

# Utjecaj vinskog kvasca na aromatski profil i bioaktivne komponente u vinu od mandarine

---

Vidović, Matej

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:109:686096>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-05**

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**

**Matej Vidović**

**UTJECAJ VINSKOG KVASCA NA AROMATSKI PROFIL I  
BIOAKTIVNE KOMPONENTE U VINU OD MANDARINE**

**DIPLOMSKI RAD**

Osijek, rujan, 2024.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

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

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 održanoj 27. lipnja 2024.  
Mentor: prof. dr. sc. Anita Pichler  
Pomoć pri izradi: dr. sc. Ivana Ivić

### UTJECAJ VINSKOG KVASCA NA AROMATSKI PROFIL I BIOAKTIVNE KOMPONENTE U VINU OD MANDARINE Matej Vidović, 0113145792

**Sažetak:** Voćna vina podrazumijevaju proizvode dobivene fermentacijom voća različitog od grožđa. Njihov kemijski sastav, uvjeti vinifikacije i stabilnost značajno ovisi o vrsti voća. Mandarina je bogata bioaktivnim komponentama, antioksidansima, šećerima i kiselinama te se može koristiti za proizvodnju vina od mandarine. Cilj ovog diplomskog rada je bio istražiti utjecaj različitih tipova kvasaca *Saccharomyces cerevisiae* primijenjenih za fermentaciju soka od mandarine na aromatski profil i bioaktivne komponente vina od mandarine. Upotrijebljeno je pet tipova selekcioniranih kvasaca: Uvaferm 228, Uvaferm CM, Uvaferm BC, Uvaferm CEG i Uvaferm GHM. Nakon provedene spektrofotometrije i plinske kromatografije uz masenu spektrometriju, u dobivenim vinima određeni su aromatski profili i bioaktivne komponente te antioksidacijska aktivnost. Rezultati su pokazali da su različiti kvasci rezultirali malim razlikama u bioaktivnim komponentama i antioksidacijskoj aktivnosti. Međutim, razlike u aromatskim profilima vina od mandarine su bile značajne. Vino s kvascem Uvaferm 228 imalo je najvišu ukupnu koncentraciju terpena, aldehida i ketona, vino s kvascem Uvaferm BC imalo je najvišu ukupnu koncentraciju estera i kiselina, a vino s kvascem Uvaferm CM imalo je najviše alkohola. Spojevi arome s dominantnom voćnom notom prevladavali su u svim uzorcima, dok je uzorak s Uvaferm BC sadržavao i visoke koncentracije spojeva s masnom, cvjetnom te začinskom/orašastom notom.

**Ključne riječi:** vino od mandarine, kvasci, tvari arome, polifenoli, antioksidacijska aktivnost

**Rad sadrži:** 49 stranica  
20 slika  
8 tablica  
0 priloga  
78 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

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

**Datum obrane:** 27. 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 Food Engineering

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, prof.

Technical assistance: Ivana Ivić, PhD

### THE INFLUENCE OF WINE YEAST ON THE AROMATIC PROFILE AND BIOACTIVE COMPONENTS IN TANGERINE WINE

Matej Vidović, 0113145792

**Summary:** Fruit wines refer to products obtained by fermentation of fruits other than grapes. Their chemical composition, vinification conditions, and stability significantly depend on the type of fruit used. Tangerine is rich in bioactive components, antioxidants, sugars, and acids, making it suitable for producing tangerine wine. The aim of this thesis was to investigate the impact of different types of *Saccharomyces cerevisiae* yeast applied for the fermentation of tangerine juice on the aromatic profile and bioactive components of tangerine wine. Five types of selected yeasts were used: Uvaferm 228, Uvaferm CM, Uvaferm BC, Uvaferm CEG, and Uvaferm GHM. After conducting spectrophotometry and gas chromatography with mass spectrometry, the aromatic profiles, bioactive components, and antioxidant activities were determined in the obtained wines. The results showed that different yeasts resulted in small differences in bioactive components and antioxidant activity. However, the differences in the aromatic profiles of the tangerine wines were significant. The wine with Uvaferm 228 yeast had the highest total concentration of terpenes, aldehydes, and ketones; the wine with Uvaferm BC yeast had the highest total concentration of esters and acids; and the wine with Uvaferm CM yeast had the highest total alcohols content. Aromatic compounds with dominant fruity notes prevailed in all samples, while the sample with Uvaferm BC also contained high concentrations of compounds with fatty, floral, and spicy/nutty notes.

**Keywords:** tangerine wine, yeasts, aromatic profile, polyphenols, antioxidant activity

**Thesis contains:** 49 pages  
20 figures  
8 tables  
0 supplements  
78 references

**Original in:** Croatian

**Defense committee:**

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

**Defense date:** September 27, 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**

27. rujna 2024.

**TE OCIJENJEN USPJEHOM**

vrlo dobar (4)

**Pred Povjerenstvom za obranu diplomskog rada:**

**1. prof. dr. sc. Mirela Kopjar**

predsjednik

Kopjar  
(potpis)

**2. prof. dr. sc. Anita Pichler**

član

Pichler  
(potpis)

**3. prof. dr. sc. Nela Nedić Tiban**

član

ne. Nela Nedic Tiban  
(potpis)

*Zahvaljujem svojoj obitelji, roditeljima i bratu na svojoj podršci koju su mi pružali tijekom studiranja, jer bez nje ne bih uspio.*

*Također zahvaljujem svojoj mentorici, prof. dr. sc. Aniti Pichler na svim savjetima i pomoći tijekom izrade ovog rada. Jednako tako hvala i asistentici, dr. sc. Ivani Ivić.*

## Sadržaj

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1.  Mandarina.....</b>	<b>4</b>
2.1.1.  Svojstva ploda .....	4
2.1.2.  Nutritivna vrijednost mandarine .....	5
2.1.3.  Uzgoj mandarina u RH .....	5
<b>2.2.  Proizvodnja voćnih vina.....</b>	<b>5</b>
2.2.1.  Obrada voća.....	5
2.2.2.  Prešanje i bistrenje soka .....	6
2.2.3.  Dodatak šećera i kvasaca .....	6
2.2.4.  Kvasci roda Saccharomyces .....	7
2.2.5.  Alkoholna fermentacija .....	7
2.2.6.  Odležavanje na talogu i završna fermentacija .....	8
<b>2.3.  Kemijski sastav voćnih vina.....</b>	<b>8</b>
2.3.1.  Alkoholi i ekstrakt .....	8
2.3.2.  Šećeri .....	10
2.3.3.  Kiseline.....	10
2.3.4.  Mineralne tvari .....	10
2.3.5.  Aldehidi i ketoni .....	11
2.3.6.  Terpeni.....	11
2.3.7.  Esteri.....	12
2.3.8.  Aromatski profil .....	12
2.3.9.  Polifenolni sastav.....	13
2.3.10.  Antioksidacijska aktivnost.....	15
<b>2.4.  Plinska kromatografija .....</b>	<b>15</b>
2.4.1.  Opće karakteristike .....	16
2.4.2.  Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi .....	16
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO .....</b>	<b>18</b>

<b>3.1. Zadatak.....</b>	<b>19</b>
<b>3.2. Materijal i metode .....</b>	<b>19</b>
3.2.1.    Vino od mandarine .....	19
3.2.2.    Kvasci Uvaferm.....	20
3.2.3.    Određivanje aromatskog profila .....	22
3.2.4.    Određivanje ukupnih polifenola .....	24
3.2.5.    Određivanje ukupnih flavonoida .....	24
3.2.6.    Određivanje antioksidacijske aktivnosti .....	25
<b>4. REZULTATI .....</b>	<b>27</b>
<b>4.1. Tablični prikaz rezultata.....</b>	<b>28</b>
<b>4.2. Grafički prikaz rezultata .....</b>	<b>32</b>
<b>5. RASPRAVA .....</b>	<b>35</b>
<b>5.1. Aromatski profil .....</b>	<b>36</b>
<b>5.2. Bioaktivne komponente.....</b>	<b>39</b>
<b>6. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>40</b>
<b>7. LITERATURA .....</b>	<b>42</b>



## **1. UVOD**

Vino je proizvod dobiven iz soka grožđa. Voćna vina proizvode se od soka jagodičastog, jezgričavog, južnog, koštičavog, bobičastog i ostalog voća (Kolb i sur., 2007). Vino je alkoholno piće proizvedeno djelomičnim ili potpunim alkoholnim vrenjem mošta ili masulja. Glavne komponente vina su etanol, kiseline, šećeri, viši alkoholi, voda, mineralne tvari, bioaktivne tvari i hlapljive aromatske komponente (Ivić i sur., 2021). U vinima je najzastupljeniji alkohol etanol koji sudjeluje u stvaranju arome i slatkog voćnog okusa (Munoz-Gonzalez i sur., 2019).

Kvaliteta vina ovisi o velikom broju hlapljivih i nehlapljivih komponenata, ali i o preradi voća kao i procesu proizvodnje vina. Pri proizvodnji vina odvijaju se mikrobiološke, biokemijske, kemijske i fizikalne promjene koje utječu na stvaranje ukupne arome i boje vina (Varoquaux i Wiley, 2017). Tijekom pretvorbe voća u vino može doći do djelomičnog gubitka početne voćne arome, ali i stvaranja nekih novih aromatskih spojeva (Goncalves i sur., 2018).

Fenolni spojevi u vinima su odgovorni za boju, ali imaju i antioksidacijski učinak tj. neutraliziraju djelovanje slobodnih radikala (Giovinazzo i sur., 2019). U fenolne spojeve ubrajaju se fenolne kiseline, flavonoidi, antocijani. Oni se pretežito nalaze u kožici i sjemenkama voća, daju trpkost, boju i okus vina, a njihova količina ovisi o vrsti voća (Garrido i Borges, 2013; Giovinazzo i sur., 2019).

Mandarine su poznate po svom bogatom nutritivnom sastavu. Značajan su izvor vitamina C, flavonoida i karotenoida, koji doprinose njihovoj antioksidacijskoj aktivnosti. Visoke razine bioaktivnih spojeva imaju protuupalne i antikancerogene učinke (He i sur., 2024; Addi i sur., 2022).

Cilj ovog rada je kvalitativno i kvantitativno određivanje aromatskih te kvantitativno određivanje biogenih komponenata u vinima od mandarine s dodatkom pet različitih kvasaca vrste *Saccharomyces cerevisiae*.

## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. Mandarina

Mandarina ili mandarinka (lat. *Citrus reticulata*) je voće iz roda *Citrusa* iz porodice *Rutaceae*. Drvo ovog ploda je zimzeleno, ali, s obzirom da ne podnosi hladnoću, uzgaja se uglavnom u suptropskim dijelovima svijeta. Može narasti do tri metra, a listovi su širi od ostalih pripadnika roda *Citrusa* (Kaleb, 2014).



Slika 1 Drvo mandarine (Web 1)

### 2.1.1. Svojstva ploda

Plod mandarine sastoji se od kore i mesnatog dijela mandarine. Kora mandarine ili perikarp čini 20 – 30% sveukupne mase mandarine. Unutarnji dio kore je bijele boje i spužvaste strukture. Vanjski dio kore sadrži uljne žlijezde koje su nosioci eteričnih ulja čija je uloga štititi mesni dio voća od topline i drugih vanjskih oštećenja. Mesni dio mandarine ili mezokarp podijeljen je na 9 do 14 dijelova ili kriški koje su ispunjenje slatkim sokom. U kriškama se nalaze sjemenke, ali danas se proizvode i mandarine koje su besjemene što olakšava cijedenje soka (Ferenčić Gluhić i Dudaš, 2016).



Slika 2 Presjek ploda mandarine (Web 2)

### **2.1.2. Nutritivna vrijednost mandarine**

Jestivi mesnati dio mandarine se svojim najvećim dijelom sastoji od vode (85 – 90%) te ugljikohidrata (oko 10%). Ostalih komponenata kao što su bjelančevine, masti, vlakna i pepeo sadrži u količinama manjim od 2%. Od vitamina sadrži vitamin C, u količini od 26,7 mg na 100 g svježeg mesa mandarine i vitamin A. Od vitamina topivih u vodi sadrži vitamine B1, B2 i B3. Od minerala sadrži veću količinu željeza, magnezija i kalija (Karlson, 1993; Ferenčić Gluhčić i Dudaš, 2016; Šantić, 2019).

### **2.1.3. Uzgoj mandarina u RH**

U Hrvatskoj su mandarine prvo posađene u dolini Neretve 1951. godine na površini od 0,23 hektara ili 2300 m<sup>2</sup> (394 stabala mandarina). Do danas su se površine i broj stabala višestruko povećali (Kaleb, 2014).

## **2.2. Proizvodnja voćnih vina**

Voćno vino je prehrambeni proizvod koji ima sadržaj prirodnog alkohola od najmanje 1,2% do najviše 18% vol., a proizvedeno je vrenjem soka ili pulpe svježeg i za to pripremljenog koštičavog, jezgričavog, jagodičastog, bobičastog ili ostalog voća, isključujući grožđe (NN 81/22). Početak proizvodnje voćnih vina počinje berbom voća. Ubrano voće mora biti zrelo, jer prezrelo ili nezrelo voće ne može dati kvalitetno i zadovoljavajuće voćno vino. Prije bilo koje obrade u proizvodnji voćnih vina, voće je potrebno oprati pod mlazom vode. Nadalje, potrebno je ukloniti peteljke, listove i ostale zelene dijelove zbog toga što oni vinu daju nepoželjnu gorčinu i aromu. Odvaja se svaki oštećeni, pljesnivi ili truli plod jer utječe na nepoželjnu kvalitetu vina (Pichert, 1996).

### **2.2.1. Obrada voća**

Nakon pranja pristupa se usitnjavanju voća na veličinu manju od lješnjaka. Voće ne smije biti previše usitnjeno kako ne bi poprimilo kašastu konzistenciju. Uređaji koji se koriste za usitnjavanje rade na principu horizontalnih metalnih noževa koji pritišću voće na nazubljeni dio uređaja. Poželjno je da noževi budu premazani posebnim lakom od smole neutralnog okusa.

Smola štiti oštrice od kiseline i korozije koju voće može uzrokovati i dati vinu metalni okus. (Kolb i sur., 2007).

### 2.2.2. Prešanje i bistrenje soka

Nakon usitnjavanja voća nastaje masulj. Njega je potrebno isprešati korištenjem voćne preše (Slika 3). Iz masulja je potrebno ukloniti istaložene čestice. To se postiže prolaskom masulja kroz sita napravljena od nehrđajućeg čelika ili najlona. Drugi način izdvajanja taložnih čestica je proces sedimentacije gdje se masulj, blago sumporen, ostavi 24 sata pod utjecajem gravitacije i čestice se istalože na dno. Bistrenje masulja moguće je postići i centrifugiranjem. Ovaj postupak se koristi za brzo i učinkovito bistrenje soka, a njime se uklanja dio prirodnih kvasaca koji bi mogli usporiti alkoholnu fermentaciju (Kolb, 2007; Šantić, 2019).



