

# Utjecaj metode vinifikacije na profil tvari boje crnog vina

---

**Pranjeković, Lorena**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:167:415923>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-10-07**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**UTJECAJ METODE VINIFIKACIJE NA PROFIL TVARI BOJE  
CRNOG VINA**

**ZAVRŠNI RAD**

**LORENA PRANJKOVIĆ**

**Matični broj: 106**

**Split, rujan 2022.**



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**  
**PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ PREHRAMBENE**  
**TEHNOLOGIJE**

**UTJECAJ METODE VINIFIKACIJE NA PROFIL TVARI BOJE**  
**CRNOG VINA**

**ZAVRŠNI RAD**

**LORENA PRANJKOVIĆ**

**Matični broj: 106**

**Split, rujan 2022.**

**UNIVERSITY OF SPLIT**  
**FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY**  
**UNDERGRADUATE STUDY OF FOOD TECHNOLOGY**

**INFLUENCE OF RED WINE VINIFICATION PROCEDURE ON THE  
PROFILE OF RED WINE COLOR COMPONENTS**

**BACHELOR THESIS**

**LORENA PRANJKOVIĆ**

**Parent number: 106**

**Split, September 2022.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu  
Kemijско-tehnološki fakultet u Splitu  
Preddiplomski studij Prehrambene tehnologije

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija  
**Tema rada** je prihvaćena na 25. izvanrednoj sjednici Fakultetskog vijeća Kemijско-tehnološkog fakulteta  
**Mentor:** Izv. prof. dr. sc. Ivana Generalić Mekinić

### UTJECAJ METODE VINIFIKACIJE NA PROFIL TVARI BOJE CRNOG VINA

Lorena Pranjković, 106

#### Sažetak:

Crno vino je jedan od najstarijih poljoprivredno-prehrambenih proizvoda koji se dobiva procesom vinifikacije tijekom kojeg se iz pokožice bobica u grožđani sok ekstrahiraju tvari boje. Boja crnog vina je primarni vizualni kriterij po kojem se procjenjuje kategorija i kvaliteta vina, a ona potječe od fenolnih spojeva koji su najznačajnija grupa fitokemikalija u pokožici crnog grožđa. Glavni nosioci prepoznatljive crvene boje vina su antocijani, prirodni pigmenti koji reflektiraju svjetlost u rasponu od crvene do plave boje vidljivog spektra, a procesom maceracije prelaze u vino. U ovom radu se поблиže objašnjava klasična maceracija, termovinifikacija i maceracija uz dodatak pektolitičkih enzima te njihov utjecaj na profil tvari crnog vina. U uzorcima vina sakupljenim tijekom vinifikacije crnog grožđa *Babica* navedenim postupcima određeni su parametri boje (intenzitet boje (IB), nijansa boje (NB), optička gustoća (OG) te sadržaj antocijana, praćene su promjene istih i doneseni zaključci.

**Ključne riječi:** boja crnog vina, antocijani, tanini, klasična maceracija, termovinifikacija, maceracija uz dodatak pektolitičkih enzima.

**Rad sadrži:** 34 stranice, 18 slika, 3 tablice, 47 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

#### Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Prof. dr. sc. Olivera Politeo - predsjednik
2. Doc. dr. sc. Mladenka Šarolić - član
3. Izv. prof. dr. sc. Ivana Generalić Mekinić - mentor

**Datum obrane:** 26. rujana 2022.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen** u knjižnici Kemijско-tehnološkog fakulteta u Splitu, Ruđera Boškovića 35.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split  
Faculty of Chemistry and Technology in Split  
Undergraduate study of Food Technology

**Scientific area:** Biotechnical sciences  
**Scientific field:** Food Technology  
**Thesis subject** was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 25  
**Supervisor:** Ph. D. Ivana Generalić Mekinić, Associate Prof.

### INFLUENCE OF RED WINE VINIFICATION PROCEDURE ON THE PROFILE OF RED WINE COLOR COMPONENTS

Lorena Pranjković, 106

#### Abstract:

Red wine is one of the oldest food-agricultural products obtained by vinification during which color substances from grape skins are extracted into grape juice. Red wine color is used as the primary visual criterion to evaluate wine quality, and it is derived from phenolic compounds which are the most significant group of phytochemicals present in red grape skin. Main carriers of the red wine's distinguishable color are anthocyanins, natural pigments that reflect light in the range from red to blue color of visible spectrum, and they are transferred to the wine by maceration. This paper will closely explain traditional maceration, thermovinification, and pectolytic enzyme-assisted macerations and its influence on the profile of red wine colour substances. Samples are collected during the mentioned vinification procedures of the red grapes from the *Babica* variety and different color parameters (color intensity (CI), color hue (H) and optical density (OD)) and anthocyanin content are detected and discussed, as well as changes of these parameters during the vinification.

**Keywords:** Red wine color, anthocyanins, tannins, traditional maceration, thermovinification, pectolytic enzyme assisted maceration.

**Thesis contains:** 34 pages, 18 figures, 3 tables, 47 references

**Original in:** Croatian

#### Defence committee:

1. Olivera Politeo, Ph. D., Full Prof.
2. Mladenka Šarolić, Ph. D., Assistant Prof.
3. Ivana Generalić Mekinić, Ph. D., Associate Prof.

**Defence date:** September 26. 2022.

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** library of Faculty of Chemistry and Technology in Split, Ruđera Boškovića 35

*Završni rad je izrađen u Zavodu za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju,  
Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Ivane  
Generalić Mekinić u razdoblju od ožujka do rujna 2022. godine.*



## ZAHVALA

*Prvenstveno veliko hvala mojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Ivani Generalić Mekinić na strpljenju, uloženom trudu, vremenu i pomoći koje je pružila prilikom pisanja ovog završnog rada. Također, zahvaljujem se i povjerenstvu na izdvojenom vremenu za pregled rada.*

*Posebno zahvaljujem svojoj obitelji, prijateljima i kolegama na razumijevanju i podršci koju su mi pružili tijekom svih godina studiranja.*

## ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

Zadatak završnog rada je bio opisati tehnologiju proizvodnje crnog vina, pojedine tipove maceracije kao što su klasična maceracija, termovinifikacija i maceracija uz dodatak pektolitičkih enzima te tvari boje crnog vina. Cilj rada bio je odrediti parametre boje (intenzitet boje (IB), nijansa boje (NB), optička gustoća (OG) i udio crvene boje (UCB)) te sadržaj antocijana u uzorcima vina sorte *Babica* prikupljenim u različitim periodima vinifikacije, a nakon analize dobivenih rezultata donijeti su zaključci o utjecaju različitih metoda vinifikacije na profil tvari boje crnog vina.

## SAŽETAK

Crno vino je jedan od najstarijih poljoprivredno-prehrambenih proizvoda koji se dobiva procesom vinifikacije tijekom kojeg se iz pokožice bobica u groždani sok ekstrahiraju tvari boje. Boja crnog vina je primarni vizualni kriterij po kojem se procjenjuje kategorija i kvaliteta vina, a ona potječe od fenolnih spojeva koji su najznačajnija grupa fitokemikalija u pokožici crnog grožđa. Glavni nosioci prepoznatljive crvene boje vina su antocijani, prirodni pigmenti koji reflektiraju svjetlost u rasponu od crvene do plave boje vidljivog spektra, a procesom maceracije prelaze u vino. U ovom radu se pobliže objašnjava klasična maceracija, termovinifikacija i maceracija uz dodatak pektolitičkih enzima te njihov utjecaj na profil tvari crnog vina. U uzorcima vina sakupljenim tijekom vinifikacije crnog grožđa Babica navedenim postupcima određeni su parametri boje (intenzitet boje (IB), nijansa boje (NB), optička gustoća (OG) te sadržaj antocijana, praćene su promjene istih i doneseni zaključci.

**Ključne riječi:** boja crnog vina, antocijani, tanini, klasična maceracija, termovinifikacija, maceracija uz dodatak pektolitičkih enzima

## **SUMMARY**

Red wine is one of the oldest food-agricultural products obtained by vinification during which color substances from grape skins are extracted into grape juice. Red wine color is used as the primary visual criterion to evaluate wine quality, and it is derived from phenolic compounds which are the most significant group of phytochemicals present in red grape skin. Main carriers of the red wine's distinguishable color are anthocyanins, natural pigments that reflect light in the range from red to blue color of visible spectrum, and they are transferred to the wine by maceration. This paper will closely explain traditional maceration, thermovinification, and pectolytic enzyme-assisted macerations and its influence on the profile of red wine colour substances. Samples are collected during the mentioned vinification procedures of the red grapes from the Babica variety and different color parameters (color intensity (CI), color hue (H) and optical density (OD)) and anthocyanin content are detected and discussed, as well as changes of these parameters during the vinification.

**Keywords:** Red wine color, anthocyanins, tannins, traditional maceration, thermovinification, pectolytic enzyme assisted maceration.

# SADRŽAJ

<b>UVOD</b> .....	1
<b>1. OPĆI DIO</b> .....	2
1.1.    Grožđe i sorta <i>Babica</i> .....	2
1.2.    Tehnologija proizvodnje crnog vina .....	3
1.2.1.    Runjenje i muljanje .....	3
1.2.2.    Sumporenje .....	4
1.2.3.    Alkoholna fermentacija.....	4
1.2.4.    Maceracija.....	5
1.2.5.    Otakanje i tiještenje.....	5
1.2.6.    Tiho vrenje i pretakanje vina.....	5
1.2.7.    Dorada i njega vina .....	6
1.3.    Tipovi maceracije.....	7
1.3.1.    Klasična maceracija .....	8
1.3.2.    Termovinifikacija.....	8
1.3.3.    Maceracija uz dodatak pektolitičkih enzima .....	9
1.4.    Tvari boje crnog vina .....	10
1.4.1.    Antocijani.....	11
1.4.2.    Tanini .....	12
<b>2. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	14
2.1.    Uređaji i kemikalije.....	14
2.2.    Uzorci.....	14
2.3.    Određivanje parametara boje .....	15
2.3.1.    Određivanje intenziteta boje .....	15
2.3.2.    Određivanje nijanse boje.....	15
2.3.3.    Određivanje sastava boje.....	16
2.3.4.    Određivanje udjela crvene boje.....	16
2.4.    Određivanje koncentracije antocijana .....	16
<b>3. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	19
3.1.    Rezultati određivanja parametara boje vina .....	19
3.2.    Rezultati određivanja sadržaja antocijana u uzorcima vina sorte <i>Babica</i> .....	24
<b>4. ZAKLJUČCI</b> .....	29
<b>5. LITERATURA</b> .....	30

## UVOD

Vino je vrlo kompleksan, poljoprivredno-prehrambeni proizvod, dobiven od svježeg i za preradu pogodnog grožđa, potpunom ili djelomičnom alkoholnom fermentacijom masulja ili mošta. Crno vino se dobiva procesom vinifikacije koji uključuje maceraciju i fermentaciju masulja prilikom koje se ekstrahiraju tvari boje iz pokožice boba u groždani sok. Boja crnog vina je primarni vizualni kriterij po kojem se procjenjuje kvaliteta vina i vino svrstava u određenu kategoriju.

