

# Polifenolni sastav vina različitih crnih sorata (*V. vinifera* L.) dozrijevanih u hrastovim bačvama

---

**Orbanić, Fumica**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:540571>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-08-17**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

**POLIFENOLNI SASTAV VINA RAZLIČITIH CRNIH SORATA  
(*V. Vinifera* L.) DOZRIJEVANIH U HRASTOVIM  
BAČVAMA**

DIPLOMSKI RAD

Fumica Orbanić

Zagreb, travanj, 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:  
Hortikultura - Vinogradarstvo i vinarstvo

**POLIFENOLNI SASTAV VINA RAZLIČITIH CRNIH SORATA  
(V.Vinifera L.) DOZRIJEVANIH U HRASTOVIM  
BAČVAMA**

DIPLOMSKI RAD

Fumica Orbanić

**Mentor:** prof. dr. sc. Ana Jeromel  
**Neposredni voditelj:** doc. dr. sc. Ana-Marija Jagatić Korenika

Zagreb, travanj, 2019.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA  
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Fumica Orbanić**, JMBAG: 0178097955, rođena dana 11. 09. 1994. u Puli, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

**POLIFENOLNI SASTAV VINA RAZLIČITIH CRNIH SORATA (V.Vinifera L.) DOZRIJEVANIH U  
HRASTOVIM BAČVAMA**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
*Potpis studenta / studentice*

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZVIJEŠĆE**

**O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA**

Diplomski rad studentice **Fumice Orbanić**, JMBAG 0178097955, naslova  
**POLIFENOLNI SASTAV VINA RAZLIČITIH CRNIH SORATA (V.Vinifera L.) DOZRIJEVANIH U  
HRASTOVIM BAČVAMA**

obranjen je i ocijenjen ocjenom \_\_\_\_\_, dana \_\_\_\_\_.

Povjerenstvo:

potpisi:

Prof.dr.sc. Ana Jeromel

\_\_\_\_\_

Doc.dr.sc. Marin Mihaljević Žulj

\_\_\_\_\_

Doc.dr.sc. Luna Maslov

\_\_\_\_\_



# Sadržaj

|   |    |
|---|----|
| Sažetak.....  | 1  |
| Summary .....   | 2  |
| 1. Uvod .....   | 3  |
| 2. Pregled literature .....                             | 5  |
| 2.1. Povijest bačvi .....                               | 5  |
| 2.2. O hrastu .....                                     | 5  |
| 2.3. Proizvodnja bačvi.....                             | 6  |
| 2.3.1. Sušenje drvne sirovine .....                     | 7  |
| 2.3.2. Grijanje i paljenje drveta .....                 | 8  |
| 2.4. Polifenoli.....                                    | 11 |
| 2.4.1. Klasifikacija polifenola .....                   | 11 |
| 2.4.2. Polifenoli iz vina.....                          | 14 |
| 2.4.3. Polifenoli iz hrasta .....                       | 25 |
| 2.5. Ostali spojevi iz hrasta .....                     | 28 |
| 2.6. Dozrijevanje vina u hrastovim bačvama.....         | 30 |
| 2.6.1. Čimbenici koji utječu na dozrijevanje vina ..... | 30 |
| 2.6.2. Kemijske reakcije.....                           | 33 |
| 2.7. Karakteristike vina .....                          | 36 |
| 3. Materijali i metode.....                             | 38 |
| 3.1. Vino.....  | 38 |
| 3.2. Hrastove bačve .....                               | 38 |
| 3.3. Osnovna fizikalno – kemijska analiza vina.....     | 38 |

|  |    |
|--|----|
| 3.4. Određivanje udjela pojedinačnih polifenola u vinu ..... | 39 |
| 4. Rezultati.....  | 40 |
| 5. Rasprava .....  | 44 |
| 6. Zaključak.....  | 56 |
| 7. Popis literature.....                                     | 57 |
| 8. Prilog.....   | 60 |
| Životopis .....  | 62 |



## Sažetak

Diplomskog rada studentice **Fumice Orbanić**, naslova

### **POLIFENOLNI SASTAV VINA RAZLIČITIH CRNIH SORATA (*V. Vinifera* L.) DOZRIJEVANIH U HRASTOVIM BAČVAMA**

Utjecaj srednje i jako paljenih bačvi od slavonske hrastovine na kakvoću crnih vina praćen je tijekom devet mjeseci dozrijevanja. U ovom radu detaljno su analizirani rezultati pojedinačnih polifenolnih spojeva, te je cilj bio utvrditi dinamiku promjene polifenolnog sastava pod utjecajem različitog stupnja paljenja hrastove bačve. Istraživana vina (od sorata 'Cabernet Sauvignon', 'Merlot' i 'Petit Verdot') dobivena su od grožđa uzgojenog na pokušalištu 'Jazbina', berba 2016., nakon fermentacija, koje su odvijene pod istim uvjetima svako se vino rastočilo u po dvije hrastove bačve različitog stupnja paljenja, srednjeg i jakog. Vina su dozrijevala devet mjeseci, te se nakon 1., 3., 6. i 9. mjeseca uzimalo uzorke za provođenje analize pojedinačnih polifenolnih spojeva primjenom tekućinske kromatografije. Utvrđeno je različito kretanje pojedinačnih polifenolnih spojeva, koja su promatrana i komentirana po skupinama, antocijani, fenolne kiseline, katehini i procijanidi. Antocijani u vinima od svih sorata i stupnja paljenja bačve pokazuju smanjenje koncentracija. Fenolne kiseline u vinima 'Cabernet Sauvignona' i 'Merlota' pokazuju smanjenje u trećem mjesecu dozrijevanja, dok se kod 'Petit Verdota', smanjenje javlja u šestom mjesecu. Galna se kiselina u svim vinima povećava, osim kod 'Petit Verdota'. Katehini i procijanidini u sva tri vina različito se kreću tijekom dozrijevanja.

**Ključne riječi:** barrique bačva, polifenoli, jačina paljenja, dozrijevanje

## Summary

Of the master's thesis – student **Fumica Orbanić**, entitled

### **POLIPHENOL COMPOSITION OF WINES MADE FROM THREE RED GRAPE VARIETIES (*V. Vinifera* L.) AGED IN OAK BARRELS**

Medium and heavy toasting of slavonian oak barrels impact on quality of red wines which were observed during aging period of nine months. In this paper individual polyphenolic compounds were analysed and the aim was to determine trends in polyphenolic composition affected by level of barrel toasting. Wines used in this research were produced of grapes ('Cabernet Sauvignon', 'Merlot' and 'Petit Verdot') cultivated in experimental station "Jazbina", vintage 2016. After fermentations which were carried out under the same conditions, each wine was racked into two oak barrels of different toasting level. During nine months aging wine was sampled after 1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup>, 6<sup>th</sup> and 9<sup>th</sup> month for individual polyphenolic analysis carried out by liquid chromatography. Various trends of individual polyphenolic compounds were observed and analysed in groups, anthocyanins, phenolic acids, catechins and procyanidins. Anthocyanin composition decreased in all wines. Phenolic acids in 'Cabernet Sauvignon' and 'Merlot' showed significant decrease in the third month of aging, while 'Petit Verdot's' decreased after sixth months. Gallic acid increase in all wines except 'Petit Verdot'. Catechins and procyanidins showed different trends during aging.

**Key words:** barrique barrel, polyphenolics, toasting, aging

## 1. Uvod

Dozrijevanje crnih vina u hrastovim bačvama tehnika je koja se koristi od samih početaka vinarske proizvodnje, s ciljem poboljšanja kvalitete i složenosti vina, doprinosa poboljšanju njegovih senzornih karakteristika i povećanju stabilnosti. Samim kontaktom bačve i vina mijenja se sastav vina zbog spojeva koji se ekstrahiraju iz drveta. Količina i sastav spojeva koji se ekstrahiraju iz drveta bačve ovisi o nekoliko čimbenika, o botaničkom i geografskom podrijetlu drva, o stupnju paljenja drva, o brzini izdvajanja spojeva (uglavnom ovisi o trajanju kontakta bačve i vina) i o broju ponovnih korištenja (Li i dr., 2015; Dumitriu i dr., 2017).

Tijekom proizvodnje bačvi, hrast prolazi kroz nekoliko faza prerade, koje utječu na konačnu aromu i okus vina. Nakon piljenja, drvo se podvrgava procesu sušenja, kako bi se osigurala mehanička otpornost bačvi. Drvo se zagrijava kako bi se oblikovala bačva. Obično se koriste tri vrste paljenja, slabo, srednje i jako. Ova faza se smatra jednom od najvažnijih zbog utjecaja na kemijski sastav hrastovog drva. Termička obrada uzrokuje degradaciju nekih spojeva, koji stvaraju brojne hlapive spojeve (Garde-Cerdan i dr., 2006).

Tijekom dozrijevanja, fenolni sastav vina je također modificiran zbog pojave kopigmentacije, kondenzacije, polimerizacije i jer se neki fenoli, uglavnom elagitanini, oslobađaju u vino (Dumitriu i dr., 2017). Postoje razlike među vinima iz iste vinogradarske regije, iste godine berbe, istog stupnja dozrelosti, podvrgnuta istim pred-fermentacijskim i fermentacijskim postupcima, ali koja su dozrijevana u bačvama različitog stupnja paljenja i tijekom različitog vremenskog perioda.

U ovom istraživanju korištena su tri vina od crnih sorata grožđa, 'Merlot', 'Cabernet Sauvignon' i 'Petit Verdot' od kojih je svako vino, nakon fermentacije, bilo rastočeno u dvije hrastove bačve, srednje i jako paljene. Pod pretpostavkom da stupanj paljenja bačve utječe na kemijski sastav i senzorna svojstva vina, postavljeno je istraživanje, te se tijekom devet mjeseci dozrijevanja vina u bačvi uzorkovalo nakon 1., 3., 6. i 9. mjeseca. Primjenom instrumentalnih metoda utvrđene su koncentracije pojedinačnih polifenolnih spojeva.

Ciljevi ovog istraživanja bili su utvrditi dinamiku kretanja pojedinačnih polifenolnih spojeva tijekom devet mjeseci dozrijevanja vina u hrastovim bačvama, ustanoviti razlike koje se javljaju zbog različitog stupnja paljenja bačve i razlike koje se javljaju zbog sortnih svojstava.

## 2. Pregled literature

### 2.1. Povijest bačvi

Smatra se da su Kelti stvorili prve bačve koje su bile slične današnjem obliku. U trećem stoljeću prije Krista, amfore su postupno zamjenjivale bačve kao novo sredstvo za transport vina. Tijekom prošlosti proizvođači vina i prodavači eksperimentirali su s raznim vrstama drveća kako bi pronašli dobar materijal za proizvodnju bačvi. Proizvodnja i upotreba hrastovih bačvi traje oko 2000 godina, prema povijesnim podacima smatra se da su se najprije koristile u Rimskom Carstvu. Vremenom, vinari su shvatili da držanje vina u hrastovim bačvama nije samo praktično već i da unaprjeđuje kvalitetu vina u pogledu ovih svojstava, okus, boja, aroma, *mouth feel* (Zhang i dr., 2015).

### 2.2. O hrastu

Hrast je kritosjemenjača koja pripada porodici *Fagaceae*. Oko 600 vrsta roda *Quercus* rasprostranjene su diljem svijeta, te osnovni sastav drveta hrasta ne varira značajno među vrstama. Celuloza (40 %) i hemiceluloza (25 %) su nositelji strukture drveta hrasta i samim time glavne komponente kemijskog sastava. Uz njih, značajan je i lignin, još jedan veliki polimer koji je prisutan u staničnim stijenkama, te zauzima 20 % mase suhe tvari (Zhang i dr., 2015).

Američki bijeli hrast (*Q. alba*) i francuski crveni hrast (*Q. robur* i *Q. petraea*) su tri najčešće upotrebljavana izvora za proizvodnju hrastovih bačvi u bačvarstvu. Posljednja istraživanja fokusirana su na istraživanje novih vrsti i regija hrasta u Španjolskoj, Rusiji i u drugim istočnim europskim zemljama (Ukrajina, Rumunjska, Mađarska itd.) (Zhang i dr., 2015). U Hrvatskoj je također razvijeno bačvarstvo zbog brojnih hrastovih šuma, koje su izvor sirovine. Najbogatije hrastove šume jesu u Slavoniji, a vrste koje nalazimo su iste kao i u ostatku Europe, dakle *Q. robur* i *Q. petraea*, koji se u hrvatskom jeziku nazivaju hrast lužnjak i kitnjak.

Geografsko podrijetlo i vrsta hrasta imaju priličan utjecaj na aromatski profil i polifenolni sastav hrasta. Kvaliteta hrastova drva može varirati ne samo zbog vrste, već i zbog starosti i

visine drveta, zbog smjera rasta, odnosno okrenutosti strani svijeta i regije u kojoj raste (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Hrast kitnjak (*Q. petraea*) sadrži najviše tanina. Uslijed velike poroznosti dolazi do lake ekstrakcije velikog broja tvari iz drveta, koja daju izraženu začinsku notu. Zbog strukturalne razlike u hemicelulozi i ligninu, bijeli hrast (*Q. alba*), rezultira s izraženijom notom vanilije, prženja te većom količinom polisaharida drveta. U morfološkoj građi je hrast lužnjak (*Q. robur*) sličan hrastu kitnjaku, ali se razlikuje u određenim svojstvima. Sadrži manje tanina, a uslijed sporijeg rasta formira finije godove, čime je uvjetovana i izrazito nježna ekstrakcija. Istraživanja su ukazala na bržu i lakšu razgradnju hemiceluloze čime se formiraju različite arome paljenja (Fernández de Simón i dr., 2014).