Slika 3 Voćna preša (Web 3)

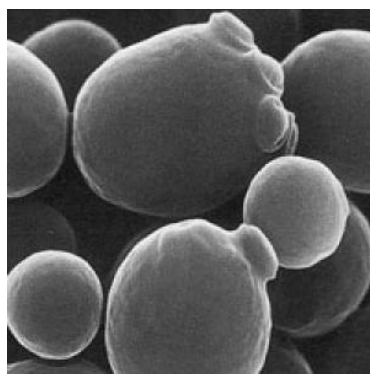
### 2.2.3. Dodatak šećera i kvasaca

Nakon prešanja i bistrenja, sok se prenese u već za to pripremljene posude za fermentaciju. Mandarina sadrži količinu šećera koja je dovoljna za rad kvasaca, ali također sadrži i preveliku količinu kiselina. Nakon dorade soka, udio kiselina ne smije biti niži od 5 g/L kako ne bi došlo do rasta nepoželjnih mikroorganizama. Ukoliko sadržaj kiselina bude manji od navedenog, može se korigirati dodatkom mliječne ili limunske kiseline (Kolb i sur., 2007). Konačni udio šećera u soku prije fermentacije ovisi o vinu koji se želi proizvesti, odnosno o udjelu alkohola koji se želi postići. Količina šećera u soku mjeri se refraktometrijski i izražava u stupnjevima Oechsle (°Oe). Nakon korekcije, sok se može po potrebi sumporiti te se u njega dodaju selekcionirani kvasci. U sok je poželjno dodati i hranjive tvari za kvasce kako bi imali dovoljno dušičnih spojeva za svoj rast i optimalno odvijanje fermentacije (Šantić, 2019). Najčešće se

dodaju određeni tipovi vrste *Saccharomyces cerevisiae*, a njihova količina ovisi o uputama proizvođača.

#### 2.2.4. Kvasci roda *Saccharomyces*

Najčešće korišteni kvasci za fermentaciju vina su kvasci roda *Saccharomyces* (Slika 4) s obzirom da učinkovito provode proces fermentacije, prevode šećer u etanol, ali imaju i visoku otpornost na povišene koncentracije etanola. Neki od njih su: *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*, *Saccharomyces pastorianus*, *Saccharomycodes ludwigii* i dr. *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* je vinski kvasac koji se koristi za proizvodnju voćnih vina. Neki oblici ovog kvasca mogu provoditi fermentaciju i pri 0 °C. *Saccharomyces pastorianus* je pivski kvasac donjeg vrenja koji prerađuje i rafinozu. Brzo se razmnožava i aktivno fermentira pri temperaturama od 5 do 10 °C. Ovaj kvasac pokazuje fermentativne sposobnosti i pri nižim temperaturama, između 1 i 2°C, što ga čini pogodnim za naknadno vrenje (Olesen i sur., 2002). *Saccharomycodes ludwigii* se također mogu koristiti za proizvodnju vina, otporniji su na djelovanje SO<sub>2</sub>, ali mogu fermentirati samo saharozu, glukozu i fruktozu (Mantilla, 2018).



Slika 4 Kvasac roda *Saccharomyces* (Web 4)

#### 2.2.5. Alkoholna fermentacija

Voćno vino nastaje alkoholnom fermentacijom koju provode kvasci, pri čemu se šećeri poput glukoze i fruktoze razgrađuju na etanol, ugljični dioksid (CO<sub>2</sub>) i razne nusproizvode (jantarna kiselina, glicerol i viši alkoholi). Alkoholna fermentacija najčešće se odvija u anaerobnim uvjetima. Veća koncentracija šećera može proizvesti više alkohola, no kako se udio alkohola povećava, brzina fermentacije opada. Kvasci proizvode i razne spojeve koji utječu na senzorske karakteristike vina, poput viših alkohola, estera, hlapivih kiselina, karbonilnih spojeva, hlapivih

fenola i spojeva sumpora (Swiegers i Pretorius, 2005). Sojevi kvasaca *Saccharomyces cerevisiae* često se koriste u proizvodnji vina zbog manjeg rizika od usporene ili zaustavljene fermentacije, kao i od mikrobiološke kontaminacije. Oni su otporni na sumpor te se brzo talože na kraju fermentacije (Duarte i sur., 2010).

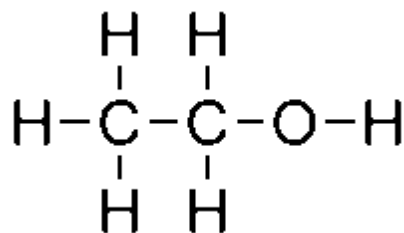
### 2.2.6. Odležavanje na talogu i završna fermentacija

Po završetku fermentacije obavlja se prvi pretok vina te započinje druga, blaža, malolaktička fermentacija, kojom se jača kiselina, poput jabučne, prevodi u blažu, kao što je mliječna. Mlado vino obično ima oštar okus, ali tijekom sazrijevanja dolazi do promjena u aromi (bouqueta). Proces starenja vina obično se dijeli na dvije faze: dozrijevanje i reduktivno starenje. Dozrijevanje se događa između alkoholne fermentacije i punjenja u boce, a traje od 6 do 24 mjeseca. To razdoblje uključuje već spomenutu malolaktičku fermentaciju, odležavanje u hrastovim bačvama te pretakanje i filtriranje po potrebi. Druga faza, reduktivno starenje, počinje nakon punjenja u boce i odvija se u odsutnosti kisika (Kosseva, Joshi i Panesar, 2017).

## 2.3. Kemijski sastav voćnih vina

### 2.3.1. Alkoholi i ekstrakt

Etanol (**Slika 5**) najzastupljeniji je sastojak vina nakon vode. Utječe na viskoznost vina, daje punoću okusa, utječe na organoleptička svojstva (Jordan i sur., 2015). Nastaje radom vinskih kvasaca u postupku alkoholne fermentacije (Moreno i Peinado, 2012).

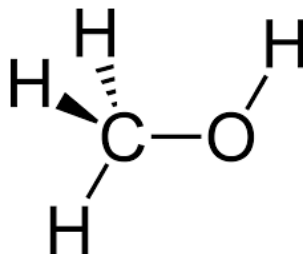


**Slika 5** Molekularna struktura etanola (Web 5)

Metanol (**Slika 6**) je alkohol koji nastaje hidrolizom pektinskih spojeva koji se nalaze u kožici voća pomoću enzima pektinesteraze. Hidroliza pektina provodi se prije ili tijekom alkoholne fermentacije (Moreno i Peinado, 2012). Koncentracija metanola veća je u vinima koja su prošla

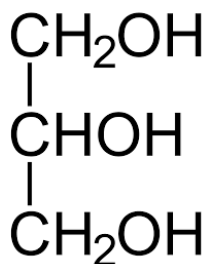


maceraciju i fermentaciju masulja. Bijela vina imaju oko 60 mg/L metanola, ružičasta oko 90 mg/L, a crna vina oko 150 mg/L (Hodson i sur., 2017).



**Slika 6** Molekularna struktura metanola (Web 6)

Glicerol (**Slika 7**) je trovalentni alkohol koji je treći najčešći sastojak u vinima. On utječe na slatkoću i punoću okusa, na kvalitetu vina i doprinosi viskoznosti vina (Ribereau-Gayon i sur., 2006). Njegova količina u vinu ovisi o soju korištenog vinskog kvasca, količini šećera u moštu te o vrsti i sorti korištenog voća (Goold i sur., 2017). Starenjem vina njegova koncentracija se smanjuje ispod 1 g/L (Moreno i Peinado, 2012).



**Slika 7** Molekularna struktura glicerola (Web 7)

Viši alkoholi, s više od dva ugljikova atoma, nastaju kao sekundarni produkti alkoholne fermentacije. Mogu nastati kao nusproizvodi u procesima sinteze aminokiselina, anabolički iz šećera i katalitički iz aminokiselina (Pietruszka i sur., 2010). Viši alkoholi se u malim količinama nalaze u vinima (do 400 mg/L). U većim koncentracijama loše utječu na aromu vinima (Yue i sur., 2014). Najčešći viši alkoholi su izobutil alkohol, propan-1-ol i izoamilni alkohol (Moreno i Peinado, 2012).

### 2.3.2. Šećeri

U vinima su najčešće pektini, monosaharidi, polisaharidi. Heksoze, fruktoza i glukoza, su najzastupljeniji monosaharidi u moštu i vinu (Mirošević i Karoglan, 2008). Pentoze su više zastupljene u crnim vinima nego u bijelim vinima. Od oligosaharida mogu se naći laktoza, trehaloza, maltoza, rafinoza i saharoza (Ribereau-Gayon i sur., 2006). Alkoholnom fermentacijom iz šećera nastaje alkohol, ugljikov dioksid i sekundarni metaboliti. U procesu fermentacije voćnih vina može ostati dio nefermentiranog šećera koji pridonosi slatkoći vina. Po količini nefermentiranog šećera vina se dijele na: slatka vina (više od 50 g/L šećera), poluslatka (12 do 50 g/L šećera), polusuha (4 do 12 g/L šećera) i suha (do 4 g/L šećera) (Jackson, 2008). Uloga šećera je da smanjuje trpkost, kiselost i gorčinu vina (Alpeza, 2008; Gnilomedova i sur., 2018).

### 2.3.3. Kiseline

Kiseline u vinu imaju ulogu svojevrsnog obogaćivanja okusa (limunska, jabučna, jantarna i vinska kiselina). U voću najviše ima jabučne i vinske kiseline. Tijekom alkoholne fermentacije i ostalih postupaka u proizvodnji vina dio kiselina se gubi i stvaraju se neke nove kao što su octena, oksalna, piruvična, fumarna i sukcijska. Malolaktičnom fermentacijom iz jabučne kiseline nastaje mliječna kiselina. Reakcijom kiselina i etanola u vinu nastaju esteri (Alpeza, 2008; Bayraktar, 2013). Jantarna kiselina vinu daje gorak okus, limunska daje svježinu, a nastaje u procesu glikolize, kao produkt plijesni roda *Botrytis* (Bayraktar, 2013; Chidi i sur., 2018).

Hlapljive kiseline nastaju kao sekundarni produkti alkoholne fermentacije. Octena kiselina je glavni predstavnik hlapljivih kiselina jer je ima najviše, a nastaje djelovanjem octenih bakterija ili kvasaca u aerobnim uvjetima koji oksidiraju etanol tijekom alkoholne fermentacije. Ako njezina koncentracija prijeđe 0,9 g/L dolazi do kvarenja vina ili octikavosti. Kada je njezina koncentracija manja obogaćuje aromu vina (Lin i sur., 2019; Ivić, 2022).

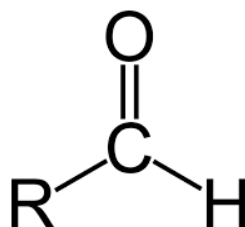
### 2.3.4. Mineralne tvari

Koncentracija mineralnih tvari u voću ovisi o : klimatskim uvjetima, vrsti i sorti voća, tipu tla gdje voće raste, tvarima koje su korištene za zaštitu voća i drugim čimbenicima. Veći udio

sumpora može biti znak da je korišten fungicid. Visok udio aluminija može biti posljedica korištenja bentonita. U mošt također mogu doći metalne čestice željeza, bakra ili olova iz opreme koja se koristi u obradi vina ili posuda (Jakson, 2008). Neke mineralne tvari imaju pozitivan utjecaj na ljudski organizam u niskim koncentracijama, kao bakar ili cink (Galani-Nikolakaki i sur., 2002; Tariba, 2011). Mineralne tvari koje se nalaze u voću povećavaju mu nutritivnu vrijednost. Najzastupljeniji minerali su kalcij, magnezij, kalij, mangan i natrij (Jakson, 2008; Moreno i Peinado, 2012).

### 2.3.5. Aldehidi i ketoni

Aldehidi (**Slika 8**) i ketoni su karbonilni spojevi. Oni sa sumporastom kiselinom stvaraju spojeve koji su lako topive kiseline. Jako su reaktivni i nastaju procesom alkoholne fermentacije. Acetaldehid nastaje razgradnjom šećera. Manje sumporeno vino ima više acetaldehida koji vinu daje oksidirani miris. Oksidacijom viših alkohola, posebno pri dugom odležavanju vina, nastaju aldehidi. Oni koji sadrže 4 ili 5 ugljikovih atoma daju vinu aromu po drvetu ili sušenom voću. Aldehidi sa 8 do 10 ugljikovih atoma daju cvjetnu ili voćnu aromu (Waterhouse i sur., 2016). Ketoni su u vinu vrlo malo zastupljeni. Njihova koncentracija je manja od 1 mg/L te daju aromu po maslacu. U većoj koncentraciji daju neugodnu užeglu aromu vinu (Jackson, 2008; Moreno i Peinado, 2012).

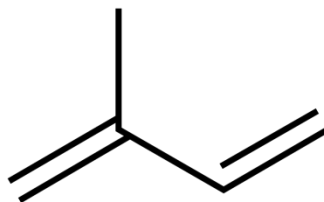


**Slika 8** Opća formula aldehida (Web 8)

### 2.3.6. Terpeni

Terpeni daju karakterističnu aromu koja ovisi o vrsti voća te im je koncentracija u vinu obično niža od 1 mg/L. Strukturno se sastoje od izoprenskih jedinica (**Slika 9**) ( $\text{C}_5\text{H}_8$ ). Terpeni se razlikuju po količini izoprenskih jedinica. Monoterpeni se sastoje od dvije izoprenske jedinice, seskviterpeni od tri, a diterpeni od četiri izoprenske jedinice (Moreno i Peinado, 2012). U postupku alkoholne fermentacije enzim glikozidaza djeluje na terpene pri čemu se oslobađaju

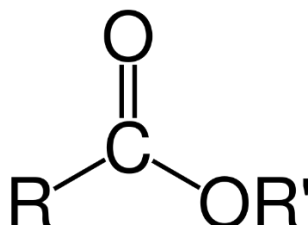
vrlo aromatični terpeniski alkoholi ili slobodni terpeni koji daju aromu vinima (Maicas i Mateo, 2016; Michlmayr i sur., 2012).



Slika 9 Izoprenska jedinica: gradivna jedinica terpena (Web 9)

### 2.3.7. Esteri

Esteri (Slika 10) su najbrojniji spojevi u vinu koji nastaju tijekom alkoholne fermentacije i odležavanja. Vinu daju voćnu i svježju aromu. Mlada vina sadrže najviše estera, starenjem se njihov broj smanjuje. Zato je potrebno čuvati vina pri adekvatnim temperaturama kako se voćne, esterske arome ne bi izgubile (Alpeza, 2008). U vinu najzastupljeniji esteri su: etil-heksanoat, etil-acetat, fenetil-acetat, etil-oktanoat i drugi (Zoričić, 1996).