Tvari koji su nosioci prepoznatljive crvene boje vina su antocijani. To su prirodni pigmenti koji se ubrajaju u skupinu flavonoidnih spojeva, a nalaze se primarno u pokožici grožđa iz koje se ekstrahiraju procesom maceracije i prelaze u mošt, odnosno vino. Uz antocijane, polifenoli koji također utječu na organoleptička i fizikalno-kemijska svojstva vina su tanini. Taninske tvari daju gorčinu vinima, a osim što su nosioci okusa, sudjeluju i u enzimskim i neenzimskim reakcijama posmeđivanja.

Na profil tvari boje crnog vina bitno utječu primijenjeni čimbenici vinifikacije, a u ovom radu će se detaljnije opisati klasična maceracija, termovinifikacija i maceracija uz dodatak pektolitičkih enzima.

## 1. OPĆI DIO

### 1.1. Grožđe i sorta *Babica*

Grožđe je plod vinove loze koji se koristi u ljudskoj prehrani uglavnom svježe ili osušeno, ili se koristi kao sirovina za proizvodnju vina, alkoholnih i bezalkoholnih pića i brojnih drugih proizvoda. Za dobivanje vina koriste se plodovi vinove loze iz porodice Ampelideae, roda *Vitis* (1).

Sorta *Babica* je relativno mlada vinska sorta koja se uglavnom uzgaja na području Kaštela, a smatra se potomkom sorte *Plavac mali*. *Babica* se dugo smatrala sinonimom za poznatu hrvatsku sortu *Babić*, međutim, ampelografska i genetska istraživanja su potvrdila da su *Babica* i *Babić* dvije potpuno različite sorte. Genetskim istraživanjem je potvrđen jedinstven genetski profil *Babice* te je dokazano da se nigdje u svijetu ne uzgaja pod drugim imenom. Zbog svojih dobrih svojstava i otpornosti na bolesti, vodeća je sorta grožđa za proizvodnju različitih vrsta vina u vinogradima od Kaštela do Trogira (2,3,4).



Slika 1. Grozd Babice (5)

## **1.2. Tehnologija proizvodnje crnog vina**

Vino je kompleksan, poljoprivredno-prehrambeni proizvod, dobiven od svježeg i za preradu pogodnog grožđa, potpunom ili djelomičnom alkoholnom fermentacijom masulja ili mošta (6). Ono što čini glavnu razliku u procesu proizvodnje bijelih i crnih vina je činjenica da se crno vino dobiva procesom vinifikacije koja uključuje fazu maceracije odnosno kontakta grožđanog soka s krutim dijelovima grožđa (pokožicama, sjemenkama, peteljka) prilikom čega se iz njih ekstrahiraju tvari boje. Osim tvari boje, izdvajaju se i aromatske komponente te mineralne tvari (7).

Glavne jedinične operacije u postupku proizvodnje crnih vina su:

- Runjenje i muljanje
- Sumporenje
- Alkoholna fermentacija i maceracija
- Otakanje i tiještenje
- Tiho vrenje i pretakanje
- Dorada i njega vina

### **1.2.1. Runjenje i muljanje**

U tehnologiji proizvodnje crnog vina, primarna prerada grožđa uključuje postupak runjenja, nakon kojeg obično slijedi muljanje. Runjenje je proces odvajanja bobica grožđa od peteljkovine koja sadrži tanine koji negativno utječu na kvalitetu mošta, a samim time i na organoleptičke karakteristike vina dajući mu gorak i oporan okus. Muljanje je pak postupak gnječenja bobica grožđa s ciljem lakšeg izdvajanja grožđanog soka odnosno mošta. Najstariji način muljanja je postupak gnječenja grožđa gaženjem nogama, no danas se u tu svrhu uobičajeno koriste strojevi zvani muljače. Vrlo često prerađivači koriste kombinirani uređaj kojim se provode oba postupka predobrade grožđa, tzv. muljače-runjače (8)



### **1.2.2. Sumporenje**

Masulj se poslije provedenog muljanja obično sumpori u svrhu poboljšanja učinkovitosti maceracije te kako bi se spriječilo djelovanje oksidativnih enzima i štetnih mikroorganizama, kao što su divlji kvasci i nepoželjne bakterije. Sumpor se u vinarskoj praksi koristi kao dozvoljeno enološko sredstvo više od 500 godina i još uvijek je nezamjenjiv. Prije upotrebe sumpora vina su imala brojne mane i nedostatke; bila su kisela, oksidirana i sluzava. Sumporom se postiže inhibicija oksidativnih reakcija i enzima čime se sprječava tamnjenje mošta, a kasnije i vina. Sumpor utječe i na koagulaciju proteina pri taloženju zbog čega se vino lakše i brže bistri, a njegov dodatak također inhibira štetnu mikrofloru sprječavajući tako spontanu fermentaciju. Bitno je napomenuti da se proces sumporenja mošta i masulja crnog grožđa ne smije vršiti u tijeku vrenja, jer može doći do njegova zastoja ili ono može biti znatno otežano (9,10).

### **1.2.3. Alkoholna fermentacija**

Alkoholna fermentacija je biokemijski proces pretvorbe monosaharida u etanol i ugljikov dioksid u prisustvu kvasaca uz enzimski kompleks zimaza. Zimaza je smjesa enzima bez koje ne bi došlo do transformacije šećera te je ona temelj samog procesa. Nositelji procesa su kvasci, i to uglavnom kvasci iz roda *Saccharomyces*, koji kada dospiju u mošt bogat šećerom počinju se intenzivno razmnožavati i vršiti proces vrenja (11).

Proces alkoholne fermentacije uključuje glikolizu glukoze kojom nastaje pirogroždana kiselina koja ulazi u fazu alkoholne fermentacije gdje se djelovanjem enzima razlaže do alkohola, ugljikovog dioksida i sekundarnih metabolita čime zapravo i započinje proces nastanka vina (9).

Intenzivno formiranje kvašćeve biomase i razgradnja velike količine šećera tijekom vrenja dovodi do naglog porasta temperature mošta i oslobađanja znatne količine CO<sub>2</sub>. Sve navedeno dovodi do pjenjenja mošta i stanja koje se naziva "burna fermentacija" tijekom koje fermentira glavina prisutnih šećera, a nakon nje dolazi do smirivanja i usporavanja procesa (11).

#### **1.2.4. Maceracija**

Proces maceracije u proizvodnji crnih vina je nužan obzirom da ovim postupkom dolazi do ekstrakcije karakterističnih kemijskih spojeva boje i arome iz pokožice i ostalih čvrstih dijelova grožđa u mošt. Optimalna temperatura maceracije je od 20 do 25 °C, no ako je temperatura masulja u vrenju povišena, vrijeme maceracije mora biti kraće i obrnuto (9,12).

Maceracijom se istodobno ekstrahiraju tvari boje i arome, prekursori arome, pektini i mineralne tvari. Ovisno o njima, ali i o samoj vrsti vina koja se proizvodi, maceracija može trajati 2 do 3 dana pa sve do 28 dana odnosno, dok sve željene tvari ne pređu u vino (13).

#### **1.2.5. Otakanje i tiještenje**

Otakanje je odvajanje tekuće faze (mošt u vrenju ili mlado vino) od krute faze (tropa, komine). Kruti dijelovi (pokožica, sjemenke, peteljke) koje zaostanu u posudi za vrenje odlaze na tiještenje ili prešanje. Proces prešanja se zasniva na korištenju mehaničke sile za razliku od otakanja, koje se temelji isključivo na učinku gravitacijske sile. Postupak se provodi u više faza i vino koje se dobije svakim sljedećim prešanjem je sve trpkijeg okusa i intenzivnije boje. Prešanje se treba provoditi samo onoliko koliko je potrebno kako izdvojeni tanini ne bi narušili aromu dobivenog vina (15).

#### **1.2.6. Tiho vrenje i pretakanje vina**

Tiho vrenje je faza koja nastupa nakon "burne fermentacije" i traje oko mjesec dana, a popraćena je usporavanjem intenziteta fermentacije, snižavanjem temperature mošta i taloženjem odumrlih stanica kvasca. Tiho vrenje je i završno vrenje u kojem se obično razgradi i preostala količina šećera te se kao rezultat dobije suho vino nakon čega slijedi pretakanje vina (16).

Pretakanjem se vino odvaja od taloga, prozračuje te mu se uklanjaju neugodni mirisi. Ovaj postupak je jako bitan jer se njime vino odvaja od taloga koji može imati

negativan učinak na vino i njegovu kvalitetu. Pretok može biti otvoren ili zatvoren. Otvoreni pretok (bačva - otvorena posuda - bačva) se provodi uz prisustvo zraka u cilju odstranjivanja stranih mirisa iz vina i to neposredno po završetku vrenja. Prvi pretok je najčešće otvoren. Zatvoreni pretok (bačva - bačva) se provodi bez prisustva zraka, a obično se primjenjuje kod vina proizvedenih od bolesnog ili oštećenog grožđa. Koristi se i kod crnih i starijih vina te kod vina kod kojih se želi zadržati svježina i sortna aroma. Kako vino nije u kontaktu sa zrakom, primjenom zatvorenog pretoka izbjegava se oksidacija aromatičnih tvari i tvari boje vina. Drugi pretok je obično zatvoren i tijekom njega se dodatno osvježava mlado vino i priprema za daljnje dozrijevanje (9).

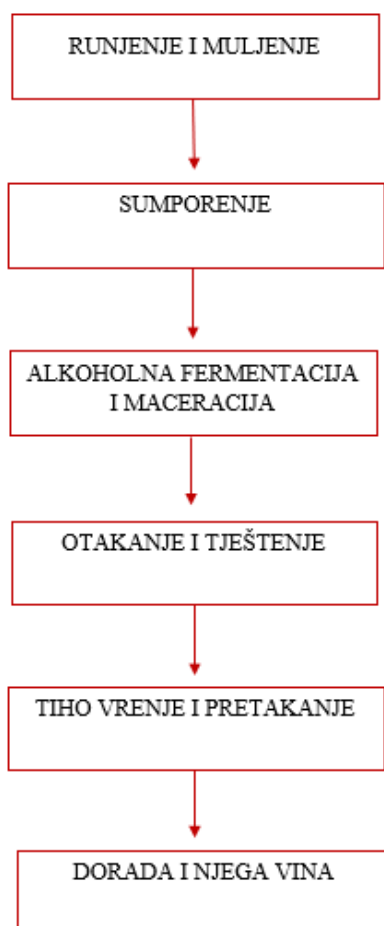
### **1.2.7. Dorada i njega vina**

Nakon završene alkoholne fermentacije, dobiveno mlado vino je mutno, s naglašenim mirisom na kvasac i bez potpuno razvijene sortne arome. Da bi se dobilo vino željenih karakteristika ono mora odležati neko vrijeme, odnosno dozrijeti što se odvija u drvenim bačvama ili inox posudama. Nakon završenog procesa dozrijevanja, vino se sumpori, bistri, filtrira, provodi se drugi pretok te se u konačnici puni u boce i pakira (17).