Relevantna istraživanja kazuju kako vina dozrijevana u bačvama španjolskog hrasta imaju slična svojstva kao ta ista vina dozrijevana u francuskom hrastu. Međutim, vina dozrijevana u bačvama američkog hrasta obično pokazuju značajne razlike u odnosu na vina iz španjolskog hrasta. Rezultati nekoliko istraživanja kazuju kako istočnoeuropski hrast sadrži veće količine aromatskih spojeva, hlapivih fenola i hlapivih aldehida, nego što je slučaj kod francuskog hrasta, iako su ista vrsta. Ta saznanja osvijestila su mogućnosti koje nude novi izvori materijala u bačvarstvu za vinsku proizvodnju (Zhang i dr., 2015).

Kada se promatra utjecaj drva hrasta na vino tijekom procesa dozrijevanja, važno je uzeti u obzir činjenicu da hrastove bačve, hrastov čips ili dužice nisu od sirovog hrastova drva, već je taj hrast dorađen postupcima sušenja drva i toplinskim tretmanima – grijanjem i paljenjem.

### 2.3. Proizvodnja bačvi

Proizvodnja bačvi dugotrajan je proces koji započinje u šumama, izborom drveta hrasta kao glavnog izvora sirovine za proizvodnju drvenih bačvi.

Proces započinje cijepanjem trupca hrastova drveta uzdužnim linijama te preciznim rezanjem pilom i izradom materijala za plašt bačve. Promjer drveta mora biti od 45 – 60 cm, što znači da hrast mora biti star između 100 – 150 godina. Drvo se cijepa kako bi vlaknasta konstrukcija ostala neoštećena (Lucić, 2017). Raspored sljedećih radnji ovisi o tradiciji i/ili tehnologiji

proizvodnje, u nekim slučajevima prvo se izrezuje drvo u obliku dužica, pa se onda suši ili kako slijedi u daljnjem tekstu, prvo se suše komadi drveta, pa se onda izrađuju dužice.

### 2.3.1. Sušenje drvene sirovine

Razina vlažnosti hrasta trebala bi biti uravnotežena s vlažnošću atmosfere, oko 14-18 % u umjerenim regijama, kako bi se osigurala mehanička čvrstoća bačvi. Zbog toga hrastovo drvo mora se sušiti, prirodnim ili umjetnim metodama, prije no što će se koristiti u izradi bačvi.

Prirodno sušenje je proces koji traje nekoliko godina, 24 mjeseca za dužice od 21 mm debljine i 36 mjeseci za dužice od 28 mm. Potrebno je određeno vrijeme kako bi se dobilo drvo koje je prikladno za dozrijevanje i strukturiranje vina (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Drva se suše na otvorenom, prozračnom prostoru. Procijenjeno je da se hrast prosuši oko 10 mm na godinu. Zapravo, do intenzivne dehidracije dolazi tijekom prvih deset mjeseci, nakon toga slijedi razdoblje kada drvo zapravo "sazrijeva", čime se poboljšavaju njegove fiziološka, aromatska i organoleptička svojstva. Samo sušenje se razlikuje prema tome gdje se nalazi pojedini trupac na hrpi. Vanjska strana hrpe ispire se kišom, dok do sredine kiša gotovo ni ne stigne i uspijeva se održavati niža vlažnost. U ovaj proces uključene su i enzimske reakcije koje se događaju zbog enzima koje luče gljivična mikroflora koja se razvija na tom drveću (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Vivas i Glories (1993) navode kako *Aureobasidium pullulans* predstavlja 80 % ukupne mikroflore. *Trichoderma harzianum* i *Trichoderma komingii* također su prisutne, ali predstavljaju manje od 20 % populacije. Drugi, rjeđi sojevi predstavljaju manje od 10 %, iako, ako sušenje potraje duži period, na te se trupce nastani raznolika flora (Chatonnet, 1995; Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Tijekom isušivanja drveta dolazi do promjena u fenolnom sastavu. Kada je hrast natopljen, otopina postaje manje astrigentna i svjetlije boje kako se drvo isušuje. Količine koje se ekstrahiraju opadaju, posebice elagitanina. To smanjenje utječe na vodotopive monomere i oligomere, čiji polimerizirani oblici opadaju tek nakon što isušivanje traje dulje od tri godine, pošto nisu topivi u vodi. Razlog redukcije elagitanina je kemijska i enzimatska hidroliza

(*Penicillium* i *Trichoderma*), kao i oksidacija neke od elaginskih kiselina (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Glikolizirani kumarini (eskulin i skopolin), gorkog okusa, hidroliziraju se, te nastaju aglikoni (eskuletin i skopoletin) neutralnog, neznatnog kiselog okusa. Smatra se da je gubitak gorčine i gruboće tijekom isušivanja povezan s gore navedenim promjenama u fenolnom sastavu (Vivas, 1993; Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Prirodno isušivanje vodi ka povećanju koncentracija raznih aromatskih spojeva, eugenol, siring i vanilin aldehid koji nastaju raspadom lignina i oba izomera *beta*-metil-*gamma*-oktalaktona, s većim omjerom mirisavih *cis*-oblika. Utjecaj mikroorganizama na te spojeve nije dobro poznat, premda se sumnja da su odgovorni za određeno smanjenje tih koncentracija (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

### 2.3.2. Grijanje i paljenje drveta

Kada je drvo spremno i suho, bačvar ga oblikuje u dužice (njih 18-25) koje poreda i sklopi uz pomoć metalnih obruča kako bi kasnije dobio bačvu. Nakon toga, drvo se grije i pali, što predstavlja dva osnovna procesa kod proizvodnje bačvi.

Zagrijavanje olakšava savijanje dužica kako bi se dobio karakterističan oblik bačve. Ono utječe na plastičnost lignina, ali ima slab utjecaj na polimere glukoze (celuloza i hemiceluloza) tako što su ti spojevi zaštićeni vlažnošću koju apsorbiraju. Kombinacija topline i vlažnosti omogućava savijanje bačve u njezin karakterističan oblik bez pucanja dužica. Najčešće otvorene s obje strane, bačve se zagrijavaju oko 20-30 minuta, s povećanjem temperature, oko 7°C po minuti, dok dužice ne poprime oblik. Pri kraju postupka temperatura u unutrašnjosti bačve iznosi oko 200°C, dok je izvana samo 50°C (Chatonnet, 1995; Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Drugi osnovni proces, paljenje, daje bačvi krajnji oblik i istovremeno modificira strukturu i sastav hrasta.

Kvaliteta bačve ovisi o uspješnosti paljenja. Samo paljenje ima izravan utjecaj na daljnji razvoj vina tijekom dozrijevanja, najviše na organoleptička svojstva koja se mijenjaju dozrijevanjem



u bačvi. Međutim, uvjeti paljenja se u velikoj mjeri razlikuju među bačvarima. Razlog tome je nemogućnost kontroliranja jednakih uvjeta paljenja zbog takozvanog ljudskog faktora, odnosno činjenice da je taj postupak u potpunosti odrađen od strane pojedinca. Čimbenici koji su uključeni: vrsta i intenzitet izvora topline (na drva, plin ili struju), je li vrh bačve otvoren ili zatvoren, homogenost topline i konačna temperatura, trajanje paljenja (opasnost od spaljivanja), koliko često se drvo vlaži i u kojem razmjeru mijenja boju.

Uzevši u obzir sve gore navedene činjenice, Chatonnet (1995) je predložio i kasnije sproveo automatski sustav grijanja, čija je najveća prednost postizanje ponovljivih rezultata. Izvor topline sastoji se od infracrvenog zračenja emitiranog pomoću električnog otpornika. Drvo se automatski navlažuje i vrijeme trajanja paljenja je programirano.

Oba procesa paljenja djeluju na vanjsku i unutarnju strukturu hrasta (Chatonnet, 1995; Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Višestruki su razlozi paljenja dužica: "mekšanje" fenola drveta termičkom obradom (galna i elaginska kiselina) te polisaharida na površini, razgradnja lignina i oslobađanje hlapivih fenola koji utječu na aromu, te mehanički razlozi, lakše savijanje dužica pri izradi bačve.

Postoje tri stupnja paljenja:

- **Slabo paljeno**, vrijeme paljenja prosječno pet minuta, temperatura na površini između 120 i 180°C. Unutrašnjost ima spužvasti izgled, zbog promjena u strukturi lignina i hemiceluloze, dok celuloza ostaje netaknuta.
- **Srednje paljeno**, vrijeme paljenja oko deset minuta, prosječna temperatura na površini oko 200°C. Odgovarajući površinski spojevi se razgrađuju.
- **Jako paljeno**, vrijeme paljenja više od 15 minuta, površinska temperatura 230°C. Struktura stanica se znatno mijenja, površina je spaljena i ispunjena pukotinama.

Fizičke promjene popraćene su modifikacijama u kemijskoj strukturi hrasta. Određeni polimeri, celuloza, hemiceluloza i lignin imaju različitu točku razgradnje te svojim raspadanjem stvaraju veliki broj drugih spojeva (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Paljenje ili preciznije "hidrotermoliza" dovodi do razvoja novih hlapivih i mirisavih spojeva, najvećim dijelom, aldehida furana, fenolnih aldehida i hlapivih fenola, masnih kiselina, točnije octene kiseline (iz ksilana) i kiselina s više od 6 ugljikovih atoma koji nastaju raspadom kompleksnijih lipida, metil-oktalaktona i dimetil pirazina, mirisa koji podsjeća na kakao i svježi kruh. Značajna količina fenilketona se isto stvara ovim procesom. Dolazi i do razgradnje elagitanina, čije se koncentracije smanjuju kako se intenzitet paljenja povećava (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Analiza paljenih hrastovih ekstrakta pokazuje razgradnju elagitanina, posebice nakon srednjeg paljenja. To je povezano s temperaturom razgradnje kombinacije veskalagina i kastalagina (163°C) i galne kiseline (250°C). Elaginska kiselina reagira na više temperature (>450°C) (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Zagrijavanje hrasta, također dovodi do stvaranja hlapivih spojeva koji nastaju u nekoliko slučajeva. Prvo, toplinska degradacija polisaharida stvara aldehyd furana od ugljikohidratnih polimera (uglavnom hemiceluloze). Nastaju furfural, metil-5-furfural (arome prženog badema) i hidroksi-metil-5-furfural (bez mirisa). Koncentracija tih aldehida furana u vinu dosta je niža od njihovog praga detekcije (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Drugo, zagrijavanjem se stvaraju izomeri pojedinih spojeva, s mirisom koji podsjeća na karamelu, pečeno (cikloten, maltol i izomaltol), stvaraju se od heksoza u prisustvu dušičnih spojeva. Njihov utjecaj na olfaktorna svojstva veći je nego od aldehida furana (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Toplinska degradacija lignina i poliola stvara hlapive fenole i aldehide fenola. Hlapivi fenoli imaju dimljeni, pikantan miris. Metoksifenoli se ekstrahiraju nakon paljenja i njihov sastav odražava strukturu lignina kao i temperaturu paljenja (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Drugi aromatski spojevi koji se javljaju nakon paljenja su benzojevi (vanilin i siringaldehid) i hidroksicimetni (koniferaldehid i sinapaldehid) aldehidi. Najveće količine se stvaraju kada se bačva srednje pali, s više benzojevih, nego cimetnih aldehida (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Također, toplinskom degradacijom određenih lipida ili masnih kiselina stvaraju se izomeri metil-oktalaktona. Mirisaviji *cis*-izomeri koji već prevladavaju u ne paljenom drvu,

predstavljaju još veći udio izomera u paljenom drvu. Ti su spojevi vrlo osjetljivi na toplinu te kod jakog paljenja nestaju (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Aroma hrasta postaje sve kompleksnija kako se paljenje kreće iz slabog prema jakom. Općenito, ta je aroma okarakterizirana kao aroma koja podsjeća na nijanse vanilije i pečenog dobivene od furanskih i fenolnih aldehida, na dimljeno, pikantno i prženo od hlapivih fenola. Kod jakog paljenja, povećan sadržaj metil-oktalaktona doprinosi mirisu koji podsjeća na kokos, ali je prikriven ukupnom aromatskom kompleksnošću. Kod jakog paljenja intenzitet hrastove arome pada, ističu se mirisi koji podsjećaju na dimljeno i izgoreno (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Moguće je "namjestiti" utjecaj organoleptičkih svojstava bačve na vino izborom različite razine paljenja, ne samo aromatskog profila već ukupne strukture vina (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

## 2.4. Polifenoli

Polifenolni spojevi koji su sveprisutni na našoj planeti, jedni su među najistraživanijim biljnim kemijskim spojevima, zbog njihovih kemijskih svojstava i antioksidativne aktivnosti. Hrastove bačve i njihove alternative koje se sve više koriste u današnje vrijeme doprinose polifenolnom sastavu vina i imaju veliku ulogu u dozrijevanju vina (Zhang i dr., 2015).

