina. Jedino odstupanje vidljivo je kod voćne arome (**Slika 16**) gdje je najizraženija u 2020. godini prema rezultatima dobivenih na plinskom kromatografu.

6. ZAKLJUČCI

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

- Klimatski uvjeti (oborine, temperatura, svjetlost) utjecali su na kemijski sastav, tvari boje i arome vina Malvazije Istarske iz berbi 2020., 2021., 2022. i 2023. godine.
- Godina berbe ima značajan utjecaj na tvari arome i boje vina, posredovan kroz klimatske uvjete i njihov utjecaj na kemijski sastav grožđa.
- Vino berbe 2023. godine imalo je najveći sadržaj polifenola jer je 2023. godina imala najviše prosječne godišnje temperature, ali i najviše oborina što je induciralno stresne uvjete za vinovu lozu i povećalo sintezu polifenola.
- Vino berbe 2021. godine pokazalo je najmanji sadržaj polifenola i antioksidacijske aktivnosti zbog najmanjih godišnjih temperatura i najmanjeg broja sunčanih sati zabilježenih te godine.
- Budući da je najveći broj sunčanih sati bio u 2020. godini, vino te godine imalo je najveći sadržaj flavonoida, ukupne arome i antioksidacijsku aktivnost.
- Vino berbe 2023. imalo je najmanji sadržaj tvari arome zbog visokih temperatura koje nepovoljno djeluju na aromatski profil.
- Sva četiri ispitivana vina pokazala su visoku antioksidacijsku aktivnost. Prema metodi DPPH, najveća antioksidacijska aktivnost zabilježena je u vinu iz 2021. godine, dok je najmanja u vinu iz 2022. godine. Prema metodi ABTS, najveća antioksidacijska aktivnost utvrđena je u vinu iz 2020. godine, a najmanja u vinu iz 2022. godine. Najveća antioksidacijska aktivnost prema FRAP metodi zabilježena je u vinu iz 2023. godine, dok su vina iz 2021. i 2022. godine pokazala najmanju aktivnost. Vino iz 2022. godine ima najveću antioksidacijsku aktivnost prema CUPRAC metodi, dok je najmanju pokazalo vino iz 2021. godine. Antioksidacijska aktivnost mjerena metodama prema FRAP i ABTS prati trendove sadržaja polifenola i flavonoida. Dok metode DPPH i CUPRAC pokazuju određene varijacije koje nisu u potpunosti u skladu s trendovima polifenola i flavonoida, što sugerira da na ukupnu antioksidacijsku aktivnost mogu utjecati klimatski uvjeti, tehnološki postupci i drugi faktori
- Senzorsko ocjenjivanje vina Malvazija Istarska rezultiralo je visokim brojem bodova za sva četiri uzorka, ali najbolje je ocjenjeno vino iz 2020. godine.
- Deskriptivna analiza također je pokazala da klimatski uvjeti utječu na aromatski profil vina Malvazija Istarska.

7. LITERATURA

- Alpeza I: Temelji kemijskog sastava vina. *Glasnik Zaštite Bilja* 31(6):143–150, 2008.
- Anđelini D: Utjecaj roka berbe i vinogradarskog položaja na polifenolni i kiselinski profil mošta kultivara 'Malvazija istarska'. *Diplomski rad*. Agronomski fakultet, Zagreb, 2020.
- Babić K: Utjecaj vinskog kvasca i vinske posude na polifenolni sastav i aromu vina Chardonnay kutjevačkog vinogorja. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2022.
- Barbarić B: Utjecaj skladištenja na kakvoću bijelih vina Palava, Pinot sivi i Traminac. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2018.
- Cedilak A: Antioksidacijska svojstva vina. *Završni rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2016.
- Forgić K: Antioksidacijska aktivnost polifenolnih spojeva u vinu. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2012.
- Gupta D: Methods for determination of antioxidant capacity: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 6(2):546-566, 2015.
- Herjavec S: *Vinarstvo*. Nakladni zavod Globus, Zagreb, 2019.
- Inđić J: Utjecaj bentonita na aromatski profil vina Malvazija Istarska. *Diplomski rad*. Agronomski fakultet, Zagreb, 2022.
- Ivić I: Reverzna osmoza i nanofiltracija: Utjecaj koncentriranja na bioaktivne komponente i arome crnog vina Cabernet Sauvignon. *Doktorska disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2022.
- Jackson RS: Wine science: Principles and applications, third edition. U *Paper Knowledge Toward a Media History of Documents*. Academic Press, Elsevier Inc., Burlington, London, San Diego, 2008.
- Jagatić Korenika AM, Naletilić I, Mihaljević Žulj M, Puhelek I, Jromel A: Utjecaj roka berbe i temperature maceracije na polifenolni sastav grožđa i vina sorte Frankovka (*Vitis Vinifera* L.). *Glasnik zaštite bilja* 38(5):92-100, 2015.
- Jones G.V., White M.A., Cooper R.O, Storchmann K: Climate Change and Global Wine Quality. *Climatic Change* 73:319–343, 2005.
- Kennedy JA, Saucier C, Glories Y: Grape and wine phenolics: history and perspective. *American Journal of Enology and Viticulture* 57:239-248, 2006.
- Lachman J, Šulc M, Faitova K, Pivec V: Major factor influencig antioxidant contents and antioxidant activity in grapes and wines. *International Journal of Wine Research* 1:101-121, 2009.
- Lavrić M: Utjecaj godine berbe na kvalitetu vina Blatina. *Diplomski rad*. Agronomski i prehrambeno-tehnološki fakultet, Mostar, 2017.
- Mačinković M: Utjecaj skladištenja na tvari boje i arome sorte Bovier. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2017.