Bistrenje se provodi kako bi se uklonile eventualne mutnoće vina koje potječu od koloidno raspršenih čestica, a pri tome se koriste različita bistrila kao što su tanini, pentagel, sličijska zemlja te najkorišteniji bentonit i želatina (9).

Filtracijom se također uklanjaju nečistoće iz vina čime se postiže bolja kvaliteta. Filteri koji se koriste u vinarstvu, mogu biti naplavni i pločasti s naglaskom na pločaste zbog svoje jednostavnosti i niske cijene. Naplavni se obično koriste kod mladih vina za grubu filtraciju dok se pločasti koriste za finiju filtraciju.

Nakon provedbe navedenih postupaka, vino se puni u boce, pakira i skladišti u točno određenim podrumskim uvjetima koje obično uključuju nisku temperaturu i tamu (9).



Slika 2. Shematski prikaz tehnološkog procesa proizvodnje crnih vina

### 1.3. Tipovi maceracije

Postoje tri skupine postupaka maceracije obzirom na vrijeme njihova provođenja (18):

- Predfermentativni postupci (karbonska maceracija, termovinifikacija, kriomaceracija),
- Klasična maceracija (maceracija uz paralelni tijek fermentacije),
- Postfermentativni postupci (provode se kod crnih vina vrhunske kvalitete, a podrazumijevaju produljenje kontakta vina i pokožice (ponekad u kombinaciji s povećanjem temperature).

### **1.3.1. Klasična maceracija**

Klasična maceracija je najčešće primjenjivani tip maceracije u vinarskoj praksi i kod ovog postupka je najznačajniji faktor temperatura koja direktno utječe na ekstrakciju. Klasična maceracija se izvodi najčešće u temperaturnom rasponu od 20 do 25 °C jer pri višim temperaturama dolazi do značajnog pogoršavanja kvalitete vina. Vina dobivena maceracijom pri 25 °C imaju ugodnu boju s naglašenim voćnim notama, dok pri 28 °C dolazi do gubitka dijela arome zbog hlapljenja. Klasična maceracija se provodi uz otvorenu fermentaciju i tijekom nje se događa slaba ekstrakcija boje, odnosno samo se oko 40 % ukupnih antocijana ekstrahira iz pokožice, zbog čega se u praksi sve češće počinju koristiti drugi tipovi maceracije (1).

### **1.3.2. Termovinifikacija**

Termovinifikacija je predfermentativni postupak prerade crnog grožđa uz zagrijavanje dijela mošta s ciljem poboljšanja ekstrakcije fenolnih spojeva iz pokožice. Naziva se još i maceracija toplinom i odvija se u uređajima koji se nazivaju termovinifikatori. Proces termovinifikacije obično traje kraće od jednog sata. Termovinifikacijom se omogućava potpunija ekstrakcija antocijana, a proizvedena vina obično nisu pogodna za dulje dozrijevanje, a duljina dozrijevanja ovisi o sorti grožđa koje se prerađuje. Ovaj tip maceracije poznat je još od 18. stoljeća, ali se aktivno počeo primjenjivati tek u posljednjih trideset godina napretkom industrijskih procesa zagrijavanja i kontrole temperature sustava. Proces termovinifikacije se provodi u temperaturnom rasponu od 70 do 85 °C, a kao standard se obično koristi temperatura od 70 °C i vrijeme od 10 minuta. Termovinifikacija je alternativa za ekstrakciju tvari boje iz pokožice grožđa klasičnom maceracijom, a njena prednost leži u smanjenju mikrobnog opterećenja voća čime se smanjuje rizik od kontaminacije te je skraćeno vrijeme proizvodnje vina. Osim lakšeg prijelaza antocijana i tvari arome u vino, pozitivna odlika termovinifikacije je i inhibicija oksidaza te sprječavanje oksidacije. Ipak visoka temperatura inhibira i prirodne pektolitičke enzime što kasnije otežava bistrenje pa se obično pristupa dodavanju komercijalnih pektolitičkih pripravaka po završetku ove faze (18,19,20,21).

### **1.3.3. Maceracija uz dodatak pektolitičkih enzima**

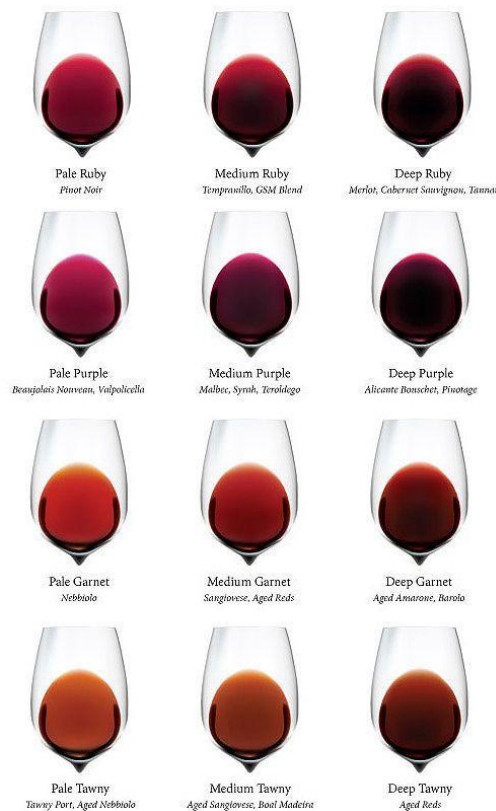
Da bi se poboljšala kakvoća crnih vina i ekstrakcija važnih komponenti tijekom maceracije u postupku proizvodnje vrlo često se primjenjuju komercijalni pripravci enzima. Enzimi su po svom kemijskom sastavu proteini koji kataliziraju različite biokemijske reakcije. Tijekom procesa proizvodnje vina dodaju se egzogeni enzimi kako bi pojačali ili nadomjestili aktivnost endogenih enzima grožđa. Oni djeluju na stanice pulpe i pokožice grožđa koje predstavljaju barijeru ekstrakciji polifenolnih tvari. Obzirom da je stanična stijenka najsnažnija barijera koja onemogućuje prolaz fenolnih tvari izvan stanice, a prvenstveno je izrađena od pektina, kako bi se ona mogla degradirati dodaju se upravo pripravci pektolitičkih enzima koji mogu biti u obliku praha, granula ili tekućine (22,23).

Pektolitički enzimi (pektinaze) su enzimi prirodno sadržani u grožđu, a time i u masulju, a njihova glavna funkcija je poticanje i ubrzavanje hidrolize pektina. Prirodni su produkt metabolizma bakterija, kvasaca, gljivica, insekata i biljaka. Osim što pospješuju ekstrakciju tvari boje i arome iz pokožice grožđa u mošt, odnosno mlado vino, povećavaju prinos te skraćuju i vrijeme potrebno za postizanje maksimalnog ekstrakcijskog prinosa za oko 40 h. Vina proizvedena uz dodatak pektolitičkih enzima imaju uglavnom veći intenzitet boje u odnosu na vina dobivena klasičnom vinifikacijom kao i ostale karakteristika boje i arome te očuvanje istih (24,25,26). Kako je danas u vinarstvu naglasak na proizvodnji vina visoke biološke vrijednosti s izraženim intenzitetom i stabilnošću boje, korištenje pektolitičkih enzima u maceraciji grožđa je temeljni enološki tretman čijom se uporabom postižu bolja kvalitativna i kvantitativna svojstva proizvedenog vina. Jedina mana uporabe enzima jest blago negativan učinak na ukupne fenole i antioksidativna svojstva vina. Ipak, zbog većeg broja prednosti nego li mana, pektolitički enzimi su i dalje najčešće primjenjivani komercijalni pripravci koji se koriste u vinifikaciji crnog grožđa (4,27,28).

#### 1.4. Tvari boje crnog vina

Boja je primarni vizualni kriterij po kojem potrošač procjenjuje hranu ili piće, a procjena boje vina se uglavnom veže uz njegovu aromu, okus te teksturu. Boja daje karakter vinu i na osnovu njezinih tonova i intenziteta, vino se svrstava u određenu kategoriju. Na intenzitet boje utječe više čimbenika, no u prvom redu to su sorta i zrelost grožđa, zdravstvena ispravnost grožđa, temperatura vrenja, te način i vrijeme trajanja fermentacije i maceracije (29).

Boja crnog vina može biti purpurno crvena, rubin crvena, granatno crvena ili narančasto crvena boja, a potječe od fenolnih spojeva iz skupine antocijana koji su najznačajnija grupa fitokemikalija prisutnih u crnom grožđu odnosno njegovoj pokožici. Fenoli su sekundarni biljni metaboliti koji osim što su nosioci boje, odgovorni su i za aromu, trpkost te fizikalno – kemijsku i biološku stabilizaciju vina (18).

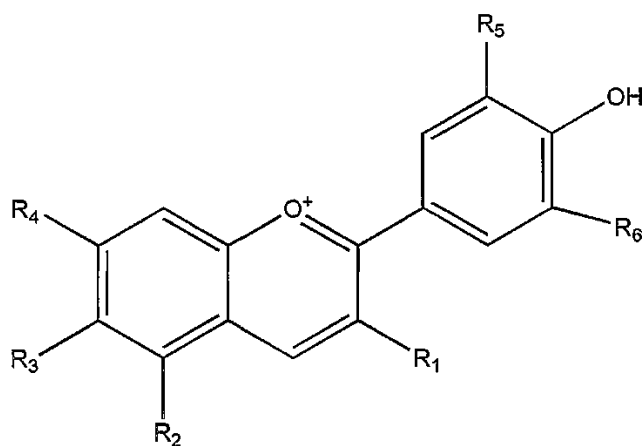


Slika 3. Nijanse boja crnog vina (30)

Glavni fenoli u vinu dijele se na neflavonoide i flavonoide. U crnom vinu u znatno većoj mjeri su zastupljeni flavonoidi, dok u bijelom vinu dominiraju neflavonoidi. U flavonoide se ubrajaju flavan-3-oli koji u vino dospijevaju iz sjemenki ili peteljki grožđa, a odgovorni su za gorak i trpak okus vina. Glavni flavonoidni spojevi zaslužni za intenzivnu crvenu boju vina su antocijani, a ako je riječ o starenju vina i mijenjanju boje u žuto-crvenu, glavnu ulogu imaju tanini (17,31).