### 2.4.1. Klasifikacija polifenola

Polifenoli tvore jednu od najbrojnijih i najraširenijih grupa spojeva u biljnom svijetu, s trenutno 8000 otkrivenih i istraženih fenolnih struktura. Ti se spojevi mogu podijeliti u razne podskupine prema broju fenolnih prstena i drugih spojeva koji su vezani na osnovnu jedinicu (*Tablica 1*) (Zhang i dr., 2015).

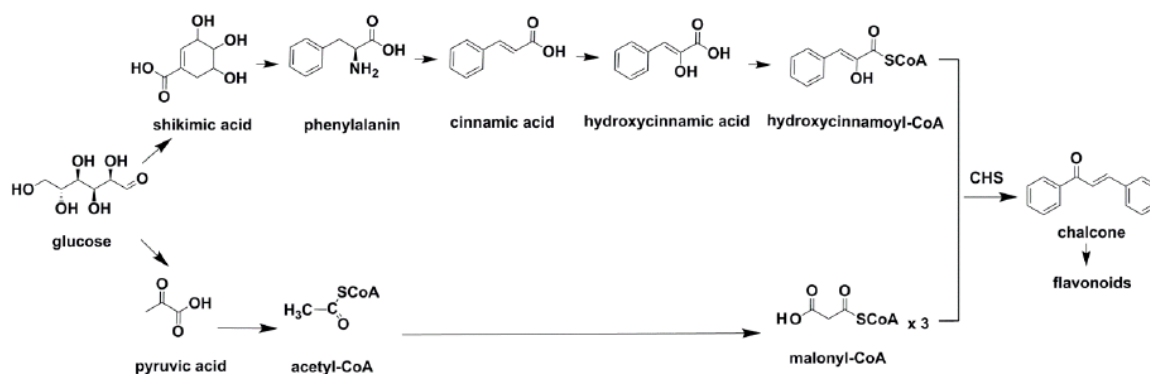
Sekundarni su metaboliti i akumuliraju se u organizmu kako bi sudjelovali u obrani organizma od ultraljubičastog zračenja ili od napada patogena. Općenito, struktura polifenola, odnosno kostur, potječe od dva različita aktivna prekursora (4-kumaril-CoA i malonil-CoA), a oni biogenetski nastaju iz acetat i shikimat puta stvaranja (Zhang i dr., 2015).

Tablica 1: Klasifikacija fenolnih spojeva iz biljaka

| <b>Struktura</b>   | <b>Fenolna skupina</b>                      |
|--|---|
| <b>C<sub>6</sub></b>   | Jednostavni fenoli                          |
| <b>C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub></b>                             | Fenolne kiseline i povezani spojevi         |
| <b>C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub></b>                             | Acetofenoni i feniloctene kiseline          |
| <b>C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub></b>                             | Cimetne kiseline, cimetni aldehidi/alkoholi |
| <b>C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub></b>                             | Kumarini, izokumarini, hromoni              |
| <b>C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub></b>               | Benzofenoni, ksantoni                       |
| <b>C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub></b>               | Stilbeni                                    |
| <b>C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub></b>               | Haloni, auron, dihidrohaloni                |
| <b>C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub></b>               | Flavoni                                     |
| <b>C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub></b>               | Flavonoli                                   |
| <b>C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub></b>               | Flavanoni                                   |
| <b>C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub></b>               | Flavanonoli                                 |
| <b>C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub></b>               | Flavan-3-oli                                |
| <b>C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub></b>               | Izoflavanoidi                               |
| <b>C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub></b>               | Antocijanidini/Antocijanin                  |
| <b>(C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)<sub>2</sub></b> | Biflavonidi                                 |
| <b>C<sub>6</sub>,C<sub>10</sub>,C<sub>14</sub></b>             | Benzokvinoni, naftakvinoni, antrakvinoni    |
| <b>C<sub>18</sub></b>  | Betacijanini                                |
| <b>Lignani, neolignani</b>                                     | Dimeri i oligomeri                          |
| <b>Lignin</b>  | Polimeri                                    |
| <b>Flobafeni</b>   | Polimeri                                    |

Izvor: Zhang i dr., 2015

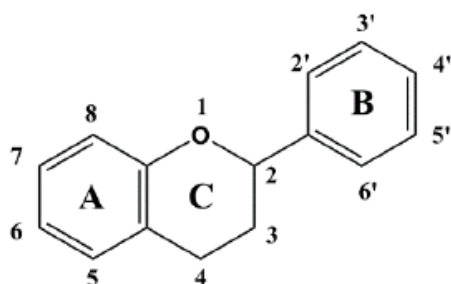
Povezana istraživanja potvrđuju kako su oba puta stvaranja potekla od metabolizma glukoze (Shema 1). Dva glavna prekursora sudjeluju u reakcijama kondenzacije koje su katalizirane halon sintazom (CHS), te se stvaraju flavonoidi, koji su najbrojniji i među najbitnijim spojevima iz grupe polifenola. Također, klasificirati se mogu i podjelom na flavonoidnu i neflavonoidnu skupinu, obzirom na strukturu (Zhang i dr., 2015).



Shema 1: Biosintetski putevi polifenolnih spojeva (Zhang i dr., 2015)

Flavonoidna skupina bazira se na strukturi od 15 ugljikovih atoma (C6-C3-C6), svi dijele zajedničku difenil propan strukturu koju čine dva aromatska prstena (prsten A i B) spojena s tri atoma ugljika, čime nastaje oksigenirani heterociklični prsten (prsten C) (Shema 2). Flavonoidi se u biljkama ponekad javljaju kao O- i C- glikozidi. Specifična mjesta glikozilacije na ovim spojevima su pozicija C3 na C prstenu, C5 pozicija na A prstenu i rjeđe na poziciji C7 flavonoidne strukture. Glukoza je najčešći šećer koji se povezuje na flavonoide, ali mogu biti i drugi, ramnoza, ksiloza i galaktoza (Zhang i dr., 2015).

Flavonoidi sastavljeni od monomernih flavanola nazivaju se katehini, polimerni flavanoli (proantocijanidini) i haloni, flavonoli, flavanoni i antocijanidini, svi nastali flavonoidnim putem stvaranja. Osim njih, postoje još i izoflavonoidi, biflavonoidi i neoflavonoidi (Zhang i dr., 2015).



Shema 2: Osnovna kemijska struktura flavonoidnih spojeva (Zhang i dr., 2015)

Termin tanini odnosi se na veliku skupinu polifenola, različitih struktura i molekulske mase od srednje do visoke. Biljni tanini su klasificirani u dvije glavne skupine, kondenzirani i hidrolizirajući tanini. Kondenzirani tanini poznati su i kao proantocijanidini, rašireni su kod

paprati, golosjemenjača i kritosjemenjača. Hidrolizirajući tanini, npr. galotanini i elagitanini, su polimeri estera glukoze i galne kiseline ili heksahidroksidifeninske kiseline, s molekulskom masom između 500 i 5000 Da. Nalaze se samo u 15 od 40 redova kod dikotiledona (Zhang i dr., 2015).

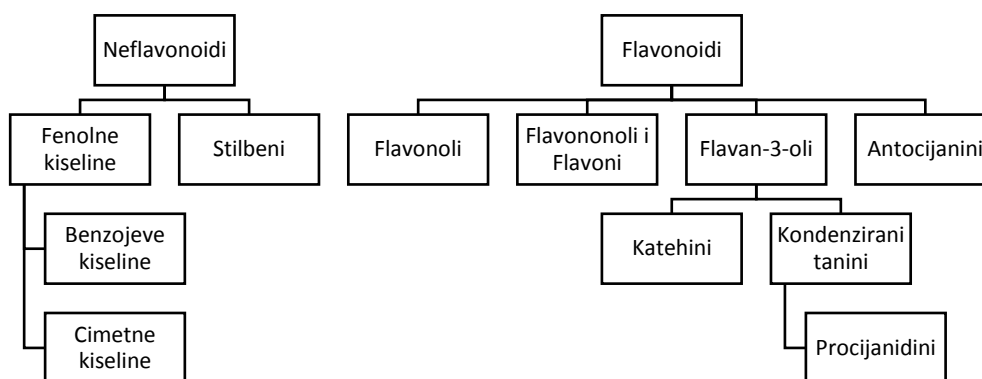
Tanini su spojevi koji stvaraju stabilne komplekse s proteinima i drugim biljnim polimerima, npr. polisaharidima. Zaslužni su za transformaciju životinjske kože u nepropusnu, za trpkost i inhibiciju enzima. U svakom primjeru tanini reagiraju s proteinima, s kolagenom u proizvodnji kože, s glikoproteinima i sa prolinskim proteinima u slini, sa sredstvima za doradu vina na bazi proteina i s proteinskim dijelom enzima. U kemijskom smislu, tanini su relativno velike molekule koje nastaju polimerizacijom elementarnih molekula s fenolnom funkcijom. Njihova konfiguracija utječe na njihovu reaktivnost. Oni i trebaju biti dovoljno veliki kako bi mogli stvoriti stabilne spojeve s proteinima (Ribéreau – Gayon i dr., 2006).

Neflavonoidni fenolni spojevi iz biljaka dijele se na hidroksibenzojeve, hidroksicimetne kiseline, hlapive fenole, stilbene i druge različite spojeve (npr. lignani i kumarini). Hidroksibenzojeve kiseline su organski spojevi koji se sastoje od fenolnog prstena i karboksilne grupe tvoreći zajedno C6-C1 strukturu. Najučestaliji derivati hidroksibenzojeve kiseline pronađeni u biljkama su galna, vanilinska, p-hidroksibenzojeva, siringinska i prokatehinska kiselina (Zhang i dr., 2015).

Hidroksicimetne kiseline, dosta rasprostranjene u hrani biljnog podrijetla, su skupina polifenola s C6-C3 strukturom. Postoje u slobodnom obliku ili povezane s drugim spojevima. Hlapivi fenoli imaju aromatske karakteristike, stilbeni služe kao fitoaleksini i utječu na okus (Zhang i dr., 2015).

#### 2.4.2. Polifenoli iz vina

Polifenolni spojevi od velike su važnosti u vinarstvu. Odgovorni su za sve razlike između crnih i bijelih vina, posebice za boju i okus crnih vina. Također, od velikog su značaja zbog



*Dijagram 1: Podjela fenolnih spojeva iz grožđa i vina (Zamora, 2003; Kontoudakis, 2010)*

povoljnog utjecaja na ljudsko zdravlje. Imaju baktericidna, antioksidativna i svojstva vitamina koja štite od kardiovaskularnih bolesti (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Ti se spojevi nalaze u gotovo svim dijelovima grozda, a ekstrahiraju se tijekom primarne prerade grožđa i maceracije. Struktura polifenolnih spojeva mijenja se ovisno o tome dozrijeva li vino u drvenoj bačvi, inox tanku ili boci, međutim te promjene nisu u potpunosti istražene i objašnjene (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Fenolni spojevi iz grožđa i vina mogu se klasificirati na različite načine. Najčešći način koji se koristi jest prema razlici flavonoidnih i neflavonoidnih spojeva. Obje skupine dijele se dalje u podskupine (***Error! Reference source not found.***), te svaku karakteriziraju određena specifična svojstva koja posjeduju kao što su boja, miris i okus (Cheynier i dr., 2006; Kontoudakis, 2010).

Flavonoide najčešće nalazimo u kožici, sjemenci i peteljci, a neflavonoide uglavnom u mesu bobice i u drugim dijelovima grozda, ali u puno manjim koncentracijama (Zamora, 2003; Kontoudakis 2010).

#### 2.4.2.1. Neflavonoidi

Neflavonoidne spojeve koje nalazimo u grožđu i vinu su fenolne kiseline i stilbeni.

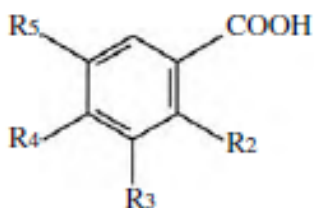
#### 2.4.2.1.1. Fenolne kiseline

Grožđe i vino sadrži hidroksibenzojeve i hidroksicimetne kiseline. Koncentracije se kreću između 100 i 200 mg/l u crnim vinima i 10 – 20 mg/l u bijelim vinima.

Fenolne kiseline su bezbojne u razrijeđenoj alkoholnoj otopini, no mogu požutiti zbog oksidacije. Organoleptički gledano, ti spojevi nemaju određeni okus i miris. Međutim, služe kao prekursori hlapivih fenola, a pretvaraju ih određeni mikroorganizmi (kvasci iz roda *Brettanomyces*) (Ribéreau – Gayon i dr., 2006).