Slika 10 Opća formula estera (Web 10)

### 2.3.8. Aromatski profil

Aromu nekog voća čine kemijski spojevi kao što su: ketoni, esteri, alkoholi, terpeni, aldehidi, kiseline. Njihova koncentracija ovisi o načinu uzgoja voća, zrelosti, klimi, tlu i uvjetima tijekom njihove prerade (Goncalves i sur., 2018). Aroma vina spoj je prirodne arome voća te arome nastale u procesima kao što su fermentacija i dozrijevanje vina (Belda i sur., 2017).

#### *Primarna aroma*

Primarna aroma je aroma koja dolazi iz samog voća (tioli i metokspirazini, te prekursori kao što su karotenoidi i nezasićene masne kiseline) (Gamero Lluna, 2011; Loscos i sur., 2009).

### ***Sekundarna aroma***

Sekundarna aroma nastaje tijekom fermentacije te stvaranjem mliječne kiseline u procesu malolaktične fermentacije (Moreno i Peinado, 2012). Neki od nastalih sekundarnih spojeva arome su etil esteri, aldehidi, ketoni, viši alkoholi, acetat esteri, monoterpenški alkoholi i drugi (Gamero Lluna, 2011; Ivić, 2022).

### ***Tercijarna aroma***

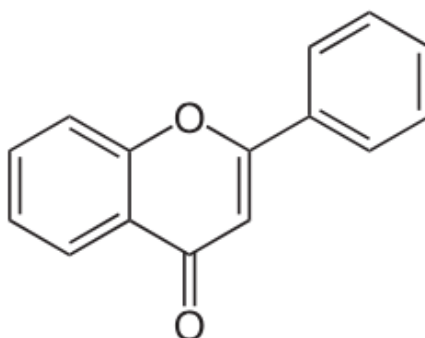
Tercijarna aroma nastaje tijekom odležavanja vina zbog različitih enzimskih i kemijskih reakcija koje se događaju (Gamero Lluna, 2011; Oliveira i sur., 2008).

## **2.3.9. Polifenolni sastav**

Polifenolni spojevi spadaju u heterogene spojeve različitih kemijski sastava. Oni su antioksidansi, daju okus i boju voću i prehrambenim proizvodima napravljenim od voća (Goncalves i sur., 2018; Popović, 2019). Dijele se na flavonoide (difetilpropanoide) i neflavonoide (fenilpropanoide) (Jackson, 2008).

### ***Flavonoidi***

Osnova svakog flavonoida (**Slika 11**) je kostur difetil propanola s dva benzenska prstena povezana piranskim prstenom koji sadrži atom kisika (Jackson, 2008; Tsao, 2010).



**Slika 11** Flavonoid (Web 11)

### ***Flavonoli***

Flavonoli su pigmenti svijetlo žute boje koji su bijelim vinima glavni izvor boje dok su u crnim vinima maskirani. Nalaze se u voću u obliku glikozida koji brzo hidroliziraju. Najčešći flavonoidi u crnim vinima su miricetin, kvercetin, izoramnetin i kempferol (Jackson, 2008; Moreno i Peinado, 2012).

### ***Flavan-3-oli i proantocijanidin***

Drugi naziv za flavan-3-ole je katehini, a razlikuju se od ostalih flavonoida tako što im je veza između drugog i trećeg ugljikovog atoma jednostruka, dok je kod ostalih dvostruka i na četvrtom ugljikovom atomu nije vezan kisik. Ova razlika čini flavan-3-ole kiralnima s dva kiralna centra i ima četiri diastereoizomera (Popović, 2019; Tsao, 2010).

### ***Neflavonoidi***

Glavni predstavnik neflavonoida su fenolne kiseline, vezane u obliku glikozida ili etera i esterificirane vinskom kiselinom. Neflavonoidni spojevi su bezbojni, vezanjem na obojane flavonoide doprinose boji i stabilnosti vina te njihovoj antioksidacijskoj aktivnosti i aromi (Rentsch i sur., 2009).

### ***Hidroksibenzojeva kiselina***

Hidroksibenzojeva kiselina nalazi se u slobodnom obliku u vinima. Najčešći predstavnici su salicilna, p-hidroksibenzojeva, vanilinska, galna, siringinska i protokatehinska kiselina. Hidroksibenzojeva kiselina, koje ima najviše u vinima, je galna (u crnim vinima do 95 mg/L, a kod ostalih vina manje od 10 mg/L) (Moreno i Peinado, 2012; Rentsch u sur., 2009).

### ***Hidroksicimetna kiselina***

Hidroksicimetna kiselina nalazi se u vinima najčešće kao kaftarna (Moreno i Peinado, 2012). Koncentracija hidroksicimetnih kiselina u vinima ovisi o uvjetima proizvodnje, vrsti i sorti voća (Rentsch i sur., 2009).

### 2.3.10. Antioksidacijska aktivnost

Antioksidansi su spojevi čija je uloga sprječavanje djelovanja slobodnih radikala koji, ukoliko nastaju u našem organizmu mogu uzrokovati degenerativne, kardiovaskularne i druge kronične bolesti. Oni sprječavaju ili usporavaju oksidacijske procese u ljudskom organizmu. Antioksidativna aktivnost pojedine namirnice ovisi o njenom kemijskom sastavu, fizikalnom stanju, temperaturi, koliko svjetlosti pristupa namirnici, tipu supstrata i dr. Zbog svoje sposobnosti odgode ili sprječavanja kvarenja namirnica antioksidanse istražuje veliki broj znanstvenika te se njihovom upotrebom smanjuje količina dodanih aditiva u hrani (Kopjar, 2007; Pichler, 2011; Popović, 2019).

Fenolni spojevi, osim što daju vinima aromu i boju, sadrže i određenu antioksidativnu aktivnost. (Fernández-Pachón i sur., 2004; Moreno i Peinado, 2012).

Kinoni ili oksidirani fenolni spojevi nastaju oksidacijom sastojaka vina s drugim fenolnim spojevima postupkom polimerizacije. Ovim postupkom vino dobije smeđu boju zbog stvaranjem smeđih pigmenata. Nastali polimeri se mogu promijeniti u strukture koje mogu vezati kisik i stvoriti nove perokside ili kinone. Ako je udio kisika u vinu nizak, fenolni spojevi stvaraju stabilne polimere koji s drugim tvarima u vinu povećava stabilnost nastalih spojeva (Jackson, 2008).

## 2.4. Plinska kromatografija

Plinska kromatografija (eng. gas chromatography) je separacijska tehnika koja je brza, kvantitativna i kvalitativna. Ima primjenu u prehrambenoj industriji za određivanje sastava arome u prehrambenim namirnicama. Sastoji se od pokretne i stacionarne faze. Inertni plin čini pokretnu fazu i nosi tvari iz uzorka i eluira ih na kolonu. Kolona je ispunjena stacionarnom fazom. Tvari kojima može biti ispunjena kolona su ugljikohidrati velike molekularne mase, esteri na krutom nosaču ili silikonska ulja. Kad uzorak uđe u kolonu on se raspodjeljuje između stacionarne i pokretne faze (plina) pri čemu dolazi do razdvajanja hlapljivih tvari u koloni naizmjeničnom adsorpcijom i desorpcijom (Skoog i sur., 1999).

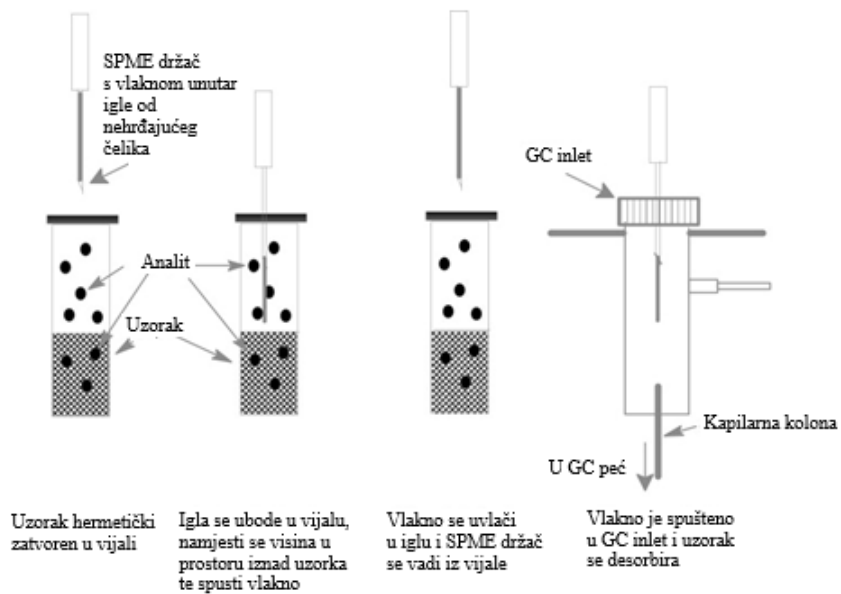
### 2.4.1. Opće karakteristike

Plinska kromatografija je analitička metoda koja omogućuje odjeljivanje hlapljivih tvari u plinovitoj fazi. Plin nositelj hlapljivih komponenata arome u koloni najčešće je argon (Ar) ili helij (He). Inertni plin mora biti visoke čistoće i ne smije reagirati sa uzorkom (Kaur i Sharma, 2018; Pichler, 2011). Stacionarna faza nalazi se u koloni, može biti tekuća ili čvrsta, a sastavljena je od silikonskih ugljika, ugljikovodika i estera. Mehanizam uređaja je prikazan Slikom 5, uzorak ulazi u kolonu, razdvaja se između faza, adsorpcijom i desorpcijom, plin nositelj odvodi lakše hlapljive komponente kroz kolonu nakon čega detektor određuje njihovu količinu. Detektor određuje analite na temelju toplinske vodljivosti, ionizacije, spektrometrije mase itd. (Pichler, 2011).

### 2.4.2. Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi

Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (eng. solid-phase microextraction, SPME) je metoda ekstrakcije hlapljivih komponenata u plinskoj kromatografiji s masenim detektorom (GC-MS). Ova je tehnika brza, jednostavna, bez upotrebe kemikalija. Sastoji se od kućišta koje sadrži iglu (Slika 12) i polimerne stacionarne faze (punilo ili vlakno) unutar igle. Vlakna se sastoje od različitih kombinacija polidimetilsiloksana, divinilbenzena i Carboxena (PDMS/DVB, PDMS/Carboxen), od polidimetilsiloksan (PDSM) sa slojem poliakrilata (PA) i drugih polimera (Popović, 2019). Princip rada se temelji na zagrijavanju i miješanju uzorka u dobro zatvorenoj posudi radi oslobađanja hlapljivih spojeva. nakon toga igla s vlaknom se stavlja iznad uzorka, hlapljivi spojevi se adsorbiraju na vlakno. Zatim se vlakno unosi u injektor plinskog kromatografa, visoka temperatura i vakuum pogoduju desorpciji sastojaka iz vlakna koji se uvode u kolonu (Mottaleb i sur., 2014; Pichler, 2011).





Slika 12 Mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME) (Web 12)

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. Zadatak

Cilj ovog diplomskog rada je ispitati utjecaj pet različitih selekcioniranih vinskih kvasaca Uvaferm 228, Uvaferm CM, Uvaferm GHM, Uvaferm CEG i Uvaferm BC na bioaktivne komponente i aromu u vinu od mandarine. Nakon provedene fermentacije s navedenim kvascima uzeti su uzorci vina od mandarine te se u njima odredio polifenolni sastav i aroma. Upotrebom spektrofotometra određivao se sadržaj polifenola, flavonoida i antioksidativna aktivnost. Određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka provedeno je primjenom plinske kromatografije i mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME) te se u tu svrhu koristio plinski kromatograf tvrtke Agilent 7890B s maseno-selektivnim detektorom Agilent 5977A (Agilent Technologies, Santa Clara, SAD) (**Slika 13**).



**Slika 13** Plinski kromatograf Agilent 7890 B s masenim detektorom Agilent 5977 (Web 13)

### 3.2. Materijal i metode

#### 3.2.1. Vino od mandarine

Vino od mandarine proizvedeno je od soka mandarine koji je dobiven pranjem, guljenjem, čišćenjem i prešanjem ploda mandarine. Nakon korekcije šećera u soku, provedena je fermentacija na temperaturi od 12 °C s dodatkom pet različitih vinskih kvasaca. Nakon završene fermentacije vina su stavljena na stabilizaciju i odležavanje. Ukupno trajanje procesa proizvodnje vina od mandarine iznosilo je 6 mjeseci.

### 3.2.2. Kvasci Uvaferm

Sojevi kvasca *Saccharomyces cerevisiae* korišteni u proizvodnji vina od mandarine su: *Uvaferm GHM*, *Uvaferm CEF*, *Uvaferm BC*, *Uvaferm CN* i *Uvaferm 228*.

#### *Uvaferm 228*

Kvasac utječe na profil terpena i sortnih aroma. Terpeni u moštu/soku se javljaju u obliku  $\beta$ -glukozida koji pod utjecajem enzima  $\beta$ -glukozidaze prelaze u monoterpene, aromatične i karakteristične za pojedine sorte vina. Navedeni kvasac pogodan je za proizvodnju vina u svim klimatskim područjima, za razne tipove bijelih vinskih sorti (Traminac, Pinot bijeli, Rizvanac, Chardonnay, Muškat, Rizling) te voćnih vina. Svojstva *Uvaferm 228*:

- tolerancija alkohola do 14 vol.%;
- preporučuje se dodatak hrane za kvasce prije fermentacije;
- brz početak vrenja, lagani tijek fermentacija;
- neznatno pjenjenje;
- ne stvaraju se hlapljive kiseline;
- dobro samobistrenje vina;
- neznatno stvaranje spojeva koji vežu  $\text{SO}_2$ ;
- $\beta$ -glukozidaza intenzivira sortnu aromu vina;
- brz početak vrenja, lagani tijek fermentacije;
- ima i do 10 puta veću aktivnost  $\beta$ -glukozidaze u usporedbi sa standardnim kvascima;
- dobra tolerancija temperature (povoljno 15 do 20 °C, može i do 35 °C);
- pogodan i kod voćnih vina za intenziviranje aroma pomoću  $\beta$ -glukozidaze;
- početak vrenja od 12 °C (doziranje >20g/hL).

#### *Uvaferm CM*

Kvasac pogodan za vrenje masulja i moštova standardne kvalitete. Kod bijelih vina stvara fini i uravnoteženi aromatski profil, a kod crnih vina ističe punoću okusa i sorte arome vina. Svojstva *Uvaferm CM*:

- ne stvaraju se hlapljive kiseline;
- osrednje pjenjenje;
- ne stvara ( $\text{H}_2\text{S}$ ) sumporovodik;

- nezatno stvaranje metanola kod voćnih tropova;
- preporuča se dodatak hrane za kvasce kod jako izbistrenih moštava siromašnih dušikom;
- brzo započinjanje vrenja i ispod 13 °C (doziranje >20g/hl);
- dobra tolerancija temperature (povoljno 15 do 20 °C, može i do 35 °C);
- snažan početak vrenja, ravnomjerno završno vrenje;
- nezatno stvaranje SO<sub>2</sub>;
- nezatno stvaranje spojeva koje vežu SO<sub>2</sub> (npr. acetaldehid, piruvati...);
- dobar kapacitet vrenja: 16,8 g šećera/L daje 1 vol.% alkohola;
- tolerancija alkohola do 14 vol.%.