### 1.4.1. Antocijani

Antocijani su prirodni pigmenti topljivi u vodi koji reflektiraju svjetlost u rasponu od crvene do plave boje vidljivog spektra (32), a ubrajaju se u skupinu flavonoidnih spojeva. Primarno se nalaze u pokožici grožđa iz koje procesom maceracije prelaze u mošt, odnosno u vino. Kemijski gledano, uglavnom su prisutni kao glikozidi (vezani sa šećerom), obično s glukozom, što povećava njihovu topljivost i stabilnost. Kiselom hidrolizom oslobađa se aglikon-flavilium kation (antocijanidini), koji sadrži konjugirane dvostruke veze zbog kojih ljudsko oko vidi pigment crvene boje (33,34,35).



Slika 4. Strukturna formula antocijana (36)

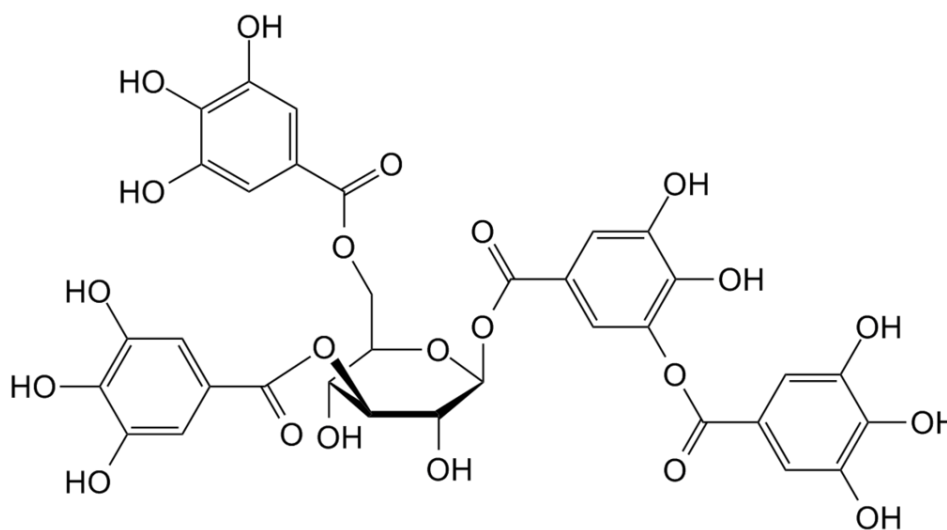
U crnom grožđu prisutni su uglavnom antocijani, dok se tijekom alkoholne fermentacije znatno povećava udio antocijanina (32). U prirodi antocijani dolaze u 20-



tak oblika, od kojih su u crnom vinu prisutni samo peonidin, malvidin, delfinidin, cijanidin te petunidin. Od njih je malvidin, kao malvidin-3-O-glukozid, u grožđu prisutan u najvećoj koncentraciji zbog čega se smatra glavnim pigmentom odgovornim za specifičnu crvenu boju vina (33).

#### 1.4.2. Tanini

Tanini su polifenolni spojevi koji nastaju polimerizacijom elementarnih fenolnih molekula. U prisutnosti proteina imaju mogućnost vezanja i taloženja istih što bitno utječe na procese bistrenja i taloženja u vinu. Tanini inhibiraju enzime spajanjem s njihovom proteinskom frakcijom. Kako bi se kompleks s proteinom održao stabilnim, fenolne molekule moraju biti relativno velike kako bi se vezale za aktivna mjesta (17,37).



Slika 5. Strukturna formula taninske kiseline – vrsta tanina (38)

Tanini mogu potjecati iz peteljkovine, ali u vino uglavnom dopijevaju iz pokožice i sjemenki. Taninske tvari iz sjemenke daju gorčinu vinima, dok one iz kože donose okus trpkosti i oporosti. Iz navedenog je očito da ovi spojevi bitno utječu na organoleptička i fizikalno-kemijska svojstva vina. Osim što su nosioci okusa i što sudjeluju u taloženju bjelančevina, tanini učestvuju i u enzimskim i neenzimskim

reakcijama posmeđivanja gdje u kontaktu sa kisikom iz zraka oksidiraju u tamno-crvene spojeve (13,14,39).

Općenito vrijedi da crna vina sadrže veću količinu tanina nego bijela vina i da oni određuju stabilnost i intenzitet boje mladih, a posebno starih vina. Starenjem vina koncentracija antocijana se bitno smanjuje i ulogu nosioca boje starih crnih vina preuzimaju upravo tanini (39).

## 2. EKSPERIMENTALNI DIO

### 2.1. Uređaji i kemikalije

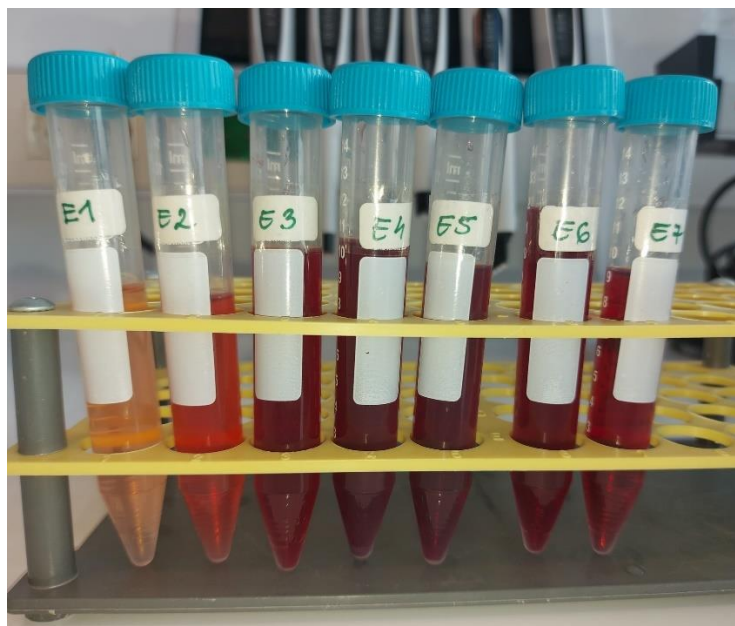
Spektrofotometrijska određivanja provedena u ovom istraživanju urađena su na spektrofotometru SPECORD 200 Plus, Edition 2010 (AnalytikJena AG, Jena, Njemačka). Korištena otapala i reagensi bili su potrebne analitičke čistoće, a proizvođači istih su Kemika (Zagreb, Hrvatska) i Sigma-Aldrich GmbH (St. Louis, Missouri, SAD).



Slika 6. Spektrofotometar SPECORD 200 Plus

### 2.2. Uzorci

U radu su korišteni uzorci prikupljeni tijekom vinifikacije grožđa sorte *Babica* različitim postupcima: klasičnom maceracijom, termovinifikacijom te vinifikacijom uz dodatak pektolitičkih enzima. Za svaku metodu vinifikacije urađeno je uzorkovanje tijekom prvih 5 dana vinifikacije (oznake od 1 do 5 predstavljaju početne dane maceracije) te nakon prvog (uzorak 6) i drugog pretoka (uzorak 7). Bitno je napomenuti da je vinifikacija uz dodatak pektolitičkih enzima provedena uz dodatak enzima Vinoxym Vintage.



Slika 7. Uzorci vina sorte *Babica* prikupljeni tijekom vinifikacije uz dodatak pektolitičkih enzima

### 2.3. Određivanje parametara boje

#### 2.3.1. Određivanje intenziteta boje

Intenzitet boje (**IB**) predstavlja količinu boje i računa se preko formule (18):

$$\mathbf{IB = Abs\ 420\ nm + Abs\ 520\ nm + Abs\ 620\ nm}$$

#### 2.3.2. Određivanje nijanse boje

Nijansa boje (**NB**) predstavlja razvoj boje prema narančastoj nijansi, a računa se kao omjer apsorbancije kod 420 nm i 520 nm, prema formuli (18):

$$\mathbf{NB = Abs\ 420\ nm / Abs\ 520\ nm}$$

### 2.3.3. Određivanje sastava boje

Sastav boje se izražava kao optička gustoća (**OG**) i predstavlja doprinos sve tri komponente ukupne boje; plave (pri 620 nm), crvene (pri 520 nm) i žute (pri 420 nm). Udio pojedinih komponenti boje u ukupnoj boji izražava se u postotcima (%), a postotak učešća pojedinih komponenti boje računa se prema sljedećim formulama (18):

$$\text{OG 420 (\%)} = (\text{Abs 420nm} / \text{IB}) \times 100$$

$$\text{OG 520 (\%)} = (\text{Abs 520 nm} / \text{IB}) \times 100$$

$$\text{OG 620 (\%)} = (\text{Abs 620 nm} / \text{IB}) \times 100$$

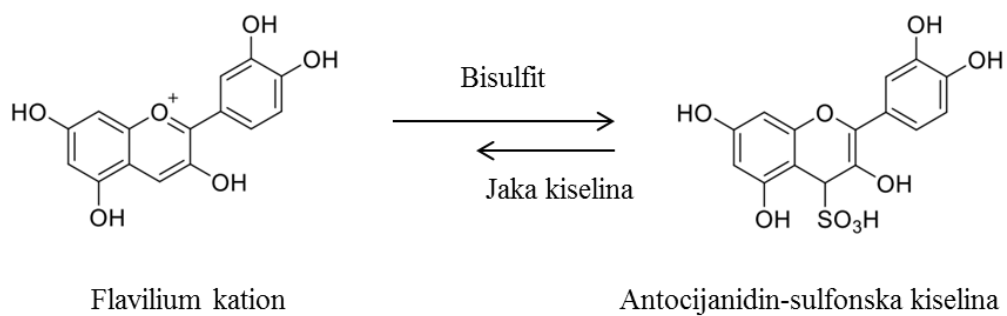
### 2.3.4. Određivanje udjela crvene boje

Udio crvene boje (UCB) u vinu računa se pomoću formule (18):

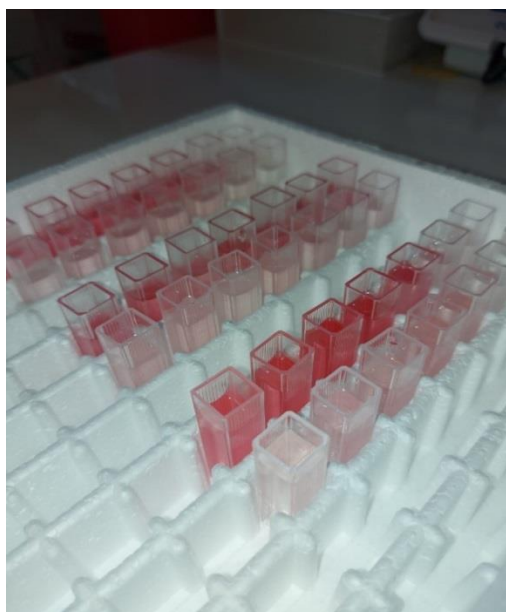
$$\text{UCB (\%)} = \{ \text{Abs 520 nm} - [(\text{Abs 420 nm} + \text{Abs 620 nm}) / 2] \} \times 1 / \text{Abs 520 nm} \times 100$$

## 2.4. Određivanje koncentracije antocijana

Postupak određivanja koncentracije monomernih antocijana se temelji na metodi bisulfitnog izbjeljivanja (engl. *bisulfite bleaching*) koja se odvija pri niskoj pH vrijednosti medija (40). Kod ove metode se kao reagens najčešće koristi otopina natrijeva disulfita, a na temelju smanjenje absorbancije nakon izbjeljivanja antocijana se može odrediti njihova koncentracija (41).