Identificirano je sedam hidroksibenzojevih kiselina, galna, gentizinska, *p*-hidroksibenzojeva, prokatehinska, salicilna, siringinska i vanilinska. Raspodjela ugljika u strukturnoj formuli je C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> (*Shema 3*) (Kontoudakis, 2010). U grožđu galna kiselina nalazi se u mesu, a u obliku estera s flavan-3-olima u sjemenci (Lu i dr., 1999, Kontoudakis, 2010). Također, druge hidroksibenzojeve kiseline i derivati mogu se naći u grožđu i vinu (Monagas i dr., 2005, Kontoudakis, 2010) (

*Tablica 2*). Dvije su prisutne samo u tragovima, salicilna (*ortho*-hidroksibenzojeva kiselina) i gentizinska (2,5-dihidroksibenzojeva kiselina). Te se kiseline razlikuju prema stupnju supstitucije benzenskog prstena. U grožđu su prisutne u obliku glikozida i u obliku estera (galni i elaginski tanini), a u crnim vinima se pretežito javljaju u slobodnom obliku (Ribéreau – Gayon i dr., 2006).



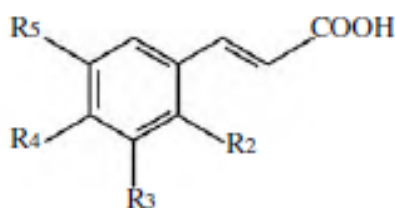
*Shema 3: Strukturna formula benzojeve kiseline (Ribéreau – Gayon i dr., 2006)*



Tablica 2: Fenolne kiseline iz grožđa i vina

| Hidroksibenzojeve kiseline | R2 | R3               | R4 | R5               | Hidroksicimetne kiseline |
|----------------------------|----|------------------|----|------------------|--------------------------|
| <b>p-Hidroksibenzojeva</b> | H  | H                | OH | H                | p-Kumarinska             |
| <b>Prokatehinska</b>       | H  | OH               | OH | H                | Kafeinska                |
| <b>Vanilinska</b>          | H  | OCH <sub>3</sub> | OH | H                | Ferulinska               |
| <b>Galna</b>               | H  | OH               | OH | OH               | Sinapinska               |
| <b>Siringinska</b>         | H  | OCH <sub>3</sub> | OH | OCH <sub>3</sub> | Kaftarinska              |
| <b>Salicilna</b>           | OH | H                | H  | H                | Kutarinska               |
| <b>Gentizinska</b>         | OH | H                | H  | OH               | Fertarinska              |

Izvor: Ribéreau – Gayon i dr., 2006



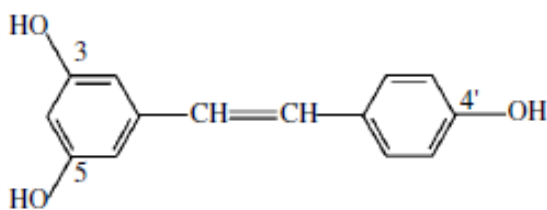
Shema 4: Strukturna formula cimetne kiseline (Ribéreau – Gayon i dr., 2006)

U grožđu i vinu javlja se nekoliko hidroksicimetnih kiselina (C6 - C3), kafeinska, *p*-kumarinska, ferulinska i sinapinska (

Tablica 2) (Shema 4). Pronađene su u malim količinama u slobodnoj formi, a većina je uglavnom esterificirana s vinskom kiselinom. Također, mogu se naći u obliku jednostavnih glikozida s glukozom. Ove kiseline smještene su vakuolama stanica kože i mesa grozda u obliku estera s vinskom kiselinom. Ti esteri prisutni u grožđu i vinu su kaftarinska, kutarinska i fertarinska kiselina u *trans* obliku iako se mogu pronaći i male količine *cis* izomera (Singleton i dr., 1978; Kontoudakis 2010). Esteri s vinskom kiselinom, posebice *trans*-kaftarinska kiselina ili *p*-kumarinska kiselina, zaslužni su za posmeđenje bijelih moštava, pošto ti spojevi imaju visok stupanj oksidacije (Cheynier i dr., 2000; Ribéreau – Gayon i dr., 2006).

#### 2.4.2.1.2. Stilbeni

Stilbeni su tvoreni od dva benzenska prstena povezana dvostrukom vezom etana. Najzastupljeniji je *trans*-resveratrol, 3,5,4-trihidroksistilben (*Shema 5*). U vinovoj lozi i vinu pronađeni su stilbene u oligomernom i polimernom obliku (Rentzsch i dr., 2009; Kontoudakis, 2010). Biljka može sintetizirati ove spojeve kao obranu od gljivične infekcije i ultraljubičastog zračenja u listovima, korijenu i kožici bobice (Jeandet i dr., 1991; Kontoudakis, 2010). Smješteni su u kožici grozda i uglavnom se ekstrahiraju tijekom fermentacije crnih vina, a brojnim je istraživanjima potvrđeno njihovo blagotvorno djelovanje na ljudsko zdravlje. Koncentracije resveratrola variraju između 1 i 3 mg/l (Ribéreau – Gayon i dr., 2006). Osim toga, ovi su spojevi pronađeni i u drugim dijelovima bobice, npr. kod loza iz poroda *Muscadinia* (*Vitis Rotundifolia*) (Ector i dr., 1996; Kontoudakis, 2010). Stilbeni nemaju značajan utjecaj na organoleptička svojstva vina, međutim, zbog njihovog antioksidativnog, antikancerogenog i neuroprotektivnog potencijala imaju bitnu ulogu u zaštiti ljudskog zdravlja (Perez-Lopez i dr., 2009; Kontoudakis, 2010).



*Shema 5: Strukturna formula resveratrola (Ribéreau – Gayon i dr., 2006)*

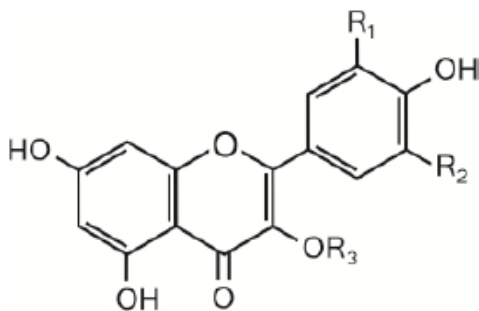
#### 2.4.2.2. Flavonoidi

Flavonoli, flavanonoli, flavoni, flavan-3-oli i antocijani su spojevi koji spadaju u skupinu flavonoida.

Među njima najznačajnije i najbrojnije skupine su flavanoli i antocijani koje su dobrim dijelom zaslužni za kvalitetu crnih vina (Kontoudakis, 2010). Antocijani su crveni pigmenti grožđa, koji daju boju crnom vinu, dok flavanoli doprinose okusu (gorčina i astrigencija) i utječu na razvoj oksidativnog posmeđenja, maglušavosti i taloga (Moreno-Arribas i dr., 2009).

#### 2.4.2.2.1. Flavonoli

Flavonoli su žuti pigmenti koji služe kao zaštita od ultraljubičastog zračenja (Flint i dr., 1985; Kontoudakis, 2010). Najvećim dijelom flavonoli se nalaze u kožici bobice, iako su pronađeni i u mesu bobice, ali u puno manjoj mjeri (Pereira i dr. 2006; Kontoudakis 2010). U grožđu su prisutni u obliku glikozida 4 glavna aglikona, kempferol, kvercetin (*Shema 6*), miricetin i isohamnetin. U vinu se mogu naći i u obliku aglikona, ali vjerojatno je to rezultat hidrolize glikozida tijekom vinifikacije (Cheynier i dr., 2000; Kontoudakis, 2010).



Kvercetin; R<sub>1</sub>-OH, R<sub>2</sub>-H, R<sub>3</sub>-H

*Shema 6: Strukturna formula flavonola (Kontoudakis, 2010)*

#### 2.4.2.2.2. Flavononoli i flavoni

Flavononoli astilbin i engeletin najzastupljeniji su spojevi ove skupine. Pronađeni su u kožici bobice i vinu od bijelog grožđa (Trousdale i dr., 1983; Kontoudakis 2010), u mesu bobice, u peteljkovini i u crnom vinu (Vitrac i dr., 2001; Kontoudakis 2010). Flavoni imaju sličnu strukturnu formulu kao i flavononoli. Spojevi koji su pronađeni u vinu su apigenin, baikalein i luteolin (Wang i dr., 2004; Kontoudakis 2010).

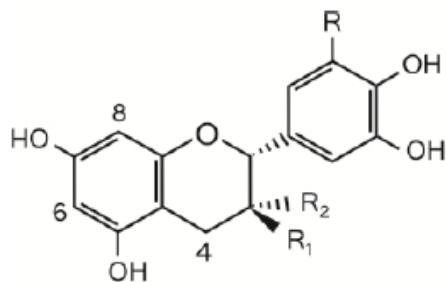
#### 2.4.2.2.3. Flavanoli

Flavanoli ili flavan-3-oli pronađeni su u visokim koncentracijama u sjemenkama i kožici grozda i u peteljkovini (Souquet i dr., 2000; Kontoudakis 2010). Imaju veliki utjecaj na organoleptička svojstva vina. Pronađeni su u obliku monomera, oligomera i polimera.

Monomeri se još nazivaju katehini i razlikuju se po stupnju hidroksilacije B prstena. U svojoj strukturi imaju dva asimetrična ugljika (C2 i C3), što omogućava postojanje četiri optička izomera za svaki katehin, (+)/ (-) katehin i (+)/ (-) epikatehin (*Shema 7*). K tome, postojanje

treće OH skupine na aromatskom B prstenu omogućava stvaranje (+)/ (-) galokatehina i (+)/ (-) epigalokatehina. U prirodi su ovi spojevi pronađeni kao takvi, ali i kao metilirani, glikozilirani i acilirani derivati, najčešće kao esterificirani derivati galne kiseline na položaju C3 (Kontoudakis, 2010).

U grožđu najzastupljeniji monomeri flavan-3-ola su (+) katehin, njegov isomer (-) epikatehin i u relativno visokim koncentracijama (-) epikatehin-3-galat (Cheynier i dr., 2000; Kontoudakis, 2010). Također u manjim koncentracijama pronađeni su (+) galokatehin, (-) epigalokatehin, (+) katehin-3-galat i (+) galokatehin-3-galat (Lee i dr., 1990; Kontoudakis 2010). Monomeri flavan-3-ola predstavljaju samo mali dio jer je najveći dio flavan-3-ola u oligomernom i polimernom obliku (Zamora, 2003; Kontoudakis 2010).



(+) katehin: R-H, R<sub>1</sub>-OH, R<sub>2</sub>-H

(-) epikatehin: R-H, R<sub>1</sub>-H, R<sub>2</sub>-OH

(+) galokatehin: R-OH, R<sub>1</sub>-OH, R<sub>2</sub>-H

Shema 7: Strukturna formula monomera flavan-3-ola (Moreno-Arribas i dr., 2009)

#### 2.4.2.2.4. Tanini

Kondenzirani tanini su više ili manje kompleksni polimeri flavan-3-ola, odnosno katehina. Osnovne strukturne jedinice su (+) katehin i (-) epikatehin. Zagrijavanjem ovih polimera u kiseloj otopini dolazi do stvaranja nestabilnih karbokationa koji se kondenzacijom najčešće pretvaraju u crvene cijanidine, od kuda naziv procijanidini (Ribéreau – Gayon i dr., 2006).

Razne molekule tanina topive su u vodi i brzo se otapaju u razrijeđenoj alkoholnoj otopini kao što su vino ili vinjaci (Ribéreau – Gayon i dr., 2006). Imaju vrlo značajnu ulogu u dozrijevanju crnih i bijelih vina u drvenim bačvama zbog antioksidativnih (Vivas i dr., 1993; Ribéreau – Gayon i dr., 2006) i organoleptičkih svojstava (Ribéreau – Gayon i dr., 2006).

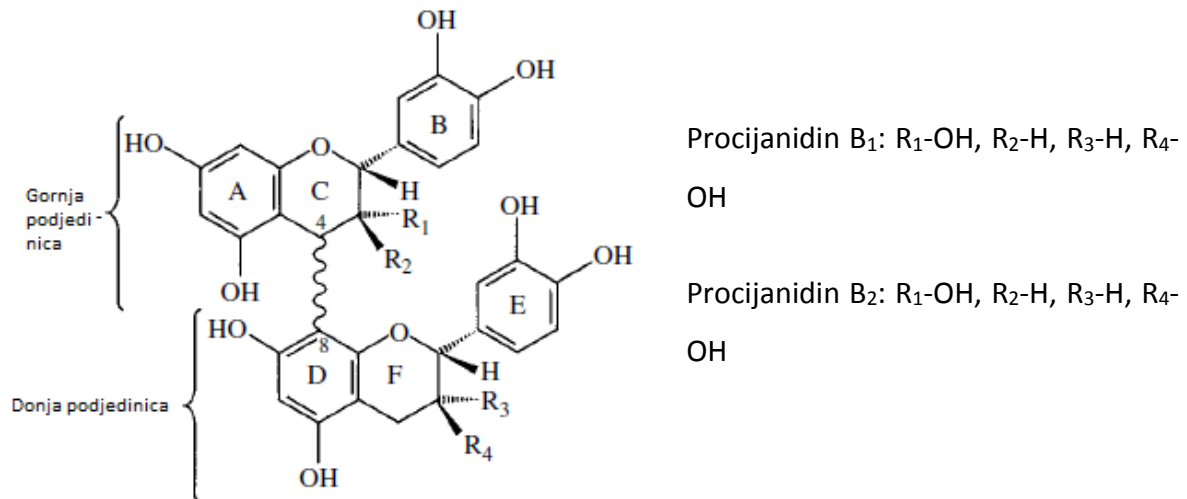
Provođenje analize ovih spojeva je poprilično složeno zbog velikih strukturnih razlika koje su posljedica različitog broja hidroksilnih grupa, njihovom smještaju na aromatskom prstenu, stereokemije asimetričnih ugljika na piranskom prstenu, vrste i broja veza između osnovnih jedinica. Unatoč napretku koji je postignut na polju tekućinske kromatografije i spektrometrije nisu otkrivene sve strukture, odnosno ne mogu se analizirati. Samo dimeri i nekoliko trimera procijanidina je u cijelosti istraženo (Ribéreau – Gayon i dr., 2006).