#### *Uvaferm BC*

Kvasac je od velike važnosti za vina kod kojih se očekuju poteškoće na početku fermentacije. Jedna od upotreba ovog kvasca je u pjenušcima. Svojstva Uvaferm BC:

- nezatno stvaranje spojeva koji vežu SO<sub>2</sub>;
- optimalna temperatura vrenja 14 – 34 °C;
- tolerancija alkohola do 21 vol.% kod dovoljne opskrbe hranjivim tvarima;
- ne stvara se sumporovodik (H<sub>2</sub>S);
- nezatno stvaranje hlapljivih kiselina;
- utjecaj na razgradnju kiselina je neutralan;
- 16,8 g šećera po litri daje 1 vol.% alkohola;
- dobra moć dominacije – kompetitivni faktor;
- brzi početak vrenja, snažna faza samog početka vrenja.

#### *Uvaferm CEG*

Korišten je za proizvodnju voćnih vina i za reduktivna bijela vina (Rizvanac, Graševina, Plemenka, Rajnski Rizling, Chardonnay). Vrenje ovim kvascem je lagano, uz nezatno pjenjenje, brzo se razvijaju poželjni aromatski spojevi. Svojstva Uvaferm CEG:

- tolerancija alkohola do 14 vol.%;
- započinjanje vrenja od 8°C (doziranje >20g/hl);
- nezatno stvaranje SO<sub>2</sub>;
- kod vrenja tropa voća jaki potencijal oslobađanja sokova – proteolitička aktivnost;
- ne stvara se sumporovodik (H<sub>2</sub>S);

- dobra tolerancija temperature (povoljno 15 do 20 °C, može i do 35 °C);
- pogodan za proizvodnju finih mjehurića pjenušca i visokokvalitetne voćne arome (Mousseux);
- neznatno stvaranje spojeva koji vežu SO<sub>2</sub>;
- nema pjenjenja;
- dugotrajan početak vrenja;
- ne stvaraju se hlapljive kiseline.

#### *Uvaferm GHM*

Prikladan za dobivanje balansiranih i harmoničnih vina s voćno-cvjetnim aromama (nema preveliku proizvodnju estera) te za vina koja se mogu dugo čuvati i odležavati na talogu nakon alkoholne fermentacije. Odlični rezultati ostvareni su na sorti Rajski Rizling te kod sorti hladnijeg podneblja. Svojstva Uvaferm GHM:

- fermentira do 14 vol.% alkohola;
- stvara malo SO<sub>2</sub>;
- kratka lag faza;
- slabo pjenu;
- optimalna temperatura vrenja 15-20 °C;
- stvara vrlo malo H<sub>2</sub>S;
- umjerena brzina fermentacije.

#### **3.2.3. Određivanje aromatskog profila**

Aromatski spojevi u vinima od mandarine određivani su pomoću plinskog kromatografa Agilent 7890B s masenim detektorom Agilent 5977A (Agilent Technologies, Santa Clara, SAD). Za uzorkovanje vina koristila se tehnika mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME), koja se temelji na upotrebi igle ispunjene punilom od polidimetilsiloksana-divinilbenzena (PDMS/DVB), debljine 65 mikrometara (µm) (Supelco, Bellefonte, SAD) koja čini stacionarnu fazu. U staklenu vijalu od 10 mL otpipetira se 5 mL uzorka (vina od mandarine) te doda 1 g NaCl kako bi se bolje ekstrahirali spojevi arome. U vijalu se doda i 10 µL internog standarda mirtenola čija je koncentracija 0,5 g/L. Vijala se zatim hermetički zatvori teflonskim čepom te se postavi u vodenu kupelj na magnetnoj miješalici sa grijačem. Provodi se zagrijavanje na 40

°C pet minuta kako bi se prostor iznad uzorka zasitio hlapljivim spojevima. Nakon toga se iznad vijale postavi SPME igla s punilom te se na punilo apsorbiraju spojevi arome kroz sljedećih 45 minuta. Nakon proteklog vremena igla se prenese u injektor plinskog kromatografa te dolazi do razdvajanja komponenata u koloni na bazi njihove hlapljivosti (Ivić, 2022).

#### **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.

Određivani su sljedeći aromatični spojevi:

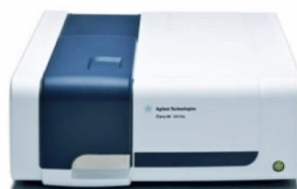
- alkoholi (metionol, izoamilni alkohol, heksan-1-ol, but-2,3-diol, oktan-1-ol, benzilni alkohol, 2-feniletanol, dodekanol);
- kiseline (oktano, oktanska, dekanska, palmitinska, laurinska, miristinska kiselina);
- esteri (etil-heksanoat, etil-laurat, heksil-salicilat, etil-4-hidroksibutanoat, dietil-sukcinat, etil-oktanoat, etil-sukcinat, fenetil-acetat, etil-dekanoat, etil-vanilat, etil-

stearat, etil-miristat, etil-pentadekanoat, metil-palmitat, dibutil-ftalat, etil-palmitat, diizobutil-ftalat, etil-linoleat, etil-oleat);

- hlapljivi fenoli (4-etilfenol, 2,4-di-tert-butilfenol, 4-etilgvajakol);
- terpeni (fenantren,  $\alpha$ -terpinolen,  $\beta$ -jonon,  $\beta$ -citronelol,  $\beta$ -damascenon,);
- karbonilni spojevi (geranil aceton, 4-propilbenzaldehyd, heksilcinamaldehyd, lili aldehyd).

### 3.2.4. Određivanje ukupnih polifenola

Određivanje ukupnih polifenola u vinima od mandarine određena je Folin-Ciocalteu metodom (Ough i Amerine, 1988). U epruvetu je otpipetirano 0,1 mL uzorka (vina od mandarine), 1,9 mL destilirane vode, 10 mL Folin-Ciocalteu reagens (3,3:100) i 8 mL otopine natrijevog karbonata (7,5% otopina). Nakon 2 do 20 sati mjeri se apsorbancija na spektrofotometru Cary 60 UV-Vid (Agilent Technologies, Santa Clara, SAD)(Slika 15) pri valnoj duljini od 765 nm. Odrađena je slijepa proba gdje je korištena destilirana voda umjesto 1 mL uzorka. Rezultati su izraženi preko kalibracijske krivulje galne kiseline u gramima galne kiseline/L uzorka (Ivić, 2022).



Slika 14 Spektrofotometar Cary 60 UV-Vid (Web 14)

### 3.2.5. Određivanje ukupnih flavonoida

Ukupni flavonoidi određuju se u vinu od mandarine spektrofotometrijski upotrebom  $\text{AlCl}_3$  kao reagensa (Kim i sur., 2003). U epruvetu otpipetira se 0,5 ml uzorka , 4 mL vode i 0,3 mL  $\text{NaNO}_2$  (5%). Nakon 5 minuta doda se u epruvetu 1,5 mL  $\text{AlCl}_3$  (2%). Nakon sljedećih 5 minuta doda se 2 mL  $\text{NaOH}$  (1 mol/L) i 1,7 mL vode. Apsorbancija se mjeri na 510 nm. Rezultati su izraženi preko kalibracijske krivulje katehina u gramima katehina/litri uzorka (g/L). Uzeta je srednja vrijednost iz tri mjerenja (Ivić, 2022).



### 3.2.6. Određivanje antioksidacijske aktivnosti

Antioksidacijska aktivnost vina od mandarine određena je prema četiri metode (DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC) radi najboljeg dokazivanja antioksidanasa u analiziranom uzorku. Svaka metoda bazira se na mehanizmu davanja vodikovog atoma – HAT mehanizam (eng. *hydrogen atom transfer*), donaciji elektrona – SET mehanizam (eng. *single electron transfer*) ili vezanju lipida na antioksidans i stvaranju lipid-antioksidacijskog kompleksa (Jakobek, 2007).

#### **DPPH**

DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil) je metoda koja se bazira na upotrebi reagensa DPPH koji je ljubičasto obojen i sadrži stabilni dušikov radikal (Popović, 2019). Kroz određeno vrijeme radikal reagira s uzorkom koji sadrži lipofilne, hidrofilne i slabe antioksidanse (Kedare i Singh, 2011). Postupak je sljedeći (Brand-Williams i sur., 1995): U epruvetu se otpipetira 0,1 mL uzorka vina od mandarine i 3 mL DPPH otopine (A<sub>517</sub>=1,0). Nakon petnaest minuta mjeri se apsorbancija na 517 nm. Rezultat se izražava preko kalibracijske krivulje Troloxa u  $\mu\text{mol TE}/100 \text{ mL}$ . Za svaki uzorak vina provode se tri mjerenja (Ivić, 2022).

#### **ABTS**

ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin sulfonska kiselina)) je metoda određivanja antioksidansa koja se temelji na reagiranju reagensa ABTS koji se prije upotrebe miješa sa kalijevim persulfatom što stvara zeleno oksidirani obojeni ABTS radikal (Gupta, 2015). ABTS je radikal koji može reagirati s velikim brojem antioksidansa u što se ubrajaju i flavonoidi i fenolne kiseline. Prema protokolu (Re i sur., 1999), za provedbu ove metode potrebno je otpipetirati 0,05 mL uzorka u epruvetu i dodati 3,2 mL ABTS reagensa koji je pripremljen dan prije (7,4 mmol/L otopina ABTS pomiješana je s 2,45 mmol/L otopinom kalijevog persulfata). Nakon što odstoji 95 minuta u mraku odredi se apsorbancija mjerenjem pri 734 nm. Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost tri uzastupna mjerenja i to preko kalibracijske krivulje Troloxa u  $\mu\text{mol TE}/100 \text{ mL}$  (Ivić, 2022).

#### **FRAP**

FRAP (eng. *ferric reducing/antioxidant power assay*) metoda bazira se na redukciji kompleksa trovalentnog željeza s piridil triazinom u željezo koje je dvovalentno. U reakciji s antioksidansima koji se nalaze u analiziranom uzorku stvara se plavo obojenje, a pH je 3,6. Ova metoda nije selektivna, jer željezo može reagirati s drugim tvarima koje mogu reducirati

željezo, a nisu antioksidansi, ali je brza. Reagens za analizu vina od mandarine dobiva se miješanjem 100 mmol/L otopine natrijevog acetata pri pH 3,6, 10 mmol/L otopine TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazin otopljenim u 40 mmol/L otopini HCl) i 10 mmol/L otopine FeCl<sub>3</sub> x 6H<sub>2</sub>O u omjeru 10:1:1 (Benzie i Strain, 1999). Nakon pripreve reagensa u epruvetu se otpipetira 0,1 mL uzorka, 1 mL destilirane vode i 3,0 mL FRAP reagensa i zagrijava na 37 °C. Uzorak jarko plavog obojenja mjeri se na 593 nm nakon petnaest minuta. Rezultati se izražavaju preko kalibracijske krivulje Troloxa (μmol TE/100 mL) kao srednja vrijednost mjerenja tri uzorka (Ivić, 2022).

#### **CUPRAC**

CUPRAC (eng. *cupric reducing antioxidant capacity*) metoda bazira se na redoks reakciji ovog reagensa sa antioksidansima pri čemu nastaje žuto obojenje otopine. Jedna od prednosti ove metode naspram ostalih već navedenih metoda je njena primjenjivost za hidrofilne i lipofilne antioksidanse, djeluje selektivno na antioksidativne spojeve bez reakcije s limunskom kiselinom i šećerima koji mogu utjecati na dobivene rezultate analiza, a obično su prisutni u namirnicama. Ova metoda može se koristiti za određivanje antioksidativne aktivnosti tiola, flavonoida i fenolne kiseline (Gupta, 2015). Kako bi se provela CUPRAC metoda, koriste se tri reagensa (Ozyurek i sur., 2011): 10 mmol/L otopine CuCl<sub>2</sub> x 2H<sub>2</sub>O; 7,5 mmol/L otopine neokuproina (Nc) i 1 mol/L otopine amonij acetata, pH 7,0. U epruvete se otpipetira 1,0 mL svakog korištenog reagensa, zatim 0,1 mL uzorka, 1,0 mL destilirane vode, a za slijepu probu umjesto uzorka koristi se destilirana voda. Nakon 30 minuta mjeri se apsorbancija na 450 nm. Rezultati su izražavaju preko kalibracijske krivulje Troloxa (μmol TE/100 mL) kao srednja vrijednost tri mjerenja (Ivić, 2022).

## **4. REZULTATI**

## 4.1. Tablični prikaz rezultata

**Tablica 1** Aromatski spojevi identificirani u vinima od mandarine, njihova retencijska vremena, retencijski indeksi te glavna mirisna nota

Spoj	RV (min)	RI	Mirisna nota	Spoj	RV (min)	RI	Mirisna nota
<b>Kiseline</b>				<b>Esteri</b>			
Octena kiselina	3,6218	722	masna	Izoamil-acetat	9,6205	872	voćna (banana)
Oktanska kiselina	29,9482	1204	masna	Etil-heksanoat	20,0226	1020	voćna
Nonanska kiselina	33,7498	1276	masna	Etil-4-hidroksibutanoat	22,3450	1060	karamela
Dekanska kiselina	38,0230	1378	masna	Etil-benzoat	28,2342	1170	voćna
Laurinska kiselina	42,1492	1562	masna	Dietil-sukcinat	29,1360	1188	voćna
Palmitinska kiselina	47,9164	2046	masna	Etil-oktanoat	29,8264	1201	voćna
<b>Alkoholi</b>				Fenetil-acetat	32,3490	1251	cvjetna
Izoamil alkohol	4,0886	743	voćna	Etil-9-decenoat	38,2829	1384	voćna
Butan-2,3-diol	6,4971	819	voćna	Etil-dekanoat	39,1803	1412	voćna
Metionol	18,6739	997	sumporasta	Etil-laurat	42,5472	1587	masna
Oktan-1-ol	24,2887	1089	biljna	Metil-dihidrojasmonat	43,4652	1651	cvjetna
2-feniletanol	26,6257	1136	cvjetna	Etil-miristat	45,5092	1815	masna
Dodekanol	40,5890	1476	masna	Izopropil-miristat	45,8643	1848	slab miris
<b>Aldehidi i ketoni</b>				Diizobutil-ftalat	46,0407	1864	slab miris
4-propilbenzaldehyd	33,1568	1266	slab miris	Dibutil-ftalat	47,0855	1963	slab miris
Geranil aceton	40,5063	1472	cvjetna	Etil-palmitat	47,3158	1984	masna
Lili aldehyd	41,9381	1550	cvjetna	Etil-linoleat	49,2436	2188	masna
Miristaldehyd	42,8153	1604	masna	Etil-oleat	49,2898	2193	masna
Heksilcinamaldehyd	45,0620	1777	cvjetna	Etil-stearat	49,5083	2216	masna
<b>Terpeni</b>				<b>Fenoli i laktioni</b>			
Cimen	19,6934	1014	citrusna	$\gamma$ -butirolakton	11,6853	898	orašasta
Linalool	25,7832	1118	citrusna	4-vinilfenol	31,2153	1229	vanilija
Trans-karveol	30,7524	1220	začin (kim)	4-vinilgvajakol	35,2449	1304	začin (curry)
$\beta$ -citronelol	31,3942	1232	citrusna	$\gamma$ -nonalakton	37,3488	1360	kokos
Karvakrol	34,9524	1298	začin (origano)	2,4-di-T-butilfenol	41,7113	1536	slab miris
$\beta$ -damascenon	38,0880	1379	voćna				
$\beta$ -jonon	40,6999	1481	cvjetna				