- Maletić E, Karoglan Kontić J, Pejić I, Preiner D, Zdunić G, Bubola M, Stupić D, Andabaka Ž, Marković Z, Šimon S, Žulj Mihaljević M, Ilijaš I, Marković D: *Zelena knjiga: Hrvatske izvorne sorte vinove loze*. Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb, 2015.
- Maletić E, Karoglan Kontić J, Pejić I: *Vinova loza- Ampelografija, ekologija, oplemenjivanje*. Školska knjiga, Zagreb, 2008.
- Matošević M: Utjecaj količine oborina i broja sunčanih dana u tri uzastopne godine berbe na sadržaj tvari boje i arome u bijelim vinima đakovačkog vinogorja Mandićevac. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2017.
- Mirošević N: *Vinogradarstvo*. Nakladni zavod Globus, Zagreb, 1996.
- Narodne Novine: *Pravilnik o proizvodnji vina*. NN 2/05, 2005.
- Narodne Novine: *Zakon o vinu*. NN 32/19, 2019.
- Nežić G: Utjecaj nakupljanja šećera na razvoj aromatskog potencijala sorte Malvazija istarska (*Vitis vinifera L.*). *Završni rad*. Veleučilište u Rijeci, Rijeka, 2019.
- Perić K: Aromatski i fenolni sastojci u autohtonim vinima Južne Dalmacije. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2018.
- Prša I: Utjecaj vremenskih i klimatskih uvjeta na vinogradarsku proizvodnju u Hrvatskoj. *Doktorska disertacija*. Agronomski fakultet, Zagreb, 2022.
- Skoog DA, West DM i Holler FJ: *Osnove analitičke kemije*. Školska knjiga, Zagreb, 1999.
- Šehović D, Petravić V, Marić V: Glycerol and wine industry. Glycerol determination in grape must and wine. *Kemija u industriji: časopis kemičara i tehnologa Hrvatske* 53(11):505-516, 2004.
- Šafranjević M: Utjecaj skladištenja na kakvoću crnog vina Plavac mali. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2018.
- Van Leeuwen C, Darriet P: The impact of climate change on viticulture and wine quality. *Journal of wine Economics* 11(01):150-167, 2016.
- Vinković L: Utjecaj temperature na polifenolni sastav i aromu tijekom burne fermentacije vina Cabernet sauvignon. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2022.
- Vrdoljak I: Utjecaj membranske filtracije na aromu i kemijski sastav vina sorte Graševina. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2009.
- Zobundžija D: Utjecaj dodataka na tvari boje i arome kupinovitih vina. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2016.
- Zoričić M: *Podrumarstvo*. Nakladni zavod Globus, Zagreb, 1993.

Web izvori:

Web 1:

<https://www.istrapedia.hr/hr/natuknice/172/malvazija> [4.6.2024.]

Web 2:

<https://www.pmf.unizg.hr/news/43752/IVANP-poster-VODICE-2019%20pptx%20-%20kraj.pdf> [16.6.2024.]

Web 3:

https://moodle.srce.hr/2022-2023/pluginfile.php/8031095/mod_resource/content/1/Proizvodnja%20bijelih%20vina.pdf [4.6.2024.]

Web 4:

https://www.krizevci.net/vinograd/htm/pod_strojevi_i_naprave_u_podrumu.html [5.6.2024.]

Web 5:

<https://www.cedar-agro.hr/index.php/prese-i-muljace-za-grozde/pre%C5%A1a-za-gro%C5%BE%C4%91e-150l-vph-detail> [5.6.2024.]

Web 6:

<https://bs.wikipedia.org/wiki/Etanol> [6.6.2024.]

Web 7:

https://hr.wikipedia.org/wiki/Vinska_kiselina [9.6.2024.]

Web 8:

<https://repositorij.kemija.unios.hr/en/islandora/object/kemos%3A404/datastream/PDF/view> [10.6.2024.]