Raznolikost ovih spojeva objašnjava postojanje tanina s mnogobrojnim, drugačijim svojstvima, posebno u pogledu okusa, kod različitih sorata grožđa i tipova vina.

Moguće je izolirati i razdijeliti sljedeće spojeve grožđa i vina: (+) katehin, galokatehin, (-) epikatehin, epigalokatehin i epikatehin-3-O-galat. Od tih osnovnih jedinica mogu se tvoriti dimeri, trimeri, oligomeri i kondenzirani procijanidini. Katehini se ne mogu smatrati taninima, pošto je njihova molekulska masa preniska i imaju vrlo ograničena svojstva vezana za proteine. Dovoljno visoku molekulsku masu imaju od dimera nadalje, te kao takvi mogu tvoriti stabilne veze s proteinima (Ribéreau – Gayon i dr., 2006).

Dimerni procijanidini mogu se podijeliti u dvije skupine (*Shema 8*) (Ribéreau – Gayon i dr., 2006).

- Tip – B procijanidin ( $C_{30}H_{26}O_{12}$ ) dimer je koji je rezultat kondenzacije dvije jedinice flavan-3-ola povezanih na C4-C8 (B1-B4) poziciji ili na C4-C6 (B5-B8).
- Tip – A procijanidin ( $C_{30}H_{24}O_{12}$ ) dimer koji je povezan eterskom vezom između C5 ili C7 ugljika donje podjedinice s C2 ugljikom gornje podjedinice.



Shema 8: Strukturna formula procijanidina B (Ribéreau – Gayon i dr., 2006)

Oligomerni procijanidini su polimeri koji su građeni od tri do deset flavanolskih jedinica, povezanih C4-C8 ili C4-C6 vezama. Moguć je beskonačan broj izomera, što objašnjava zašto je teško klasificirati i identificirati sve te molekule. Kondenzirani procijanidini imaju više od deset flavanskih jedinica i molekulsku masu veću od 3000 (Ribéreau – Gayon i dr., 2006).

Kondenzirani tanini, posebice procijanidini i katehini mogu se naći u svim čvrstim dijelovima grozda (kožica, sjemenke, peteljka) i otapaju su u vinu kada se ekstrahiraju iz kožice. Koncentracije u crnim vinima variraju ovisno sorti i, u još većoj mjeri, o tehnologiji proizvodnje. Vrijednosti se kreću između 1 i 4 g/l. Kod bijelih vina, okvirni pokazatelj koncentracije tanina je prirodno taloženje. Koncentracije se kreću od 100 mg/l ako se mošt uredno taloži, do 200, 300 mg/l ako se fermentacija odvijala na talozima. Slatka vina dobivena od botritiziranog grožđa imaju vrlo nisku količinu tanina, pošto su se oni razgradili djelovanjem gljivica (Ribéreau – Gayon i dr., 2006).

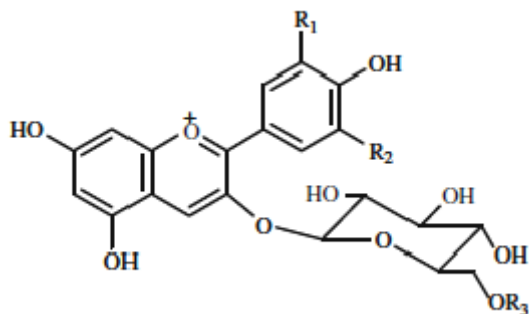
Budući da su visoko reaktivne, molekule flavanola kondenziraju se zajedno. Za razliku od antocijana i flavonola, flavanoli nemaju glikozidne oblike, ali mogu biti vezani za polisaharide u grožđu i ekstrahirani kao kompleksi tijekom primarne prerade grožđa (Ribéreau – Gayon i dr., 2006).

#### 2.4.2.2.5. Antocijani

Antocijani su crveni pigmenti u grožđu, smješteni su najčešće u kožici bobice, a samo kod nekih sorata u mesu, sorte bojadiseri. Ima ih u velikoj količini i u lišću, dolaze do izražaja krajem vegetacije, prije samog opadanja lišća (Moreno-Arribas i dr., 2009).

Njihovu strukturu čini kation flavilijuma uključujući dva benzenska prstena koji su povezani nezasićenim kationskim oksigeniranim heterocikličkim prstenom, koji je nastao od jezgre 2-fenil-benzopirilijuma. Pet je različitih molekula otkriveno u grožđu i vinu, 3-O-monoglukozi i 3-O-aciliranih monoglukozi pet glavnih antocijanidina, delfinidin, cijanidin, petunidin, peonidin i malvidin, koji se međusobno razlikuju po poziciji i broju hidroksilnih i metoksilnih skupina smještenih na B-prstenu te molekule (Moreno-Arribas i dr., 2009).

Ovi su spojevi puno stabilniji u obliku glikozida (antocijani) nego u obliku aglikona (antocijanidini). U grožđu i vinu *Vitis vinifera* pronađeni su antocijani samo u obliku monoglukozi i aciliranih monoglukozi, aciliraju se s *p*-kumarinskom, kafeinskom i octenom kiselinom (Shema 9) (Moreno-Arribas i dr., 2009).



| Antocijanid | R1   | R2   |
|-------------|------|------|
| Cijanidin   | OH   | H    |
| Delfinidin  | OH   | OH   |
| Peonidin    | OCH3 | H    |
| Petunidin   | OCH3 | OH   |
| Malvidin    | OCH3 | OCH3 |

R3 – acetil, - *p* – kumaril, - kafeoil

Shema 9: Strukturna formula antocijana (Moreno-Arribas i dr., 2009)

Posljednjih godina upotrebom spektometrijskih tehnika dokazana je prisutnost 3-O-glukozi, 3-O-acetilmonoglukozi i 3-O-*p*-kumarilmonoglukozi od delfinidina, cijanidina, petunidina, peonidina i malvidina u grožđu i vinu (Moreno-Arribas i dr., 2009).

Prisutnost diglukozidnih antocijana povezana je s određenim vrstama roda *Vitis* (*V. riparia* i *V. rupestris*) (Ribéreau – Gayon i dr., 2006).

Boja ovih pigmenata ovisi o uvjetima u mediju (pH, SO<sub>2</sub>), o strukturi i o okolišnim uvjetima. S jedne strane supstitucija bočnog prstena dovodi do maksimalne apsorpcije valne duljine (prema ljubičastoj). S druge strane, fiksacija glukoze i acilacija mijenjaju boju u suprotnom smjeru, prema narančastoj (Ribéreau – Gayon i dr., 2006).

Te su molekule uglavnom smještene u kožici bobice, s koncentracijskim gradijentom iz unutrašnjosti prema van bobice (Ribéreau – Gayon i dr., 2006). Molekule pigmenta nalaze se u otopini u vakuoli stanice u prisustvu drugih polifenola (fenolne kiseline, flavonoidi...), te utječu na boju. Kopigmentacija općenito daje vinu ljubičastu nijansu (Ribéreau – Gayon i dr., 2006).

Rasprostranjenost i koncentracija antocijana u grožđu ovisi o sorti, dozrelosti, klimatskim uvjetima, području uzgoja i prinosu. Sastav antocijana u vinu ovisi o sastavu u grožđu, ali i o ekstrakciji i tehnologiji proizvodnje koja se provodila. Proces maceracije najznačajniji je u ekstrakciji antocijana i drugih fenolnih spojeva iz čvrstih dijelova grožđa i mošta (Moreno-Arribas i dr., 2009).

Ovi čimbenici pojašnjavaju razlike u boji grožđa crnih sorata. Sve sorte imaju istu osnovu, struktura antocijanida, no postoji nekoliko varijacija u sastavu. Među pet antocijana, molekula malvidina je najzastupljenija kod svih sorata, (90 % 'Grenache', manje od 50 % 'Sangiovese'). Smatra se da malvidin monoglukozid (malvin) čini osnovu boje kod crnih sorata, a samim time i kod crnih vina, dok je količina aciliranih monoglukozida vrlo promjenjiva ovisno o sorti (Ribéreau – Gayon i dr., 2006).

U vinima od *Vitis vinifera*, prisutnost etanola negativno djeluje na kopigmentaciju, a acilirani antocijani nekoliko mjeseci nakon fermentacije nestaju, stoga nisu pouzdani za korištenje kod identifikacije sorata. Koncentracije ovise o mnogo čemu, počevši od sorte do starosti vina. Kod nekih sorata ('Pinot Noir') koncentracije se kreću oko 100 mg/l dok se kod drugih, obojenijih sorata ('Syrah', 'Cabernet Sauvignon', itd.) kreću do 1500 mg/l. Nakon fermentacije, u prvim godinama dozrijevanja u bačvi ili boci koncentracije antocijana brzo opadaju dok ne dosegnu minimalnu vrijednost od 0-50 mg/l. Ove su vrijednosti dobivene analitičkim metodama određivanja antocijana. Većina ovih pigmenata spaja se i kondenzira s taninima kako bi se stvorili, stabilniji spojevi boje koji najčešće nisu analitički obuhvaćeni. Taj kompleks antocijana



zaslužan je za boju vina. Još jedna, relativno mala frakcija antocijana se gubi, zbog vanjskih čimbenika (temperatura, svjetlost, kisik, itd.) ili zbog taloženja. Gubitak ovih pigmenata je zapravo štetan za kvalitetu vina jer vodi ka gubitku boje (Ribéreau – Gayon i dr., 2006).

Reaktivnost antocijana, postoje četiri različite strukture antocijana u ravnoteži, u kiselom ili neutralnom mediju, kation flavilijuma (crveni), kvinodijaska baza (plavi), hemiketalna ili karbinolna pseudobaza (bezbojni) i halon (bezbojni). Ovisno o pH vina, antocijani mogu biti elektrofilni u obliku flavilijuma sa svojim C prstenom, na pozicijama C2 i C4 ili nukleofilni u hemiketalnom obliku na pozicijama C6 i C8, na A prstenu. Može doći do izbjeljivanja antocijana u vinu vezivanjem vode ili bisulfita na C2 i C4 poziciji (Moreno-Arribas i dr., 2009).

### 2.4.3. Polifenoli iz hrasta

Polifenolni spojevi pronađeni u hrastu imaju ulogu koja utječe na dozrijevanje vina. Nisu jedini koji utječu na dozrijevanje, ali važni su i zbog antioksidativnog djelovanja. Klasificirani su u tri glavne skupine; hlapivi fenoli, fenolne kiseline i elagitanini (Zhang i dr., 2015).

#### 2.4.3.1. Hlapivi fenoli

Hlapivi fenoli su jednostavni fenolni spojevi iz hrasta koji se mogu ekstrahirati u vino, modificirajući aromatski profil vina. Eugenol, sa svojim karakterističnim mirisom glavni je hlapivi fenol. Prisutan je i u sirovom drvetu, a njegov se sadržaj povećava tijekom sušenja drveta na zraku. Eugenol i izoeugenol daju vinu aromu sličnu klinčiću. Njegov sadržaj u vinu vezan je i uz jačinu paljenja bačvi. Ostali su hlapivi fenoli nisu prisutni u značajnim koncentracijama (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

4-vinilfenol je pronađen u tragovima u hrastu, ali njegov sadržaj može prijeći senzorni prag detekcije u vinima koja su dozrijevana dugi period, uzrokujući arome koje podsjećaju na miris štale i medicinski miris (Zhang i dr., 2015).

4-etilfenol je još jedan derivat fenola koji se može naći u vinima iz hrastovih bačvi ima miris koji podsjeća na konje, kožu i ustajali slatki miris kad koncentracije pređu 425 µg/L. S druge strane, gvajakol i njegovi derivati imaju puno niže senzorne pragove detekcije. Gvajakol i 4-metilgvajakol, daju arome na dimljeno i začinski, pikantno, imaju prag detekcije od 25 do 65 µg/L. 4-etilgvajakol s pragom detekcije 33 µg/L isto doprinosi začinskim, dimljenim i pečenim

aromama. Vinilgvajakol s pragom detekcije od 40 µg/L doprinosi začinskim i aromama na hrast i klinčić (Zhang i dr., 2015).