**Tablica 2** Koncentracije ( $\mu\text{g/L}$ ) kiselina u analiziranim vinima od mandarine s dodatkom različitih kvasaca

Spoj	U228	CM	BC	CEG	GHM
Octena kiselina		$65,9 \pm 0,9$	$66,5 \pm 0,5$		
Oktanska kiselina	$96,6 \pm 1,4$	$8,1 \pm 0,1$	$195,1 \pm 0,8$	$6,4 \pm 0,2$	$5,6 \pm 0,1$
Nonanska kiselina			$8,4 \pm 0,1$		
Dekanska kiselina	$65,5 \pm 2,6$	$92,1 \pm 1,0$	$176,3 \pm 0,9$	$21,7 \pm 0,9$	$11,5 \pm 0,1$
Laurinska kiselina	$18,9 \pm 0,2$	$10,9 \pm 0,1$	$19,8 \pm 0,1$	$5,2 \pm 0,2$	$7,5 \pm 0,1$
Palmitinska kiselina	$37,0 \pm 0,9$	$30,2 \pm 0,8$	$81,5 \pm 0,1$	$62,3 \pm 2,0$	$22,9 \pm 0,1$
<b>Ukupno</b>	<b><math>217,9 \pm 5,2</math></b>	<b><math>207,2 \pm 2,8</math></b>	<b><math>547,7 \pm 2,4</math></b>	<b><math>95,6 \pm 3,3</math></b>	<b><math>47,6 \pm 0,4</math></b>

Oznake: U228 – kvasac Uvaferm 228; CM – kvasac Uvaferm CM; BC – kvasac Uvaferm BC; CEG – kvasac Uvaferm CEG; GHM – kvasac Uvaferm GHM.

**Tablica 3** Koncentracije ( $\mu\text{g/L}$ ) alkohola u analiziranim vinima od mandarine s dodatkom različitih kvasaca

Spoj	U228	CM	BC	CEG	GHM
Izoamil alkohol	$10820,6 \pm 72,2$	$12540,4 \pm 58,5$	$9458,1 \pm 28,7$	$5062,2 \pm 29,3$	$5990,4 \pm 28,4$
Butan-2,3-diol	$301,2 \pm 6,4$	$215,9 \pm 2,2$	$322,7 \pm 11,7$	$247,4 \pm 4,5$	$14,9 \pm 0,2$
Metionol	$29,5 \pm 1,0$	$100,6 \pm 0,9$	$96,5 \pm 0,1$	$27,0 \pm 1,7$	
Oktan-1-ol	$22,7 \pm 0,1$	$30,0 \pm 0,1$	$6,9 \pm 0,1$	$5,8 \pm 0,1$	$9,6 \pm 0,1$
2-feniletanol	$1621,5 \pm 11,8$	$2499,0 \pm 19,9$	$4206,0 \pm 32,2$	$2050,6 \pm 11,0$	$1015,1 \pm 46,9$
Dodekanol	$58,6 \pm 0,1$	$146,1 \pm 1,2$	$100,1 \pm 0,8$	$41,4 \pm 2,0$	$31,7 \pm 0,8$
<b>Ukupno</b>	<b><math>12854,1 \pm 91,6</math></b>	<b><math>15532,1 \pm 82,9</math></b>	<b><math>14190,4 \pm 73,5</math></b>	<b><math>7434,6 \pm 48,7</math></b>	<b><math>7061,7 \pm 76,4</math></b>

Oznake: U228 – kvasac Uvaferm 228; CM – kvasac Uvaferm CM; BC – kvasac Uvaferm BC; CEG – kvasac Uvaferm CEG; GHM – kvasac Uvaferm GHM.

**Tablica 4** Koncentracije ( $\mu\text{g/L}$ ) aldehida i ketona u analiziranim vinima od mandarine s dodatkom različitih kvasaca

Spoj	U228	CM	BC	CEG	GHM
4-propilbenzaldehyd	$47,9 \pm 1,5$	$20,8 \pm 0,1$	$27,3 \pm 0,1$	$15,1 \pm 0,5$	$13,2 \pm 0,1$
Geranil aceton	$17,7 \pm 0,3$	$21,1 \pm 0,1$	$46,2 \pm 0,2$	$10,0 \pm 0,3$	$13,3 \pm 0,2$
Lili aldehyd				$6,5 \pm 0,4$	$6,1 \pm 0,2$
Miristaldehyd	$31,1 \pm 0,7$	$22,8 \pm 0,2$	$17,0 \pm 0,1$	$26,6 \pm 0,3$	$5,4 \pm 0,1$
Heksilcinamaldehyd	$39,0 \pm 0,9$	$20,2 \pm 0,2$	$16,7 \pm 0,1$	$18,7 \pm 0,7$	$10,9 \pm 0,2$
<b>Ukupno</b>	<b><math>135,8 \pm 3,5</math></b>	<b><math>84,9 \pm 0,5</math></b>	<b><math>107,1 \pm 0,4</math></b>	<b><math>77,0 \pm 2,2</math></b>	<b><math>49,1 \pm 0,7</math></b>

Oznake: U228 – kvasac Uvaferm 228; CM – kvasac Uvaferm CM; BC – kvasac Uvaferm BC; CEG – kvasac Uvaferm CEG; GHM – kvasac Uvaferm GHM.

**Tablica 5** Koncentracije ( $\mu\text{g/L}$ ) terpena u analiziranim vinima od mandarine s dodatkom različitih kvasaca

Spoj	U228	CM	BC	CEG	GHM
Cimen	14,0 ± 0,1	10,1 ± 0,1		9,8 ± 0,5	9,9 ± 0,3
Linalool	37,2 ± 1,1	28,4 ± 0,2	29,0 ± 0,1	20,3 ± 0,7	12,8 ± 0,1
Trans-karveol	72,9 ± 0,1	34,6 ± 1,2	32,3 ± 0,4	29,8 ± 0,7	33,0 ± 0,1
$\beta$ -citronelol	30,1 ± 0,2	24,2 ± 0,3	28,8 ± 0,7	21,1 ± 0,7	39,0 ± 0,8
Karvakrol	9,6 ± 0,4	4,9 ± 0,2	7,8 ± 0,1	4,8 ± 0,1	3,7 ± 0,2
$\beta$ -damascenon	9,1 ± 0,4	4,5 ± 0,1		3,6 ± 0,3	6,3 ± 0,1
$\beta$ -jonon			65,6 ± 0,2		
<b>Ukupno</b>	<b>172,9 ± 2,4</b>	<b>106,7 ± 2,0</b>	<b>163,5 ± 1,4</b>	<b>89,4 ± 3,0</b>	<b>104,8 ± 1,5</b>

Oznake: U228 – kvasac Uvaferm 228; CM – kvasac Uvaferm CM; BC – kvasac Uvaferm BC; CEG – kvasac Uvaferm CEG; GHM – kvasac Uvaferm GHM.

**Tablica 6** Koncentracije ( $\mu\text{g/L}$ ) estera u analiziranim vinima od mandarine s dodatkom različitih kvasaca

Spoj	U228	CM	BC	CEG	GHM
Izoamil-acetat	27,8 ± 0,6	407,2 ± 0,2	335,3 ± 2,0	141,2 ± 3,1	174,4 ± 1,5
Etil-heksanoat	362,0 ± 2,3	125,8 ± 0,1	112,0 ± 0,8	83,8 ± 2,1	160,0 ± 0,5
Etil-4-hidroksibutanoat	15,8 ± 0,1	17,3 ± 0,2	16,6 ± 0,1	3,8 ± 0,1	3,0 ± 0,1
Etil-benzoat	18,5 ± 0,2	15,6 ± 0,6	18,1 ± 0,2	8,5 ± 0,3	8,0 ± 0,1
Dietil-sukcinat	299,4 ± 1,9	168,7 ± 0,6	186,2 ± 1,1	83,9 ± 0,5	77,5 ± 0,6
Etil-oktanoat	595,3 ± 4,5	197,0 ± 1,6	476,1 ± 0,7	261,2 ± 7,0	365,7 ± 2,3
Fenetil-acetat	154,7 ± 0,8	323,3 ± 2,7	429,1 ± 5,1	179,7 ± 5,9	197,9 ± 0,6
Etil-9-decenoat	28,0 ± 0,6	66,1 ± 0,5	8,6 ± 0,2	7,0 ± 0,2	9,5 ± 0,1
Etil-dekanoat	138,9 ± 0,1	102,3 ± 1,7	256,4 ± 0,3	73,7 ± 2,9	108,7 ± 0,2
Etil-laurat	47,6 ± 1,3	48,0 ± 1,1	323,5 ± 7,5	18,1 ± 0,5	27,9 ± 0,1
Metil-dihidrojasmonat	6,2 ± 0,1	2,7 ± 0,2	6,1 ± 0,3	2,4 ± 0,1	1,7 ± 0,1
Etil-miristat	31,6 ± 0,6	25,0 ± 0,1	38,5 ± 1,1	24,6 ± 0,9	21,8 ± 0,9
Izopropil-miristat	8,3 ± 0,1	2,5 ± 0,1	5,0 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,3 ± 0,2
Diizobutil-ftalat	169,7 ± 1,2	65,3 ± 1,4	112,1 ± 0,7	60,4 ± 2,2	57,3 ± 0,1
Dibutil-ftalat	100,5 ± 0,1	36,2 ± 0,2	54,1 ± 1,0	40,3 ± 0,3	37,7 ± 0,1
Etil-palmitat	156,0 ± 0,9	120,8 ± 0,6	368,4 ± 2,8	124,7 ± 5,2	95,9 ± 0,4
Etil-linoleat	6,2 ± 0,1	8,5 ± 0,1	63,1 ± 1,4	24,1 ± 0,8	3,4 ± 0,1
Etil-oleat	26,3 ± 0,6	23,9 ± 1,2	83,2 ± 0,2	9,0 ± 0,3	12,6 ± 0,3
Etil-stearat	82,4 ± 0,1	43,9 ± 0,9	66,5 ± 0,5	65,2 ± 1,0	37,1 ± 0,1
<b>Ukupno</b>	<b>2275,1 ± 16,3</b>	<b>1800,0 ± 14,0</b>	<b>2958,8 ± 26,1</b>	<b>1214,3 ± 33,6</b>	<b>1402,3 ± 8,3</b>

Oznake: U228 – kvasac Uvaferm 228; CM – kvasac Uvaferm CM; BC – kvasac Uvaferm BC; CEG – kvasac Uvaferm CEG; GHM – kvasac Uvaferm GHM.

**Tablica 7** Koncentracije ( $\mu\text{g/L}$ ) fenola i laktona u analiziranim vinima od mandarine s dodatkom različitih kvasaca

Spoj	U228	CM	BC	CEG	GHM
$\gamma$ -butirolakton		$4,8 \pm 0,1$			
4-vinilfenol		$4,6 \pm 0,1$	$10,8 \pm 0,4$		$3,2 \pm 0,1$
4-vinilgvajakol	$181,0 \pm 2,7$	$265,8 \pm 2,3$	$362,5 \pm 0,2$	$8,0 \pm 0,2$	$149,8 \pm 1,1$
$\gamma$ -nonalakton	$3,7 \pm 0,4$	$1,9 \pm 0,1$	$6,0 \pm 0,2$	$4,8 \pm 0,2$	$2,0 \pm 0,1$
2,4-di-T-butilfenol	$274,7 \pm 4,9$	$796,4 \pm 1,0$	$750,1 \pm 6,9$	$518,7 \pm 0,1$	$369,3 \pm 6,4$
<b>Ukupno</b>	<b><math>459,4 \pm 8,0</math></b>	<b><math>1073,4 \pm 3,6</math></b>	<b><math>1129,4 \pm 7,7</math></b>	<b><math>531,5 \pm 0,5</math></b>	<b><math>524,3 \pm 7,5</math></b>

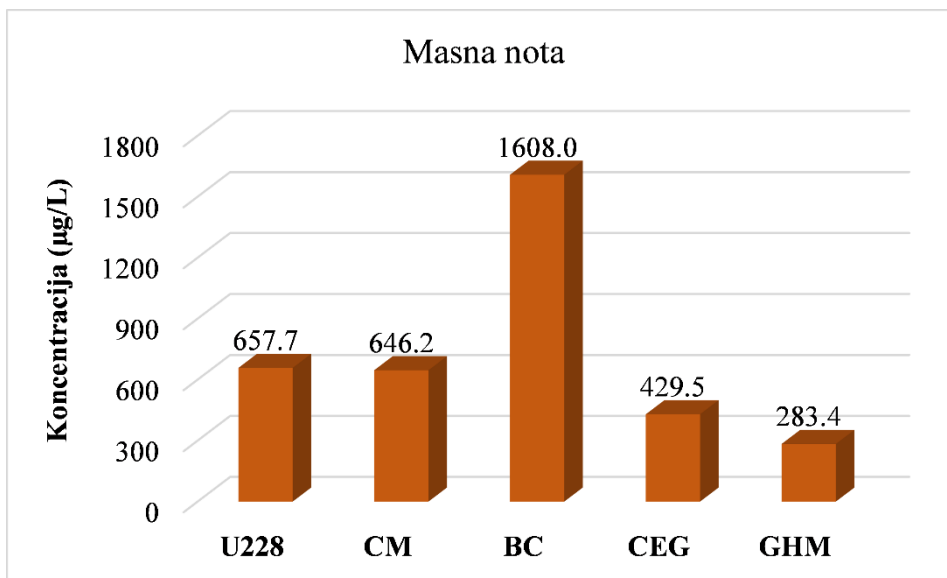
Oznake: U228 – kvasac Uvaferm 228; CM – kvasac Uvaferm CM; BC – kvasac Uvaferm BC; CEG – kvasac Uvaferm CEG; GHM – kvasac Uvaferm GHM.