Slika 8. Reakcije koje se događaju kod metode određivanja antocijana metodom bisulfitnog izbjeljivanja (42)



Slika 9. Slijepa proba (obojeni uzorci) i uzorci nakon dodatka bisulfitna (izbjeljeni uzorci)

**Reagensi:**

- 0,1% otopina HCl u etanolu – zakiseljeni etanol
- 2% -tna otopina HCl
- 15% -tna otopina natrijeva disulfita ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ )

**Postupak:**

U kivetu se otpipetira 0,1 mL uzorka vina kojem se doda 0,1 mL 0,1%-tne otopine HCl u 95 %- tnom etanolu i 2 mL 2 %-tne otopine HCl. Za svaki uzorak se radi i slijepa proba kod koje se umjesto otopine disulfita doda isti volumen destilirane vode (0,88 mL). Sadržaj u kiveti se izmiješa staklenim štapićem i nakon 20 minuta se izmjeri absorbancija uzorka pri valnoj duljini od 520 nm. Koncentracija antocijana se izražava preko količine standarda malvidin-3-glukozida (M-3-gl) u miligramima po litri (mg/L) prema jednadžbi:

$$c \text{ (mg/L)} = A/e \times (\text{MW}) \times (\text{F})$$

c - masena koncentracija pigmenta ( mg/L )

A - razlika absorbancije slijepe probe i uzorka

e - molarna absorbancija 1 M otopine malvidin-3-glukozida = 28,000

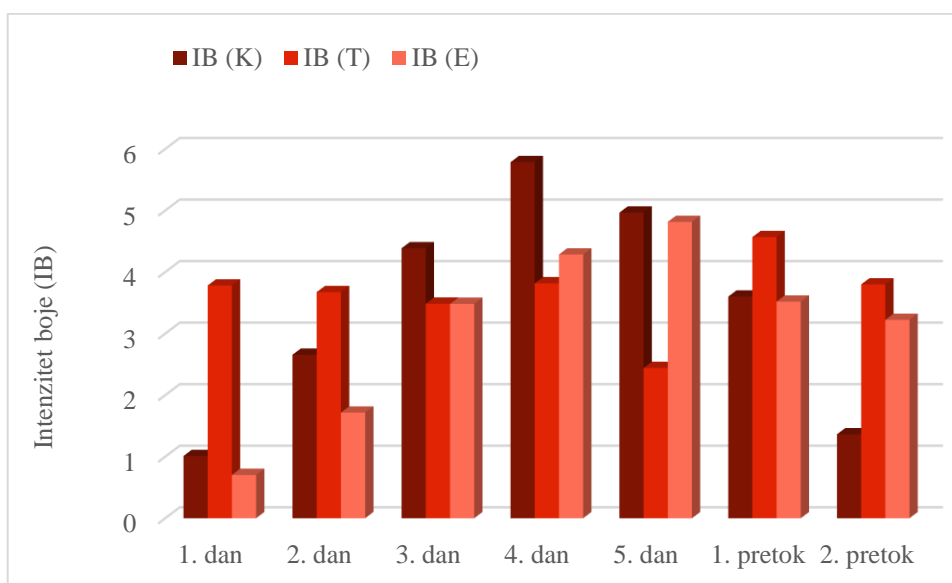
MW - molarna masa malvidin-3-glukozida = 529

F - faktor razrjeđenja = 30,8 .

### 3. REZULTATI I RASPRAVA

#### 3.1. Rezultati određivanja parametara boje vina

Parametri boje vina određeni su spektrofotometrijski, a dobiveni rezultati prikazani su na slikama 10 – 15.



Slika 10. Grafički prikaz promjene intenziteta boje (IB) vina u uzorcima sorte *Babica* pripremljeni postupkom klasične maceracije (K), termovinifikacije (T) i maceracije uz dodatak pektolitičkih enzima (E)

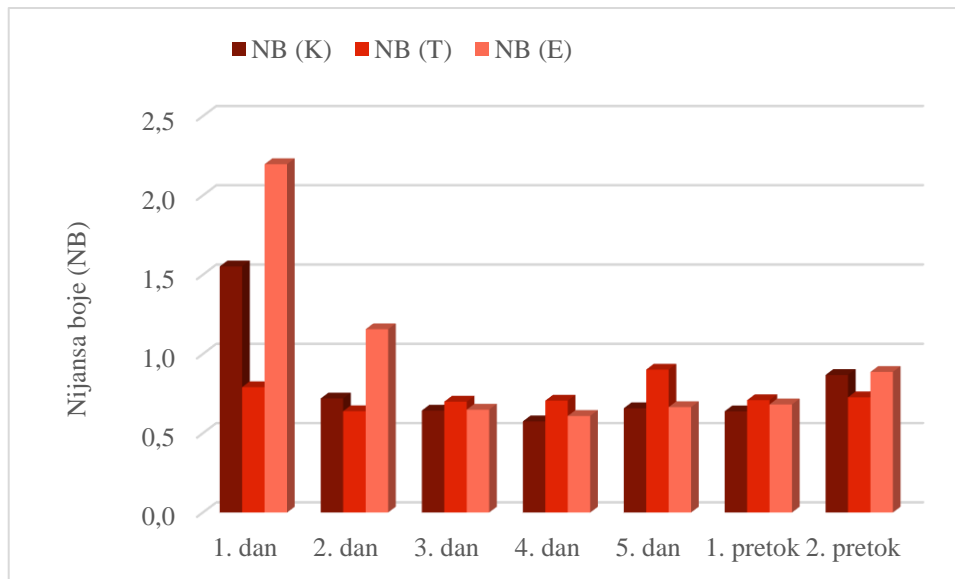
Na osnovu grafičkog prikaza (slika 10) vidljiv je skoro kontinuirani porast intenziteta boje (IB) kod klasične maceracije i maceracije uz dodatak pektolitičkih enzima tijekom prva četiri dana maceracije, dok je u petom danu uzorkovanja zabilježen blagi pad intenziteta boje kod uzorka pripremljenog korištenjem enzima, što nije bio slučaj kod uzorka klasične vinifikacije gdje je vrijednost dodatno porasla. Važno je primijetiti da je klasična vinifikacija u svim uzorkovanjima prvih 5 dana pokazala znatno više vrijednosti intenziteta boje.



Ipak, i kod jedne i kod druge vinifikacijske tehnike, intenzitet boje opada nakon prvog i drugog pretoka, ali je važno primijetiti da je ta promjena bila relativno blaga za enzimski pripravljeno vino, dok se može smatrati drastičnom za vino proizvedeno klasičnom maceracijom. Tijekom termovinifikacije, vrijednosti intenziteta boje nisu se značajno mijenjale (IB~3.7) osim što je zabilježen značajniji pad petog dana maceracije (2.44), ali i značajan porast do prvog pretoka. Kod termovinifikacije je u prvom danu vidljiv njen učinak na izrazito visok intenzitet boje na samom početku (visoka ekstrakcija antocijana tijekom tretmana termovinifikacije), koji se takav održavao i ostale dane. Vrijednost intenziteta boje tijekom prvog dana maceracije kod termovinificiranog uzorka je pokazao IB 4 – 5 puta veći u odnosu na klasičnu maceraciju i maceraciju uz dodatak enzima.

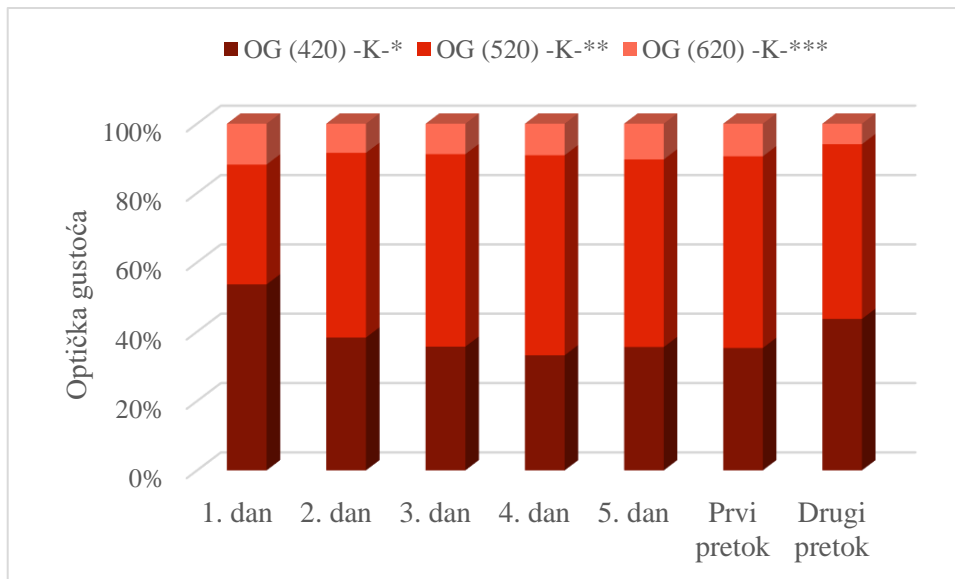
Kod svih tipova maceracije, najintenzivnija boja se postigla tijekom četvrtog dana maceracije. Generalno gledajući, najviša vrijednost IB iznosila je 5,79 i to kod klasične maceracije tijekom četvrtog dana, a najniža je iznosila svega 0,70 i to kod maceracije uz dodatak pektolitičkih enzima tijekom prvog dana. Općenito, iz rezultata prikazanih na slici 10 je vidljivo da uzorci vina s dodatkom enzima Vinoxym Vintage imaju najniži intenzitet boje što odgovara rezultatima koje su dobili Generalić – Mekinić i sur. (28) vršeći istraživanje na vinu sorte *Crljenak kaštelanski*. No ti rezultati su oprečni rezultatima koje su dobili Mojsov i sur. (43) koji su istraživali promjene u crnom vinu sorte *Vranec* proizvedenim s različitim pripravcima pektolitičkih enzima (među kojima je bio i Vinoxym Vintage) i zamijetili znatno više vrijednosti IB kod vina kojima su tijekom maceracije dodani enzimi.