Fenolni aldehidi, također su prisutni, ali u vrlo malim količinama. Najznačajniji predstavnici su vanilin i siringaldehid, aldehidi benzojeve kiseline i koniferaldehid i sinapaldehid, aldehidi cimetine kiseline. Vanilin je značajan jer ima znatan udio u mirisu vina na hrast i vaniliju. Koncentracije *trans*-2-nonenala dosta variraju od bačve do bačve. Zajedno s *trans*-2-oktanalom i 1-dekanalom daje miris, koji podsjeća na daske ili piljevinu, te može utjecati na vino tijekom dozrijevanja. Taj neugodni miris karakterističan je za zelena drva i može se ublažiti intenzivnijim paljenjem unutrašnjosti bačve (Chatonnet, 1995; Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Rezultati mnogih istraživanja kazuju kako su koncentracije etilfenola, vinilfenola i vinilgvajakola u hrastu niske, ali količine pronađene u vinima odnose se uglavnom na rad mikroorganizama. Mliječno-kisele bakterije i kvasci iz bačve su povezani s tim negativnim aromama, npr. etilfenol je rezultat rada *Brettanomyces* kvasaca. 4-vinilfenol i 4-vinilgvajakol mogu se povezati s antocijanima na C4 i C5 pozicijama i zatim proći proces oksidacije, inkorporirani na piranski prsten tvore piranoantocijane. Takvi spojevi koji se vežu mogu promijeniti boju antocijana u narančastu i zaštititi ih od hidratacije i tako stabilizirati pigmente (Zhang i dr., 2015).

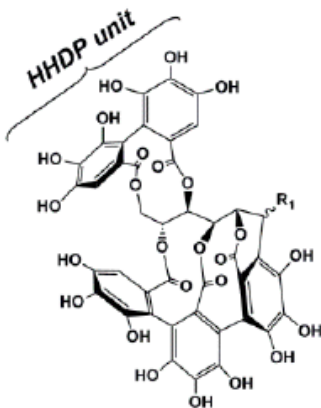
#### 2.4.3.2. Fenolne kiseline

Glavne fenolne kiseline pronađene u suhom i paljenom hrastu su hidroksibenzojeve i hidroksicimetine kiseline. Hidroksibenzojeve potječu direktno od benzojeve kiseline, a neke od njih su galna, gentizinska, *p*-hidroksibenzojeva, protokatehinska, siringinska, salicilna i vanilinska. Povezani spojevi koji nastaju iz tih kiselina su aldehidi s karboksilnom skupinom. Najbrojnije hidroksicimetine kiseline u hrastu su *p*-kumarinska, kafeinska, ferulinska i sinapinska. Neka istraživanja otkrila su kako je boja crnih vina pod snažnim utjecajem fenolnih kiselina, tako što poboljšavaju i stabiliziraju pigmente crnih vina inter- i intra- molekularnim reakcijama kopigmentacije. Hidroksicimetine kiseline mogu odraditi oko 60 -70 % stabilizacije (Zhang i dr., 2015).

#### 2.4.3.3. Hidrolizirajući tanini

Tanini iz hrasta nazivaju se hidrolizirajući, mogu se razgraditi u jednostavnije dijelove uz prisutnost vode ili kiseline, za razliku od tanina iz grožđa koji su kondenzirani, te stabilniji. Hrastovi tanini se formiraju u stablu tijekom rasta u svrhu skladištenja hrane. Ti se tanini nazivaju elagitanini i formiraju se kada se glukoza spoji s elaginskom, a ponekad galnom kiselinom. Spojevi koji nastaju su trpk i gorki i nisu privlačni za potencijalne predatore. Velikim dijelom, svrha sušenja i paljenja hrasta je učiniti te spojeve prihvatljivijima. Istovremeno, tijekom dozrijevanja ti spojevi sprječavaju oksidaciju i stvaranje nepoželjnih aroma u vinu (Zbornik radova, 1997).

Predstavnici monomera su veskalagin i kastalagin koji su pronađeni u vrstama hrasta koje se koriste u bačvarstvu, te predstavljaju 40-60 % od svih elagitanina prisutnih (*Shema 10*). Dimeri pronađeni u hrastu su roburin A i roburin D, derivati liksoze i ksiloze (grandinin, roburin B, roburin C i roburin E). Flavanoli, uključujući i dihidroflavonole povezuju se s elagitaninima tako tvoreći flavano-elagitanin derivate (acutissimin A i acutissimin B) i galagil-glukozide u čijoj strukturi je dio elaginska kiselina (punikalagin i pedunkulagin) (Zhang i dr., 2015).



*Shema 10: Strukturna formula monomera elagitanina (Zhang i dr., 2015)*

Njihova količina u drvetu djelomično ovisi o vrsti, o vrsti i duljini trajanja sušenja i paljenja. Mnoge karakteristične osobine hrasta mogu se pripisati tim elagitaninima, npr. elagitanini su toksični za mikroorganizme i mogu spriječiti brzo propadanje drva. Relativna količina elagitanina omogućava hrastu dobru otpornost na gljivične napade. Kombinacija elagitanina i tiloze u srži hrasta čini ovo drvo nezamjenjivim u bačvarstvu za dozrijevanje vina. Nadalje,

elagitanini mogu izravno utjecati na boju vina. Reakcija između elagitanina i ljubičastog ili crvenog pigmenta dobivenog iz grožđa daje novi antocijanski-elagitaninski spoj narančaste boje (Zhang i dr., 2015).

## 2.5. Ostali spojevi iz hrasta

Hrast se u bačvarstvu koristi zbog njegovih kemijskih i fizičkih svojstava. Među svim vrstama stabala na svijetu, hrast je jedinstven po veličini radijalnih zraka koje daju čvrstoću predmetima u koje se oblikuje to drvo. Kemijski gledano, to je doista čisto drvo, za razliku od mnogih vrsta drveća, kao što su bor i kaučukovac koji sadrže kanale smole (Zbornik radova, 1997).

Glavni sastavni dijelovi hrasta su tri gradivne jedinice svih drvenastih biljaka, celuloza, hemiceluloza i lignin, dodatni spojevi koji se nalaze u stanicama hrasta su tanini i male količine lipida, ulja, masti i voskovi. Jedna je skupina spojeva iznimka i javlja se više kod američkog hrasta, a to su hrastovi laktoni. Kod izrade bačvi, prilikom grijanja i paljenja, iz male količine lipida nastaju hrastovi laktoni. Ti spojevi daju značajan utjecaj na okus vina tijekom dozrijevanja (Zbornik radova, 1997).

### 2.5.1.1. Celuloza

Celuloza je najprošireniji prirodni polimer na Zemlji i sastoji se od jedinica glukoze koje su poredane u obliku linearnih lanaca. Nema utjecaj na dozrijevanje vina, ali služi za održavanje strukture drveta (Zbornik radova, 1997).

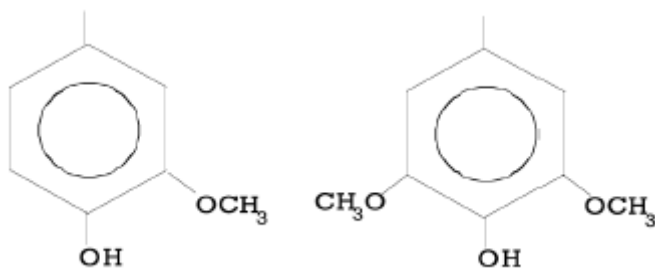
### 2.5.1.2. Hemiceluloza

Hemiceluloza je dvodimenzionalni polimer građen od nekoliko jednostavnih šećera, glukoza, ksiloza, manoz, ramnoza, arabinoza i galaktoza. Iako dvodimenzionalna, u usporedbi s celulozom, hemiceluloza je manje zastupljena i manje stabilna. Zagrijavanjem se raspada u gradivne šećere koji se karameliziraju, te doprinose stvaranju mirisa i okusa na tostirano, pečeno. Razgradnja hemiceluloze započinje na 140°C (Zbornik radova, 1997).

Spojevi koji nastaju paljenjem unutrašnjosti bačve su furfural, hidrosimetil furfural, maltol, cikloten i niz drugih spojeva koji nastaju kondenzacijom šećera te dobivaju smeđu boju karamele. Nastaju octena kiselina i metilni alkohol. Raspadom hemiceluloze, odnosno njezinih gradivnih šećera nastaju okus, miris i boja koji podsjećaju na tostirano, karamelizirano (Zbornik radova, 1997).

#### 2.5.1.3. Lignin

Lignin je trodimenzionalni polimer. Premda je jedan od brojnih spojeva na Zemlji, o njemu se najmanje zna. Poznato je da lignin iz tvrdog drva hrasta je građen od dva gradivna bloka, od gvajacil i siringil strukture (*Shema 11*). Tijekom dozrijevanja vina ove dvije strukture stvaraju dvije grupe spojeva. To su koniferaldehidi, vanilin i vanilinska kiselina koji nastaju od strukture gvajacila, povezani s okusom slatkoće i aromom vanilije i sinapaldehidi, siringaldehid i siringinska kiselina od strukture siringila (Zbornik radova, 1997).



*Shema 11: Strukturne formule siringila i gvajacila (Zbornik radova, 1997)*

#### 2.5.1.4. Hrastovi laktoni

Hrastovi laktoni posjeduju snažan drvenasti karakter koji doprinosi jedinstvenosti arome i okusa. Nalaze se u svim hrastovima koji se koriste u bačvarstvu, ali se *cis* izomeri javljaju u puno većoj mjeri u američkom hrastu nego kod drugih vrsta. *Cis* izomeri imaju puno snažniji karakter nego *trans* izomeri i utječu na vino koje je dozrijevano u novim bačvama, ali i u starim. Ta dva izomera nastaju u hrastu od malih količina lipida, ulja, masti i voskova, te se njihove koncentracije naglo povećavaju tijekom sušenja i paljenja hrasta. Puno ime ta dva spoja je *cis*-beta-metil-gama-oktalakton i *trans*-beta-metil-gama-oltalakton. Oba dva izomera posjeduju drvenasti i karakter kokosa, ali *cis* izomer puno intenzivnije (Zbornik radova, 1997).

## 2.6. Dozrijevanje vina u hrastovim bačvama

Primarni razlog zašto su se počele koristiti drvene bačve je upravo radi relativno jednostavnog rukovanja njima i ponajviše radi sigurnog transporta vina. Tek nakon nekog vremena, počeo se cijeniti njihov pozitivni utjecaj na razvoj vina, odnosno učinak na boju, bistroću, miris i okus (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Općenito gledajući, dozrijevanje vina u hrastovim bačvama smatra se tradicionalnom metodom u vinarstvu, a posebice za dozrijevanje vrhunskih vina, koje se stavlja u bačvu odmah pri završetku fermentacije te se njeguje u njima sve do punjenja u boce.

Međutim, upotreba drvenih bačava zahtijeva povećane financijske izdatke i opasnost od kontaminacije mikroorganizmima i mogućnost pojave bolesti i mana vina. Zbog tih se razloga praksa dozrijevanja čak i visoko kvalitetnih vina u inertnim tankovima proširila polovicom prošlog stoljeća. U to vrijeme, prestanak upotrebe drvenih bačvi rezultirao je poboljšanom kvalitetom ondašnjeg vina, bilo je manje kompleksno ali puno čišće i voćnije (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Posljednjih nekoliko godina, zbog povoljne ekonomske klime u svijetu vinarstva, brojni su vinari ponovno posegnuli za upotrebom drvenih bačvi. Sve su veća saznanja o utjecaju hrastove bačve na razvoj vina, ali i kako prilagoditi vrijeme dozrijevanja vina s kvalitetom istog. Upotrebom detaljnih analiza i tehnologije moguće je vrlo precizno definirati vrijeme korištenja bačve i njezin utjecaj na vino (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

### 2.6.1. Čimbenici koji utječu na dozrijevanje vina

Bitni čimbenici koji utječu na dozrijevanje vina u bačvi su vrsta hrasta i način na koji su bačve izrađene (stupanj paljenja) (čimbenici koji su već opisani u tekstu iznad), trajanje dozrijevanja, reakcije oksidacije i redukcije, te hlapivi i nehlapivi spojevi koji se otpuštaju iz hrasta.

#### 2.6.1.1. Trajanje dozrijevanja

U nekim državama, kao što su Amerika i Australija, enolozi odlučuju o optimalnom vremenu dozrijevanja za svako vino. U nekim drugim zemljama vrijeme koje vino treba provesti u bačvi

regulirano je zakonom. Najbolje je analitički pratiti razvoj spojeva ekstrahiranih iz hrastovine u vinu, jer taj čimbenik, uz degustaciju, može poslužiti za određivanje optimalnog vremena čuvanja vina u bačvama (Garde-Cerdan i dr., 2006).