**Tablica 8** Sadržaj ( $\text{mg/L}$ ) ukupnih polifenola i flavonoida te antioksidacijska aktivnost ( $\mu\text{mol}/100 \text{ mL}$ ) prema DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metodi u analiziranim vinima od mandarine s dodatkom različitih kvasaca

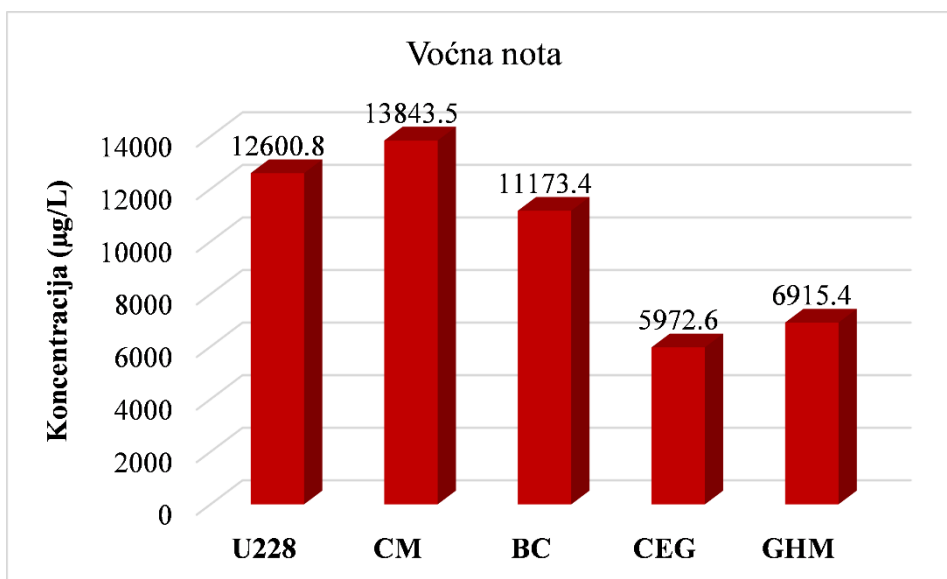
	U228	CM	BC	CEG	GHM
Polifenoli	$450,54 \pm 6,68$	$481,07 \pm 5,24$	$423,66 \pm 1,02$	$460,73 \pm 9,01$	$463,00 \pm 5,18$
Flavonoidi	$31,84 \pm 0,89$	$21,74 \pm 0,25$	$20,95 \pm 0,74$	$21,96 \pm 0,81$	$93,89 \pm 2,14$
DPPH	$0,35 \pm 0,04$	$0,34 \pm 0,04$	$0,32 \pm 0,04$	$0,40 \pm 0,01$	$0,37 \pm 0,02$
ABTS	$1,17 \pm 0,05$	$1,24 \pm 0,04$	$1,32 \pm 0,03$	$1,39 \pm 0,02$	$1,41 \pm 0,01$
FRAP	$0,07 \pm 0,02$	$0,08 \pm 0,01$	$0,07 \pm 0,03$	$0,07 \pm 0,02$	$0,07 \pm 0,02$
CUPRAC	$9,33 \pm 0,49$	$9,88 \pm 0,48$	$8,88 \pm 0,71$	$9,56 \pm 0,16$	$9,65 \pm 0,59$

Oznake: U228 – kvasac Uvaferm 228; CM – kvasac Uvaferm CM; BC – kvasac Uvaferm BC; CEG – kvasac Uvaferm CEG; GHM – kvasac Uvaferm GHM.

## 4.2. Grafički prikaz rezultata

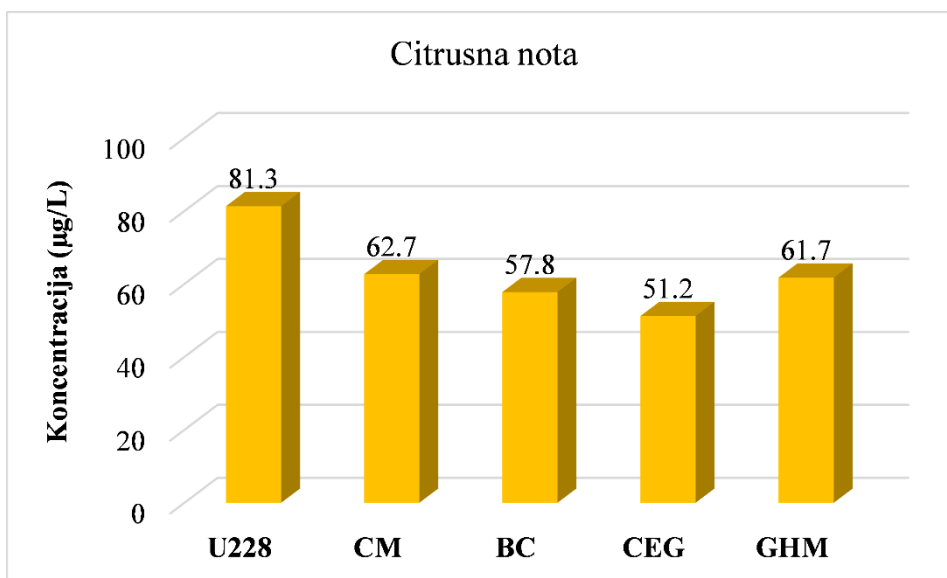


**Slika 15** Ukupna koncentracija (µg/L) spojeva koji doprinose masnoj aromatskoj noti u analiziranim vinima od mandarine s dodatkom različitih kvasaca. Oznake: U228 – kvasac Uvaferm 228; CM – kvasac Uvaferm CM; BC – kvasac Uvaferm BC; CEG – kvasac Uvaferm CEG; GHM – kvasac Uvaferm GHM.

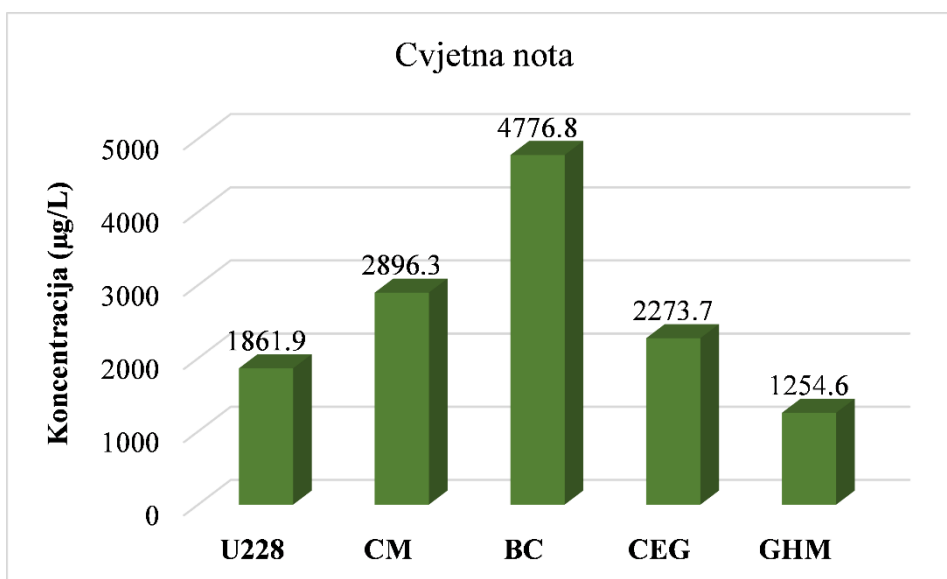


**Slika 16** Ukupna koncentracija (µg/L) spojeva koji doprinose voćnoj aromatskoj noti u analiziranim vinima od mandarine s dodatkom različitih kvasaca. Oznake: U228 – kvasac Uvaferm 228; CM – kvasac Uvaferm CM; BC – kvasac Uvaferm BC; CEG – kvasac Uvaferm CEG; GHM – kvasac Uvaferm GHM.

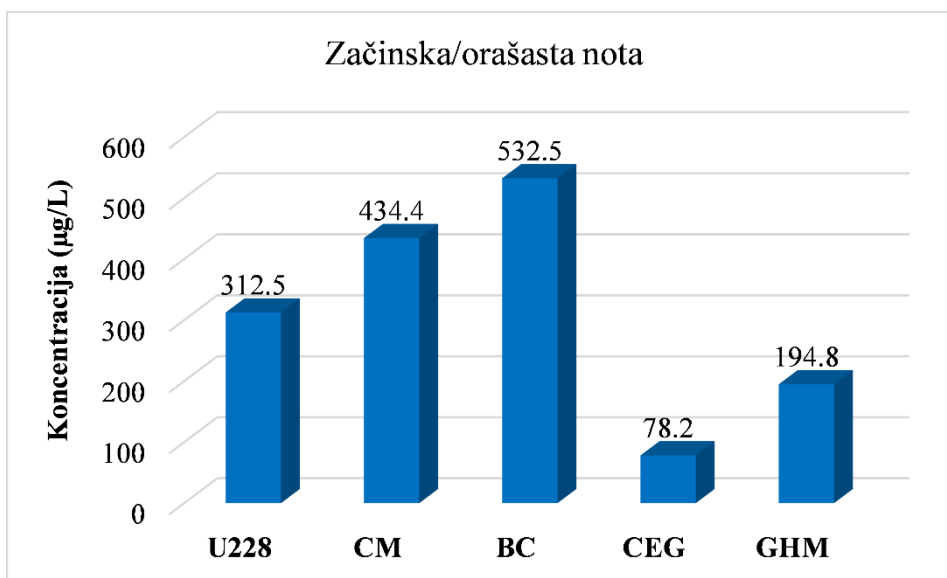




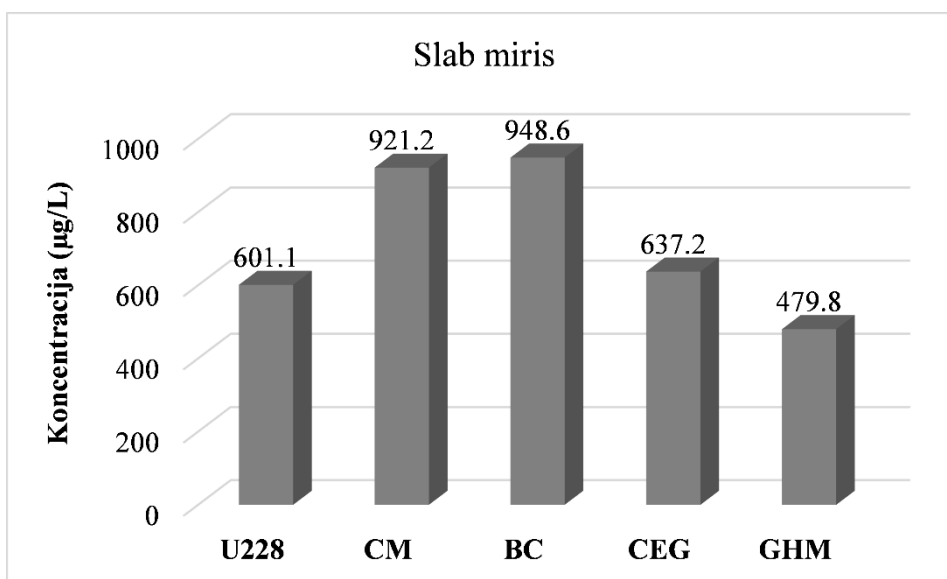
**Slika 17** Ukupna koncentracija (μg/L) spojeva koji doprinose citrusnoj aromatskoj noti u analiziranim vinima od mandarine s dodatkom različitih kvasaca. Oznake: U228 – kvasac Uvaferm 228; CM – kvasac Uvaferm CM; BC – kvasac Uvaferm BC; CEG – kvasac Uvaferm CEG; GHM – kvasac Uvaferm GHM.



**Slika 18** Ukupna koncentracija (μg/L) spojeva koji doprinose cvjetnoj aromatskoj noti u analiziranim vinima od mandarine s dodatkom različitih kvasaca. Oznake: U228 – kvasac Uvaferm 228; CM – kvasac Uvaferm CM; BC – kvasac Uvaferm BC; CEG – kvasac Uvaferm CEG; GHM – kvasac Uvaferm GHM.



**Slika 19** Ukupna koncentracija ( $\mu\text{g/L}$ ) spojeva koji doprinose začinskoj/orašastoj aromatskoj noti u analiziranim vinima od mandarine s dodatkom različitih kvasaca. Oznake: U228 – kvasac Uvaferm 228; CM – kvasac Uvaferm CM; BC – kvasac Uvaferm BC; CEG – kvasac Uvaferm CEG; GHM – kvasac Uvaferm GHM.



**Slika 20** Ukupna koncentracija ( $\mu\text{g/L}$ ) spojeva koji imaju slab ili neodređen miris u analiziranim vinima od mandarine s dodatkom različitih kvasaca. Oznake: U228 – kvasac Uvaferm 228; CM – kvasac Uvaferm CM; BC – kvasac Uvaferm BC; CEG – kvasac Uvaferm CEG; GHM – kvasac Uvaferm GHM.

## **5. RASPRAVA**

Rezultati istraživanja aromatskih i bioaktivnih komponenti u vinima od mandarine proizvedenih s dodatkom 5 različitih kvasaca (Uvaferm 228, Uvaferm CM, Uvaferm BC, Uvaferm CEG i Uvaferm GHM) prikazani su u **Tablicama 1-8** te **Slikama 15-20**. U svrhu jednostavnijeg objašnjenja rezultata, navedeni uzorci označeni su prema kvascima i to redom: U228, CM, BC, CEG i GHM.

### 5.1. Aromatski profil

U analiziranim vinima od mandarine s dodatkom različitih kvasaca identificirano je 48 aromatskih spojeva, a u **Tablici 1** su prikazana njihova retencijska vremena i retencijski indeksi koji su, osim masenog spektra, služili za identifikaciju pojedinih spojeva. Svi aromatski spojevi podijeljeni su u 6 osnovnih skupina: kiseline, alkoholi, aldehidi i ketoni, terpeni, esteri te fenoli i laktoni. Također, u navedenoj tablici su prikazane i glavne mirisne note pojedinih spojeva kojom doprinose ukupnom aromatskom profilu vina od mandarine. Prema mirisnim notama, svi aromatski spojevi podijeljeni su na 6 skupina, i to: masna, voćna, citrusna, cvjetna, začinska/orašasta i spojevi slabog mirisa (ili imaju neodređen miris ili jako nizak prag detekcije za osjetilo njuha, ali su detektirani na plinskom kromatografu).

**Tablica 2** prikazuje ukupne i pojedinačne koncentracije kiselina u aromatskom profilu analiziranih vina od mandarine s dodatkom različitih kvasaca. Identificirano je 6 kiselina: octena, oktanska, nonanska, dekanska, laurinska i palmitinska kiselina. Vidljivo je da je dodatak različitih kvasaca rezultirao različitim koncentracijama navedenih kiselina. Nonanska kiselina pronađena je jedino u uzorku BC u koncentraciji od 8,4 µg/L. Uzorci CM i BC sadržavali su 65,9 i 66,5 µg/L octene kiseline, koja nije detektirana u ostalim uzorcima vina od mandarine. Najviše koncentracije oktanske (195,1 µg/L), dekanske (176,3 µg/L) i palmitinske (81,5 µg/L) kiseline izmjerene su u uzorku BC, gdje je ujedno bila i najviša ukupna koncentracija kiselina (547,7 µg/L). Najnižu ukupnu koncentraciju kiselina sadržavao je uzorak GHM, 47,6 µg/L.