Nijansa boje (NB) je parametar koji pokazuje razvoj boje prema narančastim tonovima i on obično raste tijekom odležavanja vina. Iz rezultata sa slike 11 je vidljivo da kod svih tipova maceracije vrijednost NB kontinuirano pada tijekom prva četiri dana maceracije i ponovno raste nakon petog dana. Kako NB raste starenjem vina najveće vrijednosti su i određene u uzorcima nakon drugog pretoka. Prema Ribéreau-Gayon i sur. (18), normalne vrijednosti NB za mlada vina kreću se između 0,5 i 0,7 i te se vrijednosti povećavaju tijekom odležavanja vina do 1,3. Izuzmu li se vrijednosti uzorka prvog i drugog dana maceracije, vrijednosti NB tijekom prvih dana maceracije se kreću u rasponu od 0,58 do 0,72, a tijekom prvog i drugog pretoka idu do 0,9 što je u skladu s postavkama istraživanja Ribéreau-Gayon i sur. (18).



Slika 11. Grafički prikaz promjene nijanse boje (NB) u uzorcima sorte *Babica* pripremljeni postupkom klasične maceracije (K), termovinifikacije (T) i maceracije uz dodatak pektolitičkih enzima (E)

Sastav boje je doprinos sve tri komponente ukupne boje ukupnoj boji uzorka i definira se kao optička gustoća uzoraka pri 420, 520 i 620 nm, a izražava se u postocima u vidu optičke gustoće (OG). Slike 12 – 14 prikazuju udjele triju osnovnih komponenti boje (žutu, crvenu i plavu) u uzorcima vina sorte *Babica* pripremljenih postupkom klasične maceracije, termovinifikacije i maceracije uz dodatak pektolitičkih enzima. Najviša apsorbancija je detektirana pri valnoj duljini od 520 nm gdje crna vina očekivano i imaju maksimalnu apsorbanciju. Prema Gloriesu (44), najoptimalniji omjer ove tri osnovne komponente boje u ukupnom vinu iznosi 35% žute (OG 420), 55% crvene (OG 520), i 10% plave (OG 620). Rezultati prikazan na slikama 12 – 14 poprilično su u skladu s navedenim optimalnim vrijednostima, s odstupanjima u sve tri osnovne komponente u prvom danu maceracije kod svih tipova uzoraka. Ukoliko se izuzmu manja odstupanja kod sve tri metode vinifikacije OG 420 se kreće od 32% do 38%, OG 520 od 51% do 57% te OG 620 od 7% do 12%. Usporede li se rezultati sastava boje vina dobivenog klasičnom maceracijom i maceracijom uz dodatak enzima s onima koje su dobili Generalić – Mekinić i sur. (4), vidljivo je da su se vrijednosti optičke gustoće kretale u gotovo istom rasponu.

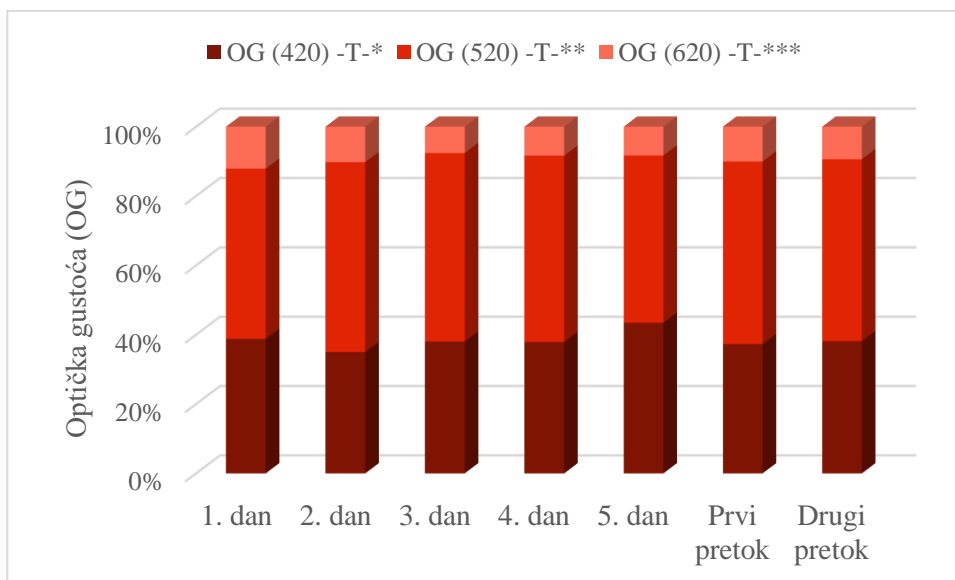


Slika 12. Grafički prikaz određivanja sastava boje vina dobivenog klasičnom maceracijom

\*OG (420)-K- optička gustoća uzoraka pri 420 nm pripremljenih postupkom klasične maceracije

\*\*OG (520)-K- optička gustoća uzoraka pri 520 nm pripremljenih postupkom klasične maceracije

\*\*\*OG (620)-K- optička gustoća uzoraka pri 620 nm pripremljenih postupkom klasične maceracije

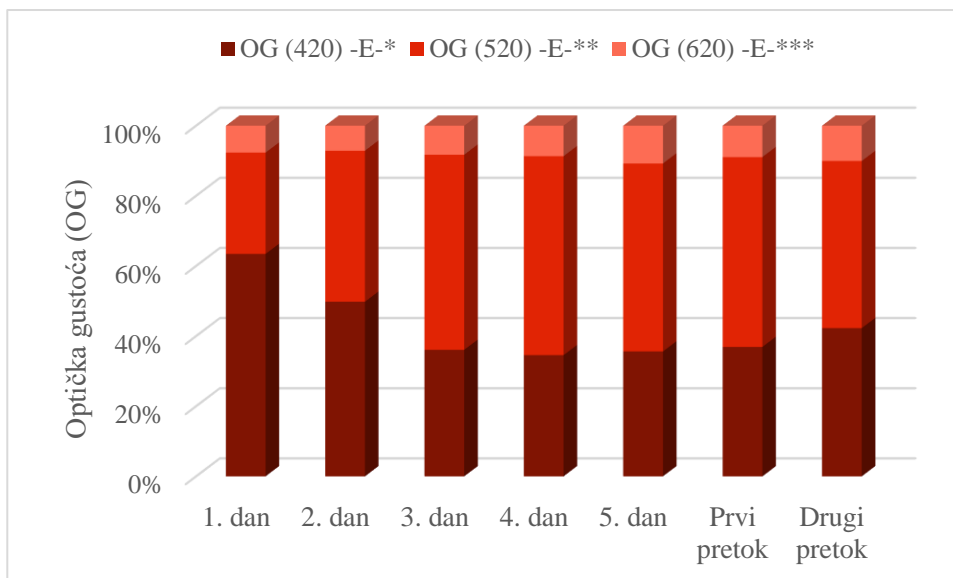


Slika 13. Grafički prikaz određivanja sastava boje vina dobivenog termovinifikacijom

\*OG (420)-T- optička gustoća uzoraka pri 420 nm pripremljenih postupkom termovinifikacije

\*\*OG (520)-T- optička gustoća uzoraka pri 520 nm pripremljenih postupkom termovinifikacije

\*\*\*OG (620)-T- optička gustoća uzoraka pri 620 nm pripremljenih postupkom termovinifikacije



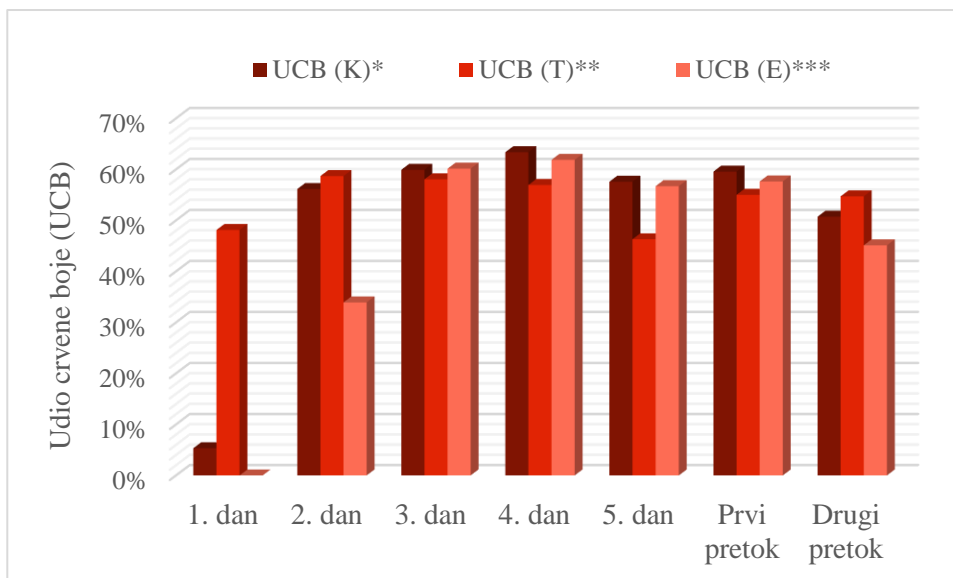
Slika 14. Grafički prikaz određivanja sastava boje vina dobivenog maceracijom uz dodatak pektolitičkih enzima

\*OG (420)-E- optička gustoća uzoraka pri 420 nm pripravljenih postupkom maceracije uz dodatak pektolitičkih enzima

\*\*OG (520)-E- optička gustoća uzoraka pri 520 nm pripravljenih postupkom maceracije uz dodatak pektolitičkih enzima

\*\*\*OG (620)-E-optička gustoća uzoraka pri 620 nm pripravljenih postupkom maceracije uz dodatak pektolitičkih enzima

Slika 15 prikazuje udio crvene boje u uzorcima dobivenim pojedinim tipom vinifikacije. Najveći udio je zabilježen tijekom četvrtog dana maceracije, što je bilo i za očekivati, jer su vrijednosti intenziteta boje IB kao i koncentracija monomernih antocijana bile najviše tijekom tog dana. Ono što je važno primijetiti je značajan učinak termovinifikacije u prvom danu maceracije kada je ovaj uzorak pokazao izuzetno veću vrijednost nego li ostala dva (47%), kao i gotovo nezatnu vrijednost koja se izmjerila kod uzorka pripravljenog uz dodatak pektolitičkih enzima.