#### 2.6.1.2. Oksidacija – redukcija

Kisik u crnim vinima može biti različitog podrijetla. Pretoci, korištenje određenih postupaka i drugi poslovi u podrumu predstavljaju podrijetlo glavnog udjela kisika u vinu (više od 50 %), ostatak predstavlja kisik koji se absorbirao tijekom dozrijevanja u drvetu. Količina kisika koju vino absorbira ovisi o podrijetlu drveta, kao i o vrsti i položaju čepa. Smatra se da (Vivas, 1993; Ribéreau-Gayon i dr., 2006) kisik prolazi direktno kroz drvo (16 %), a uglavnom kroz otvore između dužica (63 %). Manje količine propuštaju se kroz otvor za čep, također, od značaja je na kojem se položaju nalazi taj otvor. Drveni i čvrsti silikonski čepovi smješteni s bočne strane bačve stvaraju vakuum od 120 mbar (Ribéreau-Gayon i dr., 2006), što povećava količinu otopljenog kisika u vinu. Teško je odrediti točnu količinu kisika koji ulazi u vino, jer mjerenja, čak i u pokusnim otopinama, ne uračunavaju količinu kisika s kojom reagiraju elagitanini iz hrasta. Otopljeni kisik stalno nestaje oksidacijom raznih spojeva u vinu. Količine mogu varirati od 100 do 200 mg/l (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Oksidacija tijekom dozrijevanja vina u bačvama ne javlja se isključivo radi povećanog sadržaja kisika u vinu. Elagitanini iz hrasta su otopljeni u vinu (kastalagin, veskalagin, roburin i dr.), bez obzira na njihove koncentracije teško ih je točno izmjeriti, procjenjuje se oko 100 mg/l. Međutim, njihove koncentracije opadaju pravilno, kao rezultat oksidacije njih samih. U slučaju nedostatka kisika, elaginski tanini su sposobni izmijeniti strukturu tanina u vinu, tako što se povezuju s antocijanima i samim time doprinose stabilizaciji boje (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Ta infuzija kisika doprinosi kvaliteti crnih vina, posebice boji, aromi i okusu. Prema tome, dozrijevanjem, vina postižu bolju boju, finije arome, bolju zaokruženost i harmoničnost okusa, te se smanjuje zeleni i drvenasti karakter bačve. Osim prednosti ovog procesa koji utječe na senzorna svojstva vina značajna su i zdravstvena svojstva koje vino stječe. To se odnosi na povećanje antioksidativne aktivnosti i hvatanja slobodnih radikala (Zhang i dr., 2015).

#### 2.6.1.3. Nehlapivi spojevi iz hrasta

Uz elagitanine, hrast otpušta određenu količinu ostalih spojeva, uglavnom lignine, od njih najviše koncentracije gvajacila i siringila, lignane (lioni-resinol) i triterpene (Ribéreau-Gayon i dr., 2006). Kumarini su isto prisutni u hrastu, a koncentracije u vinu ovise o vrsti drva i načinu na koji je sušeno. Mogu biti prisutni u obliku heterozida (skopolin, eskulin) i u obliku aglikona (skopoletin, eskuletin) (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Sljedeća skupina molekula koja se ekstrahira iz hrasta, dobivena je transformacijom elagitanina, a moguće i lignina, doprinosi rastu koncentracije fenolnih kiselina, a to je galna kiselina s koncentracijom od oko 50 mg/l (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Brojna provedena istraživanja na ovu temu ustvrdila su da organoleptička svojstva ovih spojeva imaju znatan utjecaj na okus vina (Vivas, 1993; Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

- Fenolne kiseline (galna kiselina) imaju kiseo i gorak okus,
- Kumarini (aglikoni) su kiseli i grubi, a njihovi glikozidi su vrlo gorki,
- Elagitanini su astrigentni, kao i galotanini, koji ostavljaju gorak i kiselkast dojam.

Ovisno o uvjetima, hrast može otpustiti i polisaharide, uglavnom hemicelulozu, koja doprinosi okusu vina.

Prilično je jasno kako vina dozrijevana u hrastovim bačvama imaju drugačija organoleptička svojstva od onih koja dozrijevaju u inox tankovima. Hrast ima dva kontradiktorna efekta, zbog fenolnih spojeva koje otpušta u vino pojačava dojam grubosti, dok kondenzirani tanini postaju mekši zbog nastajanja kondenziranih polimera. Krajnji rezultat ovisi o intenzitetima ove dvije pojave. Postoji opasnost od previše grubog karaktera vina, što ovisi o strukturi tanina iz vina i o svojstvima bačve (podrijetlo, vrsta, izrada, tehnologija...) (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

#### 2.6.1.4. Promjene tijekom dozrijevanja

Brža i bolja bistroća vina postiže se kada je vino dozrijevano u bačvi nego u tanku, a to je zbog manjeg volumena drvenih bačvi. Bistrenje je olakšano i zbog pojave adsorpcije koja se javlja kod hrasta. K tome, vino u bačvi je osjetljivije na vanjsku temperaturu, pa je mnogo



vjerojatnije da će taloženje soli, čestica i tvari boje biti izazvano zimskom hladnoćom. Reakcije stabilizacije koje utječu na boju, bistroću i koloide, kao i promjene u strukturi fenola (mekšanje tanina), te promijene aromatskog profila javljaju se tijekom dozrijevanja vina. Sve te reakcije koje se događaju u bačvi intenzivnije su nego što je slučaj u velikim hermetičkim tankovima, koji su teoretski inertni (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Uz kontroliranu oksidaciju, fenolni sastav vina znatno se mijenja tijekom dozrijevanja u bačvi. Boja postaje intenzivnija zbog međusobnih reakcija tanina i antocijana, kao i reakcija koje uključuju etanal. Koncentracija slobodnih antocijana pada, a struktura tanina se mijenja, kao i njegova reaktivnost na želatinu. Nakon deset mjeseci dozrijevanja u bačvi, vino ima boju koja je po intenzitetu i tonalitetu drugačija u odnosu na boju vina iz inox tankova pri čemu je stabilnija tijekom dozrijevanja u boci. Okus je složeniji, karakteriziraju ga mekši tanini, aroma je bogatija kao rezultat ekstrakcije mirisnih komponenti iz drva. Aroma hrasta mora biti pažljivo dozirana kako bi s vinom stvorila skladnu cjelinu. Iako bi proizvođači htjeli naglasiti hrastovu aromu u svojim vinima, treba biti oprezan i ne pretjerivati, ona ne bi trebala nadjačati svojstva vina. Doprinos bačve mirisu i okusu vina može se prilagoditi izmjenom udjela vina, posebice u novim bačvama (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

### 2.6.2. Kemijske reakcije

Dozrijevanje crnih vina trebalo bi biti provedeno skladnim razvojem raznih spojeva boje, okusa i mirisa. Boja se postepeno mijenja od rubin crvene, preko tamno crvene do ciglasto crvene. Vrlo stara crna vina mogu poprimiti i narančaste nijanse. Okus se također razvija, vino postaje mekše i manje astrigentno. Međutim, postoji opasnost da vino, tijekom dozrijevanja, postane tanko i okusno prazno. Razdoblje tijekom kojeg se te promjene događaju različito je za svako vino, ovisi o vanjskim uvjetima i kemijskom sastavu vina te njegovom potencijalu dozrijevanja (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Način na koji vino dozrijeva ovisi o fenolnom sastavu, određenom ukupnom količinom fenola, ovisi još o odnosu pojedinih pigmenata (tanini/antocijani), o vrsti tanina (tanini iz sjemenke su u obliku procijanidina različitih stupnjeva polimerizacije ili tanini iz kože koji su kompleksnije strukture). Na potencijal dozrijevanja utječu i polisaharidi porijeklom iz grožđa ili iz kvašćeve stanične strukture (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Antocijani i tanini ekstrahirani iz grožđa uključeni su u brojne reakcije koje u velikoj mjeri ovise o vanjskim uvjetima i stvaraju razne spojeve. Te su reakcije degradacije, modifikacije, i stabilizacije boje, polimerizacije tanina i kondenzacije s drugim spojevima (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Glavne posljedice ovih reakcija u crnim vinima koje uključuju fenole su promjene u intenzitetu boje, sklonost stvaranja žuto-narančaste nijanse (popraćena gubitkom boje) i različite promjene tanina koje su zaslužne za njihovo postepeno mekšanje (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

#### 2.6.2.1. Reakcije antocijana i utjecaj na boju

Ako se sastav vina redovito prati od kraja malolaktične fermentacije do nakon punjenja u boce, pomoću analitičkih metoda, primjećuje se pad koncentracije antocijana. Slobodni antocijani potpuno nestaju nakon nekoliko godina iako vino ostaje crveno. Te molekule su nestabilne i moraju se vezati s taninima u oblike stabilnih pigmenata odgovornih za boju starijih vina. Razina tanina najvažniji je čimbenik u stabilizaciji boje. U reakcijama razgradnje slobodni se antocijani razgrađuju toplinom u fenolne kiseline (uglavnom malvidin) i intenzivnom oksidacijom, uglavnom delfinidin, petunidin i cijanidin. Vrlo su osjetljivi na kinone i djelovanje oksidaza bilo izravno ili u kombinaciji s kaftarinskom kiselinom. Ova kiselina može čak reagirati u (nukleofilnom) kinonskom obliku ili vezana na antocijan. U reakcijama koje dovode do strukturnih promjena, antocijani reagiraju sa spojevima koji imaju polariziranu dvostruku vezu i oblikuju nove, narančaste pigmente koji su relativno neosjetljivi na SO<sub>2</sub> i varijacije u pH. Mogu biti različitog podrijetla, oni se mogu formirati oksidacijom (CH<sub>3</sub>CHO ...), kvascem (piruvična kiselina), ili bakterijskim (diacetil) metabolizmom ili mogu biti prisutni zbog prisutnosti *Botritisa* na grožđu (furfural) (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

U reakcijama stabilizacije nekoliko mehanizama dovodi do stvaranja kombinacije tanin-antocijan, ovisi ne samo o uvjetima u mediju (temperatura, oksidacija), već i o vrsti tanina i omjeru tanina/antocijana. Boja novih pigmenata kreće se od ljubičaste do narančaste i intenzivnija je nego kod slobodnih antocijana i slabo je osjetljiva na sadržaj SO<sub>2</sub> u mediju (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

#### 2.6.2.2. Reakcije tanina i utjecaj na okus

Molekule procijanidina imaju tendenciju da se polimeriziraju, kondenziraju s antocijanima i kombiniraju s biljnim polimerima kao što su proteini i polisaharidi.

Reakcije polimerizacije stvaraju homogene polimere tj. procijanidine polimerizirane organiziranim C4-C8 ili C4-C6 vezama, koje se pojavljuju u vinu kao kiselom mediju. Te su reakcije potaknute višim temperaturama, ali ovise i o stupnju oksidacije. Nekoliko reakcija događa se i u prisustvu kisika. Formirane molekule imaju prilično glomazne strukture, kao i svojstva različita od onih procijanidina, posebice svojstva vezana za stabilnost i sposobnost reagiranja s proteinima. Polimerizacija je ograničena taloženjem spojeva koji su već postali pretjerano krupni, hidrofobni i netopljivi. Dozrijevanje mora biti prilagođeno promicanju određenih reakcija i stabiliziranju vina, dok istovremeno sprječava ili usporava njegov razvoj. Ove transformacije imaju veliki utjecaj na okus. Pad polimeriziranih tanina nije uvijek popraćen smanjenjem trpkosti vina, ali često ostavlja dojam tankoće (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Reakcije kondenzacije uključuju druge spojeve kao što su antocijani, polisaharidi i proteini. Kombinacije s antocijanima povećavaju i stabiliziraju boju. Kombinacije s polisaharidima i proteinima manje su poznate. Ovisi o tipu polimera i pod utjecajem su temperature. Različite vrste polisaharida, iz grožđa i iz kvasaca prisutne su u vinu, uključujući neutralne polisaharide (glukani, dekstrini, manani, celulozu, itd.), polisaharide (pektine, itd.) i glikoproteine (manoproteine) (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Ove transformacije također imaju veliki utjecaj na okus. Organizirana polimerizacija stvara polimerizirane procijanidine koji su sve reaktivniji s proteinima i stoga imaju sve izraženiji taninski karakter. S druge strane, polimerizacija posredovana etanalom omekšava okus. Iako imaju istu količinu flavanola, molekule ovog tipa su manje reaktivne od procijanidina. Kombinacije s drugim komponentama kao što su antocijani, neutralni polisaharidi i proteini smanjuju njihovu reaktivnost. Astrigencija, opisana kao taktilna senzacija je u većoj mjeri povezan sa sadržajem tanina, degustatori ju opisuju kao "agresivnost" (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

## 2.7. Karakteristike vina

'Petit Verdot' je crna sorta grožđa, čije su male bobice, debele kožice vrlo cijenjene zbog duboke, tamne boje. Tradicionalno, sorta se koristi u Bordoškoj kupaži, a u posljednje vrijeme pojavljuju se monosortna vina 'Petit Verdota' u mnogim regijama na jugu Europe, u Americi i Australiji. Daje snažna, intenzivno obojana vina cvjetne arome (wine-searcher.com).

'Merlot' je sorta francuskog podrijetla, široko rasprostranjena u gotovo svim vinogradarskim zemljama svijeta, prema broju ha vinograda i hl proizvedenog vina, druga je sorta u svijetu, nakon 'Cabernet Sauvignona'. Vina ove sorte su rubinske boje, karakteristične sortne arome, koja podsjeća na miris zrele trešnje, relativno mekanih tanina i čokoladnog završetka. Mogu biti od grožđa uzgojenog iz klimatski i geografski različitih regija, a vina su redovito srednje do punog tijela (jancisrobinson.com).