Kvantitativno najzastupljenija skupina spojeva su alkoholi, prikazani u **Tablici 3**. Viši alkoholi doprinose aromi vina ukoliko se nalaze u ukupnoj koncentraciji nižoj od 300 mg/L, dok u suprotnom, u višim koncentracijama mogu doprinijeti negativnoj aromi vina (Ivić, 2022). Najviše koncentracije su izmjerene za izoamil alkohol, i to od 5062,2 µg/L u uzorku CEG do 12540 µg/L u uzorku CM (u tom uzorku je i najviša ukupna koncentracija alkohola). Drugi najzastupljeniji alkohol je 2-feniletanol, čija je najviša koncentracija izmjerena u uzorku BC

(4206,0  $\mu\text{g/L}$ ), a najniža u uzorku GHM (1015,1  $\mu\text{g/L}$ ) gdje je bila i najniža ukupna koncentracija alkohola. Također, butan-2,3-diol je imao najnižu koncentraciju u navedenom uzorku GHM, 14,9  $\mu\text{g/L}$ , dok su ostali uzorci imali iznad od 215,9  $\mu\text{g/L}$  (CM) do 322  $\mu\text{g/L}$  (BC). Koncentracije ostalih alkohola nisu bile više od 100  $\mu\text{g/L}$ , a identificirani su metionol, oktan-1-ol i dodekanol. Metionol nije detektiran samo u uzorku GHM, a najviša koncentracija je bila u uzorku CM, 100,6  $\mu\text{g/L}$ .

Aldehidi i ketoni spadaju u skupinu karbonilnih spojeva koji doprinose oštroj voćnoj ili cvjetnoj aromi vina, ali su najčešće zastupljeni u koncentracijama nižim od koncentracija ostalih spojeva te se vrlo često ne ističu, ali značajno doprinose aromatskom profilu vina (Waterhouse i sur., 2016). U analiziranim uzorcima vina od mandarine s dodatkom različitih kvasaca identificirano je 5 karbonilnih spojeva (**Tablica 4**): 4-propilbenzaldehyd, geranil aceton, lili aldehyd, miristaldehyd, heksilcinamaldehyd. Lili aldehyd pronađen je samo u uzorcima CEG i GHM, u koncentracijama od 6,5 i 6,1  $\mu\text{g/L}$ . Uzorak U228 sadržavao je najviše koncentracije 4-propilbenzaldehyda, miristaldehyda i heksilcinamaldehyda, pa je taj uzorak ujedno imao i najvišu ukupnu koncentraciju karbonilnih spojeva (135,8  $\mu\text{g/L}$ ). Slijedi ga uzorak BC s 107,7  $\mu\text{g/L}$  ukupnih aldehyda i ketona, te s najvišom koncentracijom geranil acetona (46,2  $\mu\text{g/L}$ ) u odnosu na ostale uzorke. Uzorak GHM sadržavao je najnižu ukupnu koncentraciju aldehyda i ketona (49,1  $\mu\text{g/L}$ ).

**Tablica 5** prikazuje pojedinačne i ukupne koncentracije terpena u vinima od mandarine, spojeva koji su najviše zaslužni za karakterističnu aromu pojedine sorte. Njihova pojedinačna koncentracija je najčešće niža od 1 mg/L, ali su vrlo značajni za aromatski profil voćnih vina (Moreno i Peinado, 2012; Ivić, 2022). Iz rezultata je vidljivo da je najviša ukupna koncentracija terpena iznosila 172,9  $\mu\text{g/L}$ , i to u uzorku U228. Navedeni uzorak imao je i najviše koncentracije pojedinačnih terpena (cimena, linaloola, trans-karveola, karvakrola i  $\beta$ -damascenona). Iznimka je  $\beta$ -citronelol, čija je najviša koncentracija bila u uzorku GHM, te  $\beta$ -jonon koji nije detektiran niti u jednom uzorku, osim u uzorku BC (65,6  $\mu\text{g/L}$ ). Najniža ukupna koncentracija terpena izmjerena je u uzorku CEG (89,4  $\mu\text{g/L}$ ).

Najbrojnija skupina aromatskih spojeva u analiziranim uzorcima su bili esteri. Njihov utjecaj na ukupan aromatski profil je vrlo značajan, a oni se najčešće formiraju tijekom alkoholne fermentacije radom kvasaca, ali i tijekom dozrijevanja vina (Zoričić, 1996). Stoga, iz rezultata prikazanih u **Tablici 6** vidljivo je da je svaki upotrijebljeni kvasac svojim metabolizmom

sintetizirao jednake estere, ali su različite njihove koncentracije u uzorcima vina od mandarine. Identificirano je ukupno 19 estera, od kojih se kvantitativno najviše ističu izoamil-acetat, etil-heksanoat, dietil-sukcinat, etil-oktanoat, fenetil-acetat, etil-laurat te etil-palmitat, s koncentracijama višim od 200 µg/L u većini uzoraka. Najvišu ukupnu koncentraciju estera sadržavao je uzorak BC (2958,8 µg/L), u kojem su bile najviše koncentracije fenetil-acetata, etil-dekanoata, etil-laurata, metil-dihidrojasmonata, etil-miristata, etil-palmitata, etil-linoleata i etil-oleata, u usporedbi s ostalim uzorcima. Najviše koncentracije ostalih estera sadržavao je uzorak U228, s ukupnom koncentracijom estera od 2275,1 µg/L. Iznimka su izoamil-acetat, etil-4-hidroksibutanoat te etil-9-decenoat, čije su koncentracije bile najviše u uzorku CM. Najnižu ukupnu koncentraciju estera sadržavao je uzorak CEG (1214,3 µg/L).

U **Tablici 7** prikazani su hlapljivi fenoli i laktoni, spojevi koji su odgovorni za začinske, orašaste, dimne arome ili arome drveta. U vinima od mandarine s dodatkom različitih kvasaca identificirana su 2 laktona ( $\gamma$ -butirolakton i  $\gamma$ -nonalakton) i 3 fenola (4-vinilfenol, 4-vinilgvajakol i 2,4-di-T-butilfenol). Svi uzorci su sadržavali 4-vinilgvajakol (najviše uzorak BC, 362,5 µg/L),  $\gamma$ -nonalakton (najviše uzorak BC, 6,0 µg/L) i 2,4-di-T-butilfenol (najviše uzorak CM, 796,4 µg/L). Međutim, 4-vinilfenol detektiran je samo u uzorcima CM (4,6 µg/L) i BC (10,8 µg/L), dok je  $\gamma$ -butirolakton pronađen samo u uzorku CM (4,8 µg/L). Ukupno gledajući, najviše fenola i laktona izmjereno je u uzorku BC, 1129,4 µg/L.

S obzirom da svaki aromatski spoj ima glavnu mirisnu notu kojom doprinosi ukupnoj aromi vina, svi spojevi identificirani u analiziranim vinima od mandarine s dodatkom različitih kvasaca podijeljeni su u skupine koje imaju masnu, voćnu, citrusnu, cvjetnu, začinsku/orašastu notu te spojevi sa slabim mirisom. Na **Slikama 15-20** prikazane su ukupne koncentracije pojedinih aromatskih skupina u analiziranim uzorcima. Iz rezultata je vidljivo da u uzorku BC dominiraju spojevi s masnom, cvjetnom, začinskom/orašastom notom te spojevi koji imaju slab miris. Njihove ukupne koncentracije u tom uzorku su bile najviše u odnosu na ostale uzorke vina od mandarine, a iznosile su redom: 1608,0 µg/L, 4776,8 µg/L, 532,5 µg/L i 948,6 µg/L. Najvišu ukupnu koncentraciju spojeva s voćnom notom (13843,5 µg/L) imao je uzorak CM, dok onih sa citrusnom notom bilo najviše u uzorku U228 (81,3 µg/L). Uzorci CEG i GHM su se najmanje isticali kada su u pitanju aromatske skupine s navedenim mirisnim notama. Uspoređujući mirisne skupine, najvišu koncentraciju imala je skupina s voćnom notom, budući

da je u nju svrstan izoamil alkohol koji je imao najvišu koncentraciju od svih identificiranih aromatskih spojeva.

## 5.2. Bioaktivne komponente

U bioaktivne komponente vina svrstavaju se polifenoli i flavonoidi, čije su koncentracije u analiziranim vinima od mandarine s dodatkom kvasaca Uvaferm 228, CM, BC, CEG i GHM prikazane u **Tablici 8**. S obzirom da navedene bioaktivne komponente mogu djelovati i kao antioksidansi, u istoj tablici prikazani su rezultati DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC analiza za određivanje antioksidacijske aktivnosti u vinima.

Iz rezultata je vidljivo da svi analizirani uzorci imaju gotovo podjednake koncentracije polifenola, odnosno iznad 400 mg/L. Ipak, najvišu koncentraciju polifenola imao je uzorak CM (481,07mg/L), a najnižu uzorak BC (423,66 mg/L). Međutim, što se tiče flavonoida, uzorci CM, BC i CEG imali su neznatno više od 20 mg/L, uzorak U228 je imao 31,84 mg/L, dok je uzorak GHM imao 93, 89 mg/L flavonoida.

Antioksidacijska aktivnost analiziranih vina od mandarine određena je sa 4 različite metode kako bi što bolje prikazali antioksidacijski potencijal voćnog vina. S obzirom da su u ovom radu vina od mandarine proizvedena s različitim kvascima, iz rezultata se može zaključiti da tip kvasca nije značajno utjecao na antioksidacijsku aktivnost uzoraka, posebice one određene FRAP i CUPRAC metodom. U prosjeku, prema tim metodama, antioksidacijska aktivnost u vinima od mandarine iznosila je 0,08  $\mu\text{mol}/100\text{ mL}$  (FRAP) i 9,46  $\mu\text{mol}/100\text{ mL}$  (CUPRAC), bez značajne razlike između uzoraka s različitim kvascima. Prema DPPH i ABTS, vidljive su male razlike u antioksidacijskoj aktivnosti, s tim da je ona prema DPPH najveća bila u uzorku CEG (0,40  $\mu\text{mol}/100\text{ mL}$ ), a prema ABTS u uzorku CEG i GHM (1,39 i 1,41  $\mu\text{mol}/100\text{ mL}$ ).

## **6. ZAKLJUČCI**



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

- Primjena različitih kvasaca za fermentaciju soka od mandarine rezultirala je različitim aromatskim profilom vina od mandarine.
- Najbrojnija skupina aromatskih spojeva u svim vinima od mandarine bili su esteri, a najvišu koncentraciju su imali alkoholi.
- Vino od mandarine s dodatkom kvasca Uvaferm 228 imalo je najviše ukupne koncentracije terpena, aldehida i ketona te vrlo visoke koncentracije estera.
- Najvišu koncentraciju estera imalo je vino od mandarine s dodatkom kvasca Uvaferm BC koje je imalo i najviše koncentracije kiselina te vrlo visoke koncentracije alkohola.
- Vino od mandarine s dodatkom kvasca Uvaferm CM imalo je najviše koncentracije alkohola u aromatskom profilu.
- Vina od mandarine s dodatkom kvasaca Uvaferm CEG i Uvaferm GHM nisu se značajno isticali u aromatskom profilu u odnosu na ostale uzorke.
- Aromatska skupina spojeva s masnom, cvjetnom, začinskom/orašastom te spojevi sa slabim mirisom dominirali su u vinu od mandarine s dodatkom kvasca Uvaferm BC.
- Vino od mandarine s dodatkom kvasca Uvaferm CM imalo je najvišu koncentraciju spojeva s voćnom notom, a vino s dodatkom kvasca Uvaferm 228 najvišu koncentraciju spojeva sa citrusnom notom.
- Voćna nota je značajno dominirala u svim uzorcima, što je i očekivano za voćno vino, a izmjerene su i visoke koncentracije cvjetne i masne note.
- Tip kvasca je imao veći utjecaj na aromu vina od mandarine nego na bioaktivne komponente (polifenole i flavonoide) te antioksidacijsku aktivnost.
- Najvišu koncentraciju polifenola imalo je vino s dodatkom kvasca Uvaferm CM, a najvišu koncentraciju flavonoida vino s dodatkom kvasca Uvaferm GHM.
- Antioksidacijska aktivnost određena prema DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metodi bila je gotovo jednaka u svim vinima od mandarine s dodatkom različitih kvasaca.

## **7. LITERATURA**

- Addi, M., Elbouzidi, A., Abid, M., Tungmunnithum, D., Elamrani, A. i Hano, C. (2022) 'An overview of bioactive flavonoids from citrus fruits', *Applied Sciences*, 12(1), br. 29.
- Alpeza, I. (2008) 'Temelji kemijskog sastava vina', *Glasnik Zaštite Bilja*, 31(6), str. 143–150.
- Bayraktar, V.N. (2013) 'Organic acids concentration in wine stocks after *Saccharomyces cerevisiae* fermentation', *Biotechnologia Acta*, 6(2), str. 97–106.
- Belda, I., Ruiz, J., Esteban-Fernández, A., Navascués, E., Marquina, D., Santos, A. i Moreno-Arribas, M. (2017) 'Microbial Contribution to Wine Aroma and Its Intended Use for Wine Quality Improvement', *Molecules*, 22(2), br. 18.
- Benzie, I.F.F. i Strain, J.J. (1999) 'Ferric Reducing/Antioxidant Power assay: Direct Measure of Total Antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version for Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic Acid Concentration', *Methods in Enzymology*, 299, str. 15–27.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. i Berset, C. (1995) 'Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity', *LWT - Food Science and Technology*, 28, str. 25–30.
- Chidi, B.S., Bauer, F.F. i Rossouw, D. (2018) 'Organic acid metabolism and the impact of fermentation practices on wine acidity: a review', *South African Journal of Enology and Viticulture*, 39(2), str. 315–329.
- Duarte, W.F., Dias, D.R., Oliviera, J.M., Vilanova, M., Teixeira, J.A., e Silva, J.B.A. i Schwan, R.F. (2010) 'Raspberry (*Rubus idaeus* L.) wine: Yeast selection, sensory evaluation and instrumental analysis of volatile and other compounds', *Food Research International*, 43(9), str. 2303-2314.
- Ferenčić, D., Gluhčić, D. i Dudaš, S. (2016) 'Hranjiva vrijednost mandarina', *Glasnik zaštite bilja*, 3, str. 46-52.
- Fernández-Pachón, M., Villaño, D., García-Parrilla, M. i Troncoso, A. (2004) 'Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition', *Analytica Chimica Acta*, 513(1), str. 113–118.
- Galani-Nikolakaki, S., Kallithrakas-Kontos, N. i Katsanos, A. (2002) 'Trace element analysis of Cretan wines and wine products', *Science of The Total Environment*, 285(1–3), str. 155–163.
- Gamero Lluna A. (2011) 'Study of the production and release of aromas during winemaking carried out by different *Saccharomyces* species and hybrids', *Doktorski rad*. Universidad politecnica de Valencia, Valencia.
- Garrido, J. i Borges, F. (2013) 'Wine and grape polyphenols — A chemical perspective', *Food Research International*, 54(2), str. 1844–1858.
- Giovinazzo, G., Carluccio, M.A. i Grieco, F. (2019) 'Wine Polyphenols and Health', u Mérillon, J. i Ramawat, K. (ur.): *Bioactive Molecules in Food. Reference Series in Phytochemistry*. Bern, Switzerland: Springer Nature, str. 1135–1155.
- Gnilomedova, N.V., Anikina, N.S. i Gerzhikova, V.G. (2018) 'Profile of sugars in grape-wine system as the identifying indicator of the authenticity of wine products', *Foods and Raw Materials*, 6(1), str. 191–200.