Slika 15. Grafički prikaz određivanja udjela crvene boje

\*UCB (K)- udio crvene boje u uzorcima pripremljenih postupkom klasične maceracije

\*\*UCB (T)- udio crvene boje u uzorcima pripremljenih postupkom termovinifikacije

\*\*\*UCB (E)- udio crvene boje u uzorcima pripremljenih postupkom maceracije uz dodatak pektolitičkih enzima

### 3.2. Rezultati određivanja sadržaja antocijana u uzorcima vina sorte *Babica*

Antocijani su glavni pigmenti u crnim vinima čiji sadržaj prvenstveno ovisi o fenolnom sastavu grožđa i primijenjenom postupku proizvodnje vina. Uzorcima na kojim su provedeni različiti tipovi vinifikacije određena je koncentracija monomernih antocijana korištenjem metode bisulfitnog izbjeljivanja, a rezultati su izraženi u mg malvidin-3-glukoze po litri (mg M-3-gl/L) i prikazani su u tablicama 1 – 3 i na slikama 16 – 18.

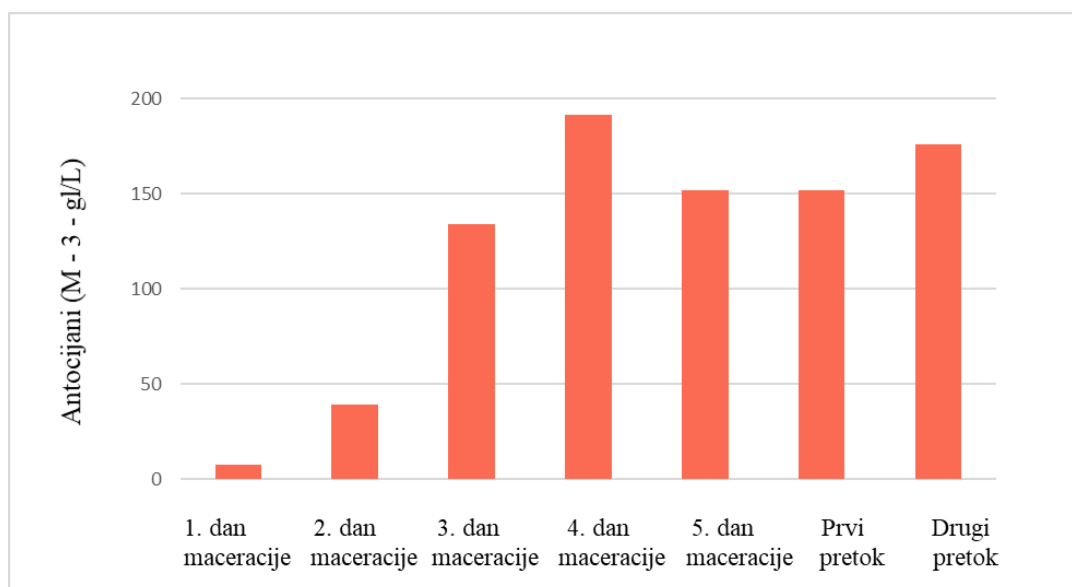
Većina monomernih antocijana ekstrahirana je tijekom prvih nekoliko dana maceracije, a kod većine uzoraka odnosno, kod klasične maceracije i maceracije grožđa uz dodatak pektolitičkih enzima, najviša vrijednost koncentracija antocijana dosegnuta je tijekom četvrtog dana maceracije. Za razliku od njih, najviša vrijednost koncentracije antocijana kod uzoraka dobivenih termovinifikacijom vidljiva je kod prvog pretoka. Ako se promatraju samo početni dani maceracije, kod svih tipova najviša vrijednost koncentracije antocijana javlja se kod uzorka iz četvrtog dana. Nakon postignute

maksimalne vrijednosti, koncentracija monomernih antocijana kontinuirano pada čemu su razlog reakcije antocijana i stvaranje kopigmenata koji formiraju slabe veze s drugim fenolnim spojevima (45).

Tablica 1. Promjene koncentracije antocijana tijekom klasične maceracije u uzorcima vina sorte *Babica*

Uzorak	Antocijani (mg M-3-gl/L)*
1. dan maceracije	7,43 ± 0,58
2. dan maceracije	39,04 ± 1,51
3. dan maceracije	134,12 ± 2,33
4. dan maceracije	191,52 ± 0,36
5. dan maceracije	152,12 ± 3,78
Prvi pretok	151,99 ± 0,81
Drugi pretok	175,97 ± 2,9

\* mg M-3-gl/L - mg malvidin-3-glukozida po litri



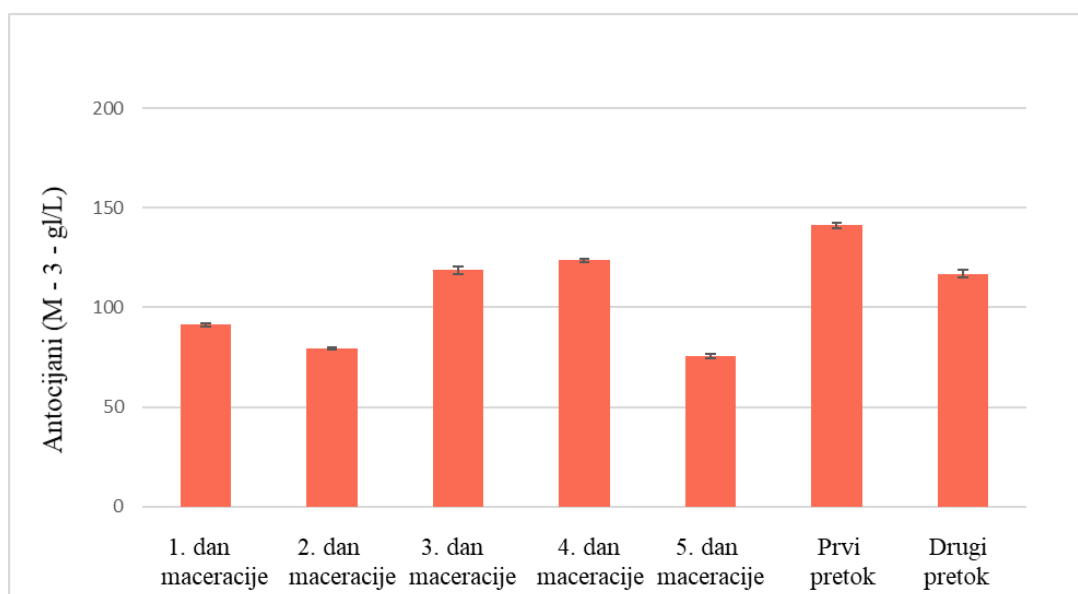
Slika 16. Grafički prikaz promjene koncentracije antocijana tijekom klasične maceracije u uzorcima vina sorte *Babica*

Općenito, najviša vrijednost koncentracije antocijana postignuta je tijekom klasične maceracije (191 mg M-3-gl/L) što je suprotno onome što se očekivalo. Dobivene vrijednosti pokazuju da dodatak komercijalnih pektolitičkih enzima nije značajnije povećao količinu antocijana u odnosu na klasičnu maceraciju. U većini istraživanja dodatak pektolitičkih enzima pospješuje ekstrakciju fenolnih spojeva i donosi više vrijednosti koncentracije antocijana nego li klasična maceracija. No u literaturi postoje i brojna druga izvješća koja pokazuju da uporaba pektolitičkih enzima ne poboljšava uvijek ekstrakciju antocijana ili pak uzrokuju smanjenje njihove koncentracije (46,47), zbog reakcija polimerizacije ili sporedne aktivnosti glikozidaze što može izazvati hidrolizu ovih spojeva. U ovom slučaju, iako je očekivana učinkovitija ekstrakcija, koncentracija antocijana se znatno manje smanjila nakon prvog i drugog pretoka za razliku od klasične maceracije, što nas dovodi do zaključka o potencijalno blažem gubitku i degradaciji ovih spojeva tijekom starenja vina. Što se tiče termovinifikacije, koncentracija antocijana je značajno manja u odnosu na klasičnu maceraciju i maceraciju uz dodatak pektolitičkih enzima.

Tablica 2. Promjene koncentracije antocijana tijekom termovinifikacije grožđa u uzorcima vina sorte *Babica*

Uzorak	Antocijani (mg M-3-gl/L)*
1. dan maceracije	91,28 ± 1,22
2. dan maceracije	79,43 ± 0,99
3. dan maceracije	118,77 ± 3,72
4. dan maceracije	123,63 ± 1,16
5. dan maceracije	75,37 ± 2,03
Prvi pretok	141,17 ± 2,32
Drugi pretok	116,83 ± 3,61

\* mg M-3-gl/L - mg malvidin-3-glukozida po litri



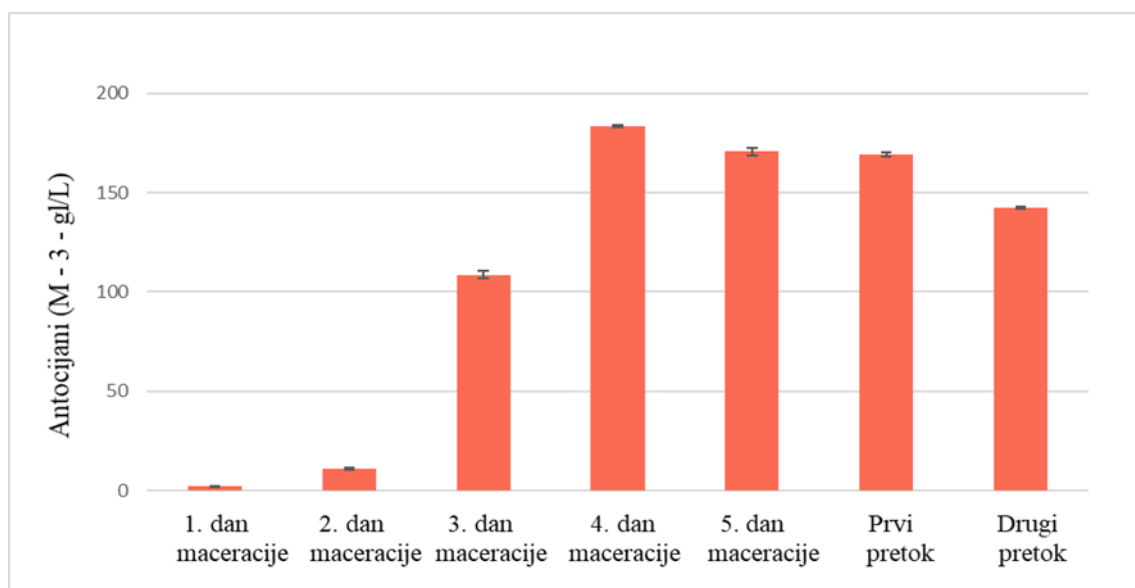
Slika 17. Grafički prikaz promjene koncentracije antocijana tijekom termovinifikacije grožđa u uzorcima vina sorte *Babica*



Tablica 3. Promjene koncentracije antocijana tijekom maceracije grožđa uz dodatak pektolitičkih enzima u uzorcima vina sorte *Babica*

Uzorak	Antocijani (mg M-3-gl/L)*
1. dan maceracije	2,09 ± 0,81
2. dan maceracije	10,99 ± 0,93
3. dan maceracije	108,54 ± 3,2
4. dan maceracije	183,45 ± 0,29
5. dan maceracije	170,65 ± 3,49
Prvi pretok	169,14 ± 1,97
Drugi pretok	142,56 ± 1,1

\* mg M-3-gl/L - mg malvidin-3-glukozida po litri



Slika 18. Grafički prikaz promjene koncentracije antocijana tijekom maceracije grožđa uz dodatak pektolitičkih enzima u uzorcima vina sorte *Babica*

#### 4. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata istraživanja i provedene rasprave može se zaključiti sljedeće:

- Sorta vina i provedena metoda vinifikacije bitno utječu na profil tvari boje crnog vina.
- Brojčane vrijednosti pojedinog parametra se drastično mijenjaju ovisno o vrsti provedene vinifikacije i vremenu uzorkovanja.
- Kod svih uzoraka, najviše vrijednosti svih parametara boje izmjerene su tijekom četvrtog dana maceracije.
- Najveće vrijednosti nijanse boje postignute su u uzorcima nakon drugog pretoka obzirom da NB raste starenjem vina.
- Primijećen je vidljiv pad intenziteta boje tijekom prvog i drugog pretoka što je rezultat polimerizacijskih reakcija i taloženja antocijana.
- Isto je potvrđeno i sa sadržajem monomernih antocijana, osim u uzorku dobivenom klasičnom maceracijom kad je koncentracija istih u uzorku porasla.
- Najviša vrijednost koncentracije antocijana postignuta je tijekom klasične maceracije (191 mg M-3-gl/L), dok je u razdoblju između prvog i drugog pretoka u uzorcima vina dobivenog termovinifikacijom i primjenom pektolitičkih enzima sadržaj antocijana opao.

## 5. LITERATURA

1. Moreno J, Peinado RA. *Enological Chemistry*. Elsevier/Academic Press. 2012; 1-2. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-388438-1.00001-7>
2. 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; 304-305.
3. Ozimec R, Karoglan-Kontić J, Maletić M, Matotan Z, Strikić F. Tradicijske sorte i pasmine Dalmacije. Program Ujedinjenih naroda za razvoj, 2015; 143-144.
4. Generalić Mekinić I, Skračić Ž, Kokeza A, Soldo B, Ljubenković I, Banović M, Šimat V, Skroza D. Effect of Enzyme-Assisted Vinification on Wine Phenolics, Colour Components, and Antioxidant Capacity. *Pol J Food Nutr. Sci.* 2020;70(2):113-121. <https://doi.org/10.31883/pjfn/115461>
5. Skračić Ž, Banović M. Usporedba karakteristika sorata vinove loze Babica i Tribidrag. *Glasnik zaštite bilja*. 2017;40(5):68.
6. Zakon o vinu, *NN 32/2019*. članak 3., 2019. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019\\_03\\_32\\_641.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_03_32_641.html) pristupljeno:1.6.2022.
7. Simon J. Velika knjiga o vinu. Profil, Zagreb. 2008; 110-134.
8. Jackson RS. *Wine science – principles, practice, perception*. 3. izdanje, Academic Press, Cambridge, SAD. 2008; 333-336.
9. Tomas D, Kolovrat D. Priručnik za proizvodnju vina -za male proizvođače i hobiste. Federalni agromediteranski zavod Mostar, Mostar, BiH. 2011; 27-29, 36-40, 42-48.
10. <https://www.britannica.com/topic/wine/The-wine-making-process>, pristupljeno: 16.8.2022.
11. Radovanović V. Tehnologija vina. Građevinska knjiga, Beograd. 1978; 162-168.
12. <https://vino.ba/macracija-vina/> pristupljeno: 3.6.2022.
13. Grainger K, Tattersall H. *Wine Production: Vine to Bottle*. Blackwell Publishing Ltd., Hoboken, New Jersey, SAD. 2005; 58-59.

14. Grainger K, Tattersall H. Wine production and quality. John Wiley & Sons, Chichester, UK. 2016; 86-86.
15. Mirošević N, Karoglan – Kontić J. Vinogradarstvo. Nakladni zavod Globus, Zagreb. 2008; 225-228.
16. Rendulčić I, Rubeša V, Puhelek N. Vinogradarstvu i vinarstvo - Priručnik za polaganje ispita. 2010; 113-114.
17. Ribéreau-Gayon P, Glories Y, Maujean A, Dubourdieu D. Handbook of enology Vol. 2, The Chemistry of Wine, Stabilization and Treatments. John Wiley & Sons, Chichester, UK. 2006; 172-91, 409-412.
18. Ribéreau-Gayon P, Dubourdieu D, Doneche B, Lonvaud A. The Microbiology of Wine and Vinifications. John Wiley & Sons, Chichester, UK. 2006;327-331,345-348.
19. de Andrade Neves N, de Araújo Pantoja L, Soares dos Santos A. Thermovinification of grapes from the Cabernet Sauvignon and Pinot Noir varieties using immobilized yeasts. Eur Food Res Technol. 2014;79-83.  
<https://doi.org/10.1007/s00217-013-2062-2>
20. Geffroy O, Feilhès C, Favarel J, Lopez R. Pre-fermentation heat treatment: a multitool technique to keep the pot boiling. IVES Technical Reviews. 2021;1-2.  
<https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2021.4779>
21. Ševech J, Vicanová L, Furdiková K, Malík F. Influence of Thermal Treatment on Polyphenol Extraction of Wine cv. André. Czech J Food Sci. 2015;33(1):91–96.  
<https://doi.org/10.17221/286/2014-CJFS>
22. Bautista-Orti A, Martinez-Cutillas A, Ros-Garcia M, Lopez-Roca JM, Gomez-Plaza E. Improving colour extraction and stability in red wines: the use of maceration enzymes and enological tannins. Int J Food Sci. 2005;40(8):867-878.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.01014.x>
23. Romero-Cascales I, Fernández-Fernández JI, Ros-García JM, López-Roca JM, Gómez-Plaza E. Characterisation of the main enzymatic activities present in six commercial macerating enzymes and their effects on extracting colour during

- winemaking of Monastrell grapes. *Int J Food Sci.* 2008;43(7):1295-1305.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01608.x>
24. Main GL, Morris JR. Effect of macerating enzymes and postfermentation grape seed tannin on the color of Cynthiana wines. *AJEV.* 2007;58(3):365-372.
25. Cabaroğlu A, Selli T. Improvement in antocyanin content in the Öküzgözü wines by using pectolytic enzymes. *Food Chem.* 2007;105(1):334-339.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.068>
26. Borazan A, Bozan B. The influence of pectolytic enzyme addition and prefermentative mash heating during the winemaking process on the phenolic composition of Okuzgozu red wine. *FEUP.* 2012;138(1):389-395.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.099>
27. Alpeza I, Kovačević-Ganić K, Vanzo A, Kaštelanac D. The effect of commercial pectolytic enzymes on young Babić wines quality. *Glasnik zaštite bilja.* 2020; 43(3): 87-96. <https://doi.org/10.31727/gzb.43.3.11>
28. Generalić-Mekinić I, Skračić Ž, Kokeza A, Soldo B, Ljubenković I, Banović M, Skroza D. Effect of winemaking on phenolic profile, colour components and antioxidants in Crljenak kaštelanski (sin. Zinfandel, Primitivo, Tribidrag) wine. *J Food Sci Technol.* 2019;56(4):1841–1853. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03638-4>
29. Nemanič J. *Vinarstvo. Impletum.* 2008; 93-99. (na slovenskom)
30. <https://www.pinterest.com/pin/781726447820803959/> pristupljeno 23.3.2022.
31. Vermerris W, Nicholson R. *Phenolic Compound Biochemistry.* Springer. NY, SAD. 2006; 1-15.
32. Birse MJ. The colour of red wine. *School of Agriculture, Food & Wine.* 2007; 26-34.
33. Zoecklein B, Fugelsang K, Gump B, Nury F. *Wine Analysis and Production.* SSBM. 1999; 117-121.

34. Teissedre PL, Jourdes M. Tannins and anthocyanins of wine: Phytochemistry and organoleptic properties. Springer. 2013;2255-2274. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6\\_73](https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_73)
35. Katalinić V. Temeljno znanje o prehrani – skripta (recenzirani nastavni materijal). KTF Split. 2011; 74-74.
36. <https://www.kimia100.com/2020/01/mengenal-antosianin-salah-satu-senyawa.html> pristupljeno: 15.5.2022.
37. Garrido J, Borges F. Wine and grape polyphenols – A chemical perspective. Int Food Res J. 2013;54(2):1844-1858. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.08.002>
38. [https://bs.wikipedia.org/wiki/Tanin#/media/Datoteka:Tannic\\_acid.png](https://bs.wikipedia.org/wiki/Tanin#/media/Datoteka:Tannic_acid.png) pristupljeno: 16.8.2022.
39. Blesić M, Mijatović D, Radić G, Blesić S. Praktično vinogradarstvo i vinarstvo. Izdanje autora, Sarajevo, 2013; 90-90.
40. Amerine MA, Ough CS. Methods for analysis of musts and wines. JWS. 1980; 181-200. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1981.tb04017.x>
41. Kojić N. Djelovanje sumporova dioksida u vinu. Glasnik zaštite bilja. 2019;42(6):86-92. <https://doi.org/10.31727/gzb.42.6.11>
42. Mattioli R, Francioso A, Mosca L, Silva P. Anthocyanins: A Comprehensive Review of Their Chemical Properties and Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Diseases. 2020;25(17):3809. <https://doi.org/10.3390/molecules25173809>.
43. Mojsov K, Ziberoski J, Bozinovic Z, Petreska M. A comparison of effects of three commercial pectolytic enzyme preparations in red winemaking. Int J Pure Appl Sci Technol. 2010;3(9):112-127.
44. Glories Y. La couleur des vins rouges. 2e partie: mesure, origine et interpretation. J Int Sci Vigne Vin. 1984; 253-271. (na francuskom)
45. Moreno-Arribas MV, Polo C. Wine chemistry and biochemistry. Springer, NY, SAD. 2009; [https://doi.org/10.1007/978-0-387-74118-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-0-387-74118-5_1)

46. Soto Vázquez E, Río Segade S, Orriols Fernández I. Effect of the winemaking technique on phenolic composition and chromatic characteristics in young red wines. *Eur Food Res Technol.* 2010;789-802. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1332-5>
47. Sun B, Neves AC, Fernandes TA, Fernandes A., Mateus N, De Freitas V, Leandro C, Spranger MI. Evolution of phenolic composition of red wine during vinification and storage and its contribution to wine sensory properties and antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 2011;59:6550–6557. <https://doi.org/10.1021/jf201383e>