- Gonçalves, B., Oliveira, I., Bacelar, E., Morais, M.C., Aires, A., Cosme, F., Ventura-Cardoso, J., Anjos, R. i Pinto, T. (2018) 'Aromas and Flavours of Fruits' u Vilela, A. (ur.) *Generation of Aromas and Flavours*. Vila Real: InTechOpen.
- Goold, H.D., Kroukamp, H., Williams, T.C., Paulsen, I.T., Varela, C. i Pretorius, I.S. (2017) 'Yeast's balancing act between ethanol and glycerol production in low-alcohol wines', *Microbial Biotechnology*, 10(2), str. 264–278.
- Gupta, D. (2015) 'Methods for determination of antioxidant capacity: A review', *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(2), str. 546–566.
- He, L., Yan, Y., Wu, M., Ke, L. (2024) 'Advances in the quality improvement of fruit wines: A review', *Horticulture*, 10(1), br. 93.
- Hodson, G., Wilkes, E., Azevedo, S. i Battaglione, T. (2017) 'Methanol in wine', *BIO Web of Conferences*, 9(5), br. 02028.
- Ivić, I., Kopjar, M., Jakobek, L., Jukić, V., Korbar, S., Marić, B., Mesić, J. i Pichler, A. (2021) 'Influence of Processing Parameters on Phenolic Compounds and Color of Cabernet Sauvignon Red Wine Concentrates Obtained by Reverse Osmosis and Nanofiltration', *Processes*, 9(1), br. 89.
- Ivić, I. (2022) 'Reverzna osmoza i nanofiltracija: utjecaj koncentriranja na bioaktivne komponente i arome crnog vina Cabernet Sauvignon', *Doktorska disertacija*, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek.
- Jackson, R.S. (2008) *Wine science: Principles and applications, third edition*. Burlington, London, San Diego: Academic Press, Elsevier Inc.
- Jakobek, L. (2007) 'Karakterizacija polifenola u voću i njihov utjecaj na antioksidacijsku aktivnost voća', *Doktorska disertacija*. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek.
- Kaleb, M. (2014) 'Razvoj uzgoja mandarina i ostalih agruma u dolini Neretve', *Agronomski glasnik*, 4(5), str. 219-238.
- Karlson, P. (1993) *Biokemija*. Zagreb: Školska knjiga.
- Kaur, G. i Sharma, S. (2018) 'Gas chromatography – A brief review', *International Journal of Information and Computing Science*, 5(7), str. 125–131.
- Kedare, S.B. i Singh, R.P. (2011) 'Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay', *Journal of Food Science and Technology*, 48(4): str. 412-422.
- Kim, D.O., Jeong, S.W. i Lee, C.Y. (2003) Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry* 81:321–326.
- Kolb, E.; Demuth, G., Schurig, U. i Sennewald, K. (2007) *Voćna vina: Proizvodnja u kućanstvu i obrtu*. Požega: ITD Gaudeamus.
- Kopjar, M. (2007) 'Utjecaj dodatka trehaloze na kvalitetu paste od jagoda', *Doktorska disertacija*. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek.
- Kosseva, M. R., Joshi, V. K., Panesar, P. S. (2017) *Science and technology of fruit wine production*. Elsevier Inc.: Academic Press.

- Lin, J., Massonnet, M. i Cantu D. (2019) 'The genetic basis of grape and wine aroma', *Horticulture Research*, 6(1), br. 81.
- Loscos, N., Hernandez-Orte, P., Cacho, J. i Ferreira, V. (2009) 'Comparison of the suitability of different hydrolytic strategies to predict aroma potential of different grape varieties', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6), str. 2468–2480.
- Maicas, S. i Mateo, J. (2016) 'Microbial Glycosidases for Wine Production', *Beverages*, 2(3), br. 20.
- Mantilla, R.D.V. (2018) 'Saccharomyces ludwigii, Control and Potential Uses in Winemaking Process', *Fermentation*, 4(1), br. 71.
- Michlmayr, H., Nauer, S., Brandes, W., Schumann, C., Kulbe, K.D., Del Hierro, A.M. i Eder, R. (2012) 'Release of wine monoterpenes from natural precursors by glycosidases from *Oenococcus oeni*', *Food Chemistry*, 135(1), str. 80–87.
- Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva (2022) 'Pravilnik o vinarstvu', *Narodne novine* 81/22. Dostupno na: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2022\\_07\\_81\\_1183.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2022_07_81_1183.html) (Pristupljeno: 9. 9. 2024.)
- Mirošević, N. i Karoglan Kontić, J. (2008) *Vinogradarstvo*. Zagreb: Nakladni zavod Globus.
- Moreno, J. i Peinado, R. (2012) *Enological chemistry*. Universidad de Cordoba, Cordoba, Spain: Elsevier Inc.
- Mottaleb, M.A., Meziani, M.J. i Islam, M.R. (2014) 'Solid-phase microextraction and its application to natural products', u Meyers, R.A. (ur.) *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation*. Chichester, Velika Britanija: John Wiley & Sons, Ltd.
- Muñoz-González, C., Pérez-Jiménez, M., Criado, C. i Pozo-Bayón, M.Á. (2019) 'Effects of Ethanol Concentration on Oral Aroma Release After Wine Consumption', *Molecules*, 24(18), br. 3253.
- Olesen, K., Felding, T., Gjermansen, C., Hansen, J. (2002) 'The dynamics of the *Saccharomyces carlsbergensis* brewing yeast transcriptome during a production-scale lager beer fermentation', *FEMS Yeast Research*, 2(4), str. 563-573.
- Oliveira, J.M., Oliveira, P., Baumes, R.L. i Maia, O. (2008) 'Changes in aroma characteristics of Loureiro and Avarinho wines during maturation', *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(8), str. 695–707.
- Ough, C.S. i Amerine, M.A. (1988) *Methods analysis of musts and wines*. New York, SAD: John Wiley & Sons Inc.
- Özyürek, M., Güçlü, K., Tütem, E., Bakan, K.S., Erçağ, E., Esin Çelik, S., Baki, S., Yildiz, L., Karaman, Ş. i Apak, R. (2011) 'A Comprehensive Review of CUPRAC Methodology', *Analytical Methods*, 3, str. 2439–2453.
- Pichert, E. (1996) *Grundlagen der Haushaltstechnik*. 2. Izdanje. Stuttgart: Eugen Ulmer.
- Pichler, A. (2011) 'Utjecaj dodataka i skladištenja na kvalitetu, reološka i termofizikalna svojstva paste od maline', *Doktorska disertacija*. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek.

- Pietruszka, M., Pielech-Przybylska, K. i Szopa, J.S. (2010) Synthesis of higher alcohols during alcoholic fermentation of rye mashes', *Food Chemistry and Biotechnology*, 74(1081), str. 51–64.
- Popović, K. (2019) 'Utjecaj koncentriranja membranskim procesima na tvari boje i arome soka od aronije', *Doktorska disertacija*. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. i Rice-Evans, C. (1999) 'Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay', *Free Radical Biology & Medicine*, 26, str. 1231–1237.
- Rentzsch, M., Wilkens, A. i Winterhalter, P. (2009) 'Non-flavonoid phenolic compounds', u Moreno-Arribas, M.V. i Polo, M.C. (ur.) *Wine Chemistry and Biochemistry*. New York, SAD: Springer, str. 509-527.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B. i Lonvaud, A.A. (2006) *Handbook of enology, volume 1. The microbiology of wine and vinifications*. Bordeaux, Francuska: John Wiley & Sons, Ltd.
- Skoog, D.A., West, D.M. i Holler, F.J. (1999) *Osnove analitičke kemije*. Zagreb: Školska knjiga.
- Swiegers, J. H., Pretorius, I. S. (2005) 'Yeast modulation of wine flavor', *Advanced Applied Microbiology*, 57(A), str. 131-175.
- Šantić, I. (2019) 'Utjecaj skladištenja na kakvoću vina od mandarine', *Diplomski rad*. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek..
- Tariba, B. (2011) 'Metals in Wine—Impact on Wine Quality and Health Outcomes', *Biological Trace Element Research*, 144(1–3), str. 143–156.
- Tsao, R. (2010) 'Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols', *Nutrients*, 2(12), str. 1231–1246.
- Varoquaux, P. i Wiley, R.C. (2017) 'Biological and Biochemical Changes in Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables', u Yildiz, F. i Wiley, R.C. (ur.) *Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables*. Baltimore, MD, SAD: Springer Science+Business Media LLC, str. 153–185.
- Waterhouse, A.L., Sacks, G.L. i Jeffery, D.W. (2016) *Aldehydes, Ketones, and Related Compounds. Understanding Wine Chemistry*. Chichester, Velika Britanija: John Wiley & Sons, Ltd.
- Yalcin, D., Ozcalik, O., Altiok, E. i Bayraktar, O. (2008) 'Characterization and recovery of tartaric acid from wastes of wine and grape juice industries', *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 94(3), str. 767–771.
- Yue, T.X., Chi, M., Song, C.Z., Liu, M.Y., Meng, J.F., Zhang, Z.W. i Li, M.H. (2014) 'Aroma characterization of Cabernet Sauvignon wine from the Plateau of Yunnan (China) with different altitudes using SPME-GC/MS', *International Journal of Food Properties* 18, str. 1584–1596.
- Zoričić, M. (1996) *Podrumarstvo*. Zagreb: Nakladni zavod Globus.

Web izvori:

Web 1:

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.kingtrade.hr%2Fstabilo-mandarine-75-cm%2F34159%2Fproduct%2F&psig=AOvVaw0dDs4NUuOFPZdDquTBbWVS&ust=1724876483283000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBQQjRxqFwoTCMiRufSDlogDFQAAAAAdAAAAABAE> (Pristupljeno 27.8.2024.)

Web 2:

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fpixnio.com%2Fhr%2Fmedia%2Fkrug-citrus-poprecni-presjek-detalj-voce&psig=AOvVaw2nwyAAcLSLAagZv1iHyK48&ust=1724877840973000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBQQjRxqFwoTCPjJre2ElogDFQAAAAAdAAAAABAE> (Pristupljeno 27.8.2024.)

Web 3:

[https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.vivre.hr%2Fp-4299445%2Fpresa-za-voce-i-vino-6-l&psig=AOvVaw0mT\\_QAERVhuDHTPkYQn4LM&ust=1724878862952000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBQQjRxqFwoTCOi9o92IlogDFQAAAAAdAAAAABAJ](https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.vivre.hr%2Fp-4299445%2Fpresa-za-voce-i-vino-6-l&psig=AOvVaw0mT_QAERVhuDHTPkYQn4LM&ust=1724878862952000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBQQjRxqFwoTCOi9o92IlogDFQAAAAAdAAAAABAJ) (Pristupljeno 27.8.2024.)

Web 4:

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.tehnologijahrane.com%2Fenciklopedija%2Frod-saccharomyces-2&psig=AOvVaw2IHKjratrH1qa2iBUz67Dw&ust=1724879459045000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBQQjRxqFwoTCNCA7PCKlogDFQAAAAAdAAAAABAE> (Pristupljeno 27.8.2024.)

Web 5:

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fbs.wikipedia.org%2Fwiki%2FEtanol&psig=AOvVaw1Ji0LHHaRNHIKSAObAGzkD&ust=1724966814031000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBQQjRxqFwoTCJDNw6PQmIlgDFQAAAAAdAAAAABAE> (Pristupljeno 28.8.2024.)

Web 6:

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fhr.wikipedia.org%2Fwiki%2FMetanol&psig=AOvVaw3NQC2Dx7iTfEzKNbIvhtl&ust=1724966976165000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBQQjRxqFwoTCKji5PbQmIlgDFQAAAAAdAAAAABAE> (Pristupljeno 28.8.2024.)

Web 7:

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fhr.wikipedia.org%2Fwiki%2FGlicerol&psig=AOvVaw1KWB-UkkjXdgmGy4E2tmJm&ust=1724967135312000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBQQjRxqFwoTCPCb4MLRmIgdFQAAAAAdAAAAABAE>  
(Pristupljeno 28.8.2024.)

Web 8:

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fsh.wikipedia.org%2Fwiki%2FAldehyd&psig=AOvVaw3asOBcDT8-ocN0Ma7uNioR&ust=1724968348696000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBQQjRxqFwoTCMCUzoTWmIgdFQAAAAAdAAAAABAK> (Pristupljeno 28.8.2024.)

Web 9:

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fbs.wikipedia.org%2Fwiki%2Fizopren&psig=AOvVaw0LtXa02ThpwC6Jd4f0SK8v&ust=1724968914688000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBQQjRxqFwoTCKC3i43YmIgdFQAAAAAdAAAAABAE> (Pristupljeno 29.8.2024.)

Web 10:

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fhr.wikipedia.org%2Fwiki%2FEsteri&psig=AOvVaw1pbgvEo-KrHoIeh6AAXJKr&ust=1725009392153000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBQQjRxqFwoTCNja0PrumYgDFQAAAAAdAAAAABAI> (Pristupljeno 29.8.2024.)

Web 11:

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fbs.wikipedia.org%2Fwiki%2Fflavonoid&psig=AOvVaw3bEkU2XzDz349jvjLwGS3Q&ust=1725012127525000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBQQjRxqFwoTCPj67Jj5mYgDFQAAAAAdAAAAABAE> (Pristupljeno 29.8.2024.)

Web 12:

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fdoiserbia.nb.rs%2Fft.aspx%3Fid%3D1820-39491103177D&psig=AOvVaw3VNvNNYV1g75mWbiu-fGBn&ust=1725020980607000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBQQjRxqFwoTCLCTn76amogDFQAAAAAdAAAAABAE> (Pristupljeno 29.8.2024.)



Web 13:

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.agilent.com%2Flibrary%2Fposters%2FPublic%2FVorstellung%2520Agilent%2520GC-MSD%25205977.pdf&psig=A0vVaw3Y3Dnm-W-PeEvZicz1OkFD&ust=1725023517591000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBQQjRxqFwoTCLih9MGjmogDFQAAAAAdAAAAABAE> (Pristupljeno 29.8.2024.)

Web 14:

<https://www.google.com/url?sa=i&url=http%3A%2F%2Fwww.alphachrom.hr%2Fproizvodi%2Fcary-60-uv-vis%2F&psig=A0vVaw2gWsGtLec5xiyL4IA7kv1Q&ust=1725023369928000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBQQjRxqFwoTCLij9fuumogDFQAAAAAdAAAAABAE> (Pristupljeno 29.8.2024.)