'Cabernet Sauvignon' je visoko kvalitetna sorta francuskog podrijetla, koju nalazimo u gotovo svim vinogradarskim zemljama svijeta. Analizom pomoću SSR- markera, otkriveno je da je 'Cabernet Sauvignon' potomak križanja sorte 'Cabernet Franc' i 'Sauvignon Blanc'. Često dolazi u mješavini, zajedno s 'Merlotom' tvori čuvenu Bordošku kupažu, uz još neke od bordoških crnih sorti, a to su 'Petit Verdot', 'Malbec' i 'Carmenere'. Vina ove sorte su visoko kvalitetna. Granatne su boje te specifičnog sortnog mirisa i okusa, manje trpkosti, s razmjerno niskim kiselinama (jancisrobinson.com).

U *Tablica 3* nalaze se podaci o sadržaju pojedinačnih polifenolnih spojeva u vinima triju sorata. Podaci su preuzeti iz dva rada, Orbanić i dr. (2018) i Milković (2018), koja su provedena na Zavodu za vinogradarstvo i vinarstvo Agronomskog fakulteta. Podaci se odnose na polifenolne spojeve koji su izmjereni u mladom vinu, dobivenom od grožđa koje je proizvedeno na pokušalištu Jazbina, kao i vina koja su istraživana u ovom radu, ali različitih godina. Grožđe istraživano u navedenim radovima i grožđe iz ovoga rada ubrano je u istom periodu, te je prerađeno i vinificirano isitim protokolima.

Tablica 3: Sadržaj pojedinačnih polifenolnih spojeva u mladim vinima s Jazbine

| Naziv spoja (mg/l)           | Sorte                 |             |                 |
|------------------------------|-----------------------|-------------|-----------------|
|                              | 'Cabernet Sauvignon'* | 'Merlot'*** | 'Petit Verdot'* |
| <b>Delfinidin-3-glukozid</b> | 32,23                 | 2,86        | 35,45           |
| <b>Cijanidin-3-glukozid</b>  | n.d.                  | n.d.        | n.d.            |
| <b>Petunidin-3-glukozid</b>  | 14,7                  | 10,43       | 18,32           |
| <b>Peonidin-3-glukozid</b>   | 2,04                  | 0,29        | 1,69            |
| <b>Malvidin-3-glukozid</b>   | 240,74                | 151,74      | 192,38          |
| <b>Kaftarinska</b>           | 44,52                 | 24,84       | 103,36          |
| <b>Kafeinska</b>             | 14,57                 | 4,18        | 43,11           |
| <b>Kutarinska</b>            | 0,76                  | 6,44        | 1,48            |
| <b>Fertarinska</b>           | 2,19                  | n.d.        | 1,48            |
| <b>Kumarinska</b>            | n.d.                  | n.d.        | n.d.            |
| <b>Galna</b>                 | 9,15                  | 4,16        | 13,88           |
| <b>Kvercetin</b>             | 1,21                  | 1,68        | 1,92            |
| <b>Resveratrol</b>           | n.d.                  | n.d.        | n.d.            |
| <b>Resveratrol glukozid</b>  | 1,51                  | n.d.        | 4,74            |
| <b>Katehin</b>               | 21,27                 | 12,72       | 20,03           |
| <b>Galokatehin</b>           | 4,22                  | n.d.        | 1,98            |
| <b>Epikatehin</b>            | 7,89                  | 7,34        | 11,15           |
| <b>Procijanidin B1</b>       | 3,26                  | 19,23       | 2,54            |
| <b>Procijanidin B2</b>       | 2,25                  | 11,80       | 1,72            |

Izvor: \*Orbanić i dr., 2018; \*\*Milković, 2018

### 3. Materijali i metode

Ovo je istraživanje provedeno u sklopu većeg istraživanja na Zavodu za vinogradarstvo i vinarstvo, Agronomskog fakulteta u Zagrebu (Jeromel i dr., 2017). Istraživanje je obuhvaćalo analizu kemijskog sastava tri vina od različitih sorata vinove loze ('Merlot', 'Cabernet Sauvignon' i 'Petit Verdot') dozrijevanih u bačvama od slavonskog hrasta različitih stupnjeva paljenja i ocjenu senzornih svojstava. U ovom radu izneseni su i obrađeni podaci koji se odnose na pojedinačni sastav polifenolnih spojeva.

#### 3.1. Vino

Sva crna vina ('Merlot', 'Cabernet Sauvignon' i 'Petit Verdot') proizvedena su u Zavodu za vinogradarstvo i vinarstvo Agronomskog fakulteta, na vinogradarsko-vinarskom pokušalištu Jazbina. Postupak vinifikacije grožđa navedenih sorata berbe 2016. godine obuhvatio je primjenu klasične tehnologije proizvodnje crnih vina koja obuhvaća maceraciju u trajanju od 7 dana, primjenu selekcioniranih sojeva kvasaca te kontrolu temperature tijekom alkoholne fermentacije. Po završetku fermentacije u vinima je provedena osnovna fizikalno-kemijska analiza, a vina su po varijantama pretočena u drvene bačve, tako da je vino svake sorte rastočeno u jednu srednje i jednu jako paljenu bačvu. Analiza polifenolnog sastava vina provedena je nakon 1, 3, 6 i 9 mjeseci.

#### 3.2. Hrastove bačve

U istraživanju je korišteno šest novih hrastovih bačava zapremnine 225 L, pri čemu su 3 srednjeg (MT) i 3 jakog stupnja (HT) paljenja. Bačve su proizvedene od slavonskog hrasta (*Q. petraea*), proizvođača Pozvek iz Dunjkovca.

#### 3.3. Osnovna fizikalno – kemijska analiza vina

Reducirajući šećer u vinu određivan je titracijskom metodom po Rebeleinu (Zoecklin i sur., 2001). Ukupna kiselost (kao vinska, g/l) mošta i vina određene su metodom neutralizacije uzorka s 0,1 M NaOH uz indikator bromtimol plavo (O.I.V., 2007). Hlapiva kiselost (kao octena,

g/l) u vinu određena je metodom neutralizacije uzorka prethodno destiliranog u struji vodene pare, uz 0,1 M NaOH i indikator fenolftalein prema O.I.V. (2007). Alkohol u vinu određen je metodom destilacije na osnovi specifične težine destilata pri 20°C prema vodi iste temperature. Iz dobivenih vrijednosti pomoću tablica po Reichardu očitani su odgovarajući vol. % alkohola. Ukupni ekstrakt u vinu određen je denzimetrijski iz ostatka destilacije, a odgovarajuća količina u g/l očitana je iz tablica po Reichardu (O.I.V., 2007). Ekstrakt bez šećera u vinu dobiven je oduzimanjem količine reducirajućeg šećera od vrijednosti ukupnog ekstrakta. Pepeo u vinu određen je sagorijevanjem suhe tvari u mufolnoj peći pri 525°C (O.I.V., 2007). Slobodni i ukupni SO<sub>2</sub> u vinu određen je alkalimetrijski metodom po Paulu (O.I.V., 2007) pH vrijednost vina određena je mjerenjem na Beckman Expandomatic SS-2 pH metru (Fullerton, Kalifornija, SAD).

### 3.4. Određivanje udjela pojedinačnih polifenola u vinu

Volumen od 2 mL vina se prethodno filtrira kroz PTFE membranski filter veličine pore 0.22 µm u tekućinsko-kromatografski sustav (HPLC Agilent 1100). Analiza je provedena na fenilheksilnoj koloni (Phenomenex, SAD) uz detektor s nizom dioda. Vrijeme trajanja analize je 65 minuta. Kromatogrami su istovremeno bilježeni detektorom s nizom dioda pri različitim valnim duljinama i fluorescencijskim detektorom na različitim valnim duljinama ekscitacije i emisije.

DAD:  $\lambda=280$  nm (hidroksibenzojeve kiseline),  $\lambda=320$  nm (hidroksicimetne kiseline),  $\lambda=360$  nm (flavonoli)

FLD:  $\lambda_{ex}=225$  nm /  $\lambda_{em}=320$  (flavan-3-oli)

Istovremeno su snimljeni i UV-Vis spektri pojedinih sastavnica u rasponu valnih duljina od 200 nm do 650 nm. Identifikacija sastavnica vina provedena je usporedbom njihovih vremena zadržavanja na kromatografskoj koloni te pripadnih UV-Vis spektara i fluorescencije na karakterističnim valnim duljinama ekscitacije i emisije s vremenima zadržavanja, spektrima i fluorescencijom standardnih spojeva. Masene koncentracije identificiranih spojeva određene su pomoću baždarnih krivulja načinjenih analizom vanjskog standarda.

## 4. Rezultati

Temeljem podataka dobivenih provođenjem metoda, rezultati za osnovnu fizikalno – kemijsku analizu vina navedeni su u *Tablica 4*, a rezultati za pojedinačne polifenolne spojeve prikazani su u *Tablica 5*, *Tablica 6* i *Tablica 7*. Pojedina tablica prikazuje rezultate za vino određene sorte za oba dva stupnja paljenja. Pojedinačni polifenolni spojevi raspoređeni su po skupinama, antocijani, fenolne kiseline, flavan-3-oli i procijanidini.

*Tablica 4: Osnovna fizikalno - kemijska analiza vina*

|                                     | Uzorci               |          |                |
|-------------------------------------|----------------------|----------|----------------|
|                                     | 'Cabernet Sauvignon' | 'Merlot' | 'Petit Verdot' |
| <b>Specifična težina (20°C)</b>     | 0,9924               | 0,9917   | 0,9926         |
| <b>Alkohol (vol %)</b>              | 13,65                | 13,21    | 14,11          |
| <b>Ekstrakt ukupni g/l</b>          | 26,1                 | 22,9     | 27,9           |
| <b>Šećer reducirajući g/l</b>       | 5,2                  | 4,6      | 4,7            |
| <b>Ekstrakt bez šećera g/l</b>      | 21,9                 | 19,3     | 24,2           |
| <b>Ukupna kiselost (vin.) g/l</b>   | 5,8                  | 5,3      | 6,3            |
| <b>Hlapiva kiselost (oct.) g/l</b>  | 0,82                 | 0,82     | 0,70           |
| <b>pH</b>                           | 3,54                 | 3,46     | 3,60           |
| <b>SO<sub>2</sub> slobodni mg/l</b> | 16,0                 | 10,0     | 18,0           |
| <b>SO<sub>2</sub> ukupni mg/l</b>   | 99,0                 | 85,0     | 96,0           |
| <b>Pepeo g/l</b>                    | 2,61                 | 2,12     | 2,80           |



Tablica 5: Sastav pojedinačnih polifenolnih spojeva, 'Cabernet Sauvignon'

| Stupanj paljenja             | Srednje paljeno |        |        |        | Jako paljeno |       |        |       |
|------------------------------|-----------------|--------|--------|--------|--------------|-------|--------|-------|
| Mjeseci uzorkovanja          | 1               | 3      | 6      | 9      | 1            | 3     | 6      | 9     |
| Spojevi (mg/l)               |                 |        |        |        |              |       |        |       |
| <b>Delfinidin-3-glukozid</b> | 22,47           | 11,20  | 7,50   | 6,93   | 11,94        | 9,15  | 7,38   | 7,72  |
| <b>Cijanidin-3-glukozid</b>  | 0,26            | 0,22   | 0,71   | 0,36   | 0,71         | 0,22  | 0,95   | 0,42  |
| <b>Petunidin-3-glukozid</b>  | 11,71           | 7,77   | 5,53   | 4,48   | 8,44         | 6,43  | 8,11   | 4,51  |
| <b>Peonidin-3-glukozid</b>   | 1,70            | 1,11   | 0,32   | 0,3    | 0,46         | 1     | 1,47   | 0,69  |
| <b>Malvidin-3-glukozid</b>   | 157,44          | 158,96 | 132,38 | 101,44 | 189,52       | 143,6 | 112,21 | 96,9  |
| <b>Kaftarinska</b>           | 92,32           | 52,45  | 43,43  | 47,77  | 50,76        | 49,61 | 40,40  | 53,63 |
| <b>Kafeinska</b>             | 4,88            | 4,93   | 4,54   | 4,76   | 6,36         | 4,83  | 4,02   | 5,00  |
| <b>Kutarinska</b>            | 28,09           | 10,16  | 8,45   | 9,59   | 9,63         | 9,75  | 8,64   | 11,01 |
| <b>Fertarinska</b>           | 3,40            | 1,66   | 1,36   | 1,62   | 1,61         | 1,61  | 1,61   | 1,78  |
| <b>Kumarinska</b>            | 1,68            | 1,63   | 1,58   | 1      | 2,37         | 1,52  | 1,33   | 1,3   |
| <b>Galna</b>                 | 12,96           | 7,43   | 6,30   | 8,87   | 6,37         | 7,95  | 9,41   | 10,95 |
| <b>Kvercetin</b>             | 0,00            | 0,97   | 0,79   | 0,71   | 0,84         | 0,86  | 0,85   | 0,62  |
| <b>Resveratrol glukozid</b>  | 2,60            | 1,32   | 0,75   | 0,75   | 1,18         | 1,31  | 1,28   | 1,09  |
| <b>Katehin</b>               | 15,81           | 12,63  | 9,85   | 9,77   | 12,6         | 12,28 | 14,85  | 11,46 |
| <b>Galokatehin</b>           | 1,03            | 0,64   | 0,52   | 0,76   | 0,65         | 0,62  | 1,02   | 0,85  |
| <b>Epikatehin</b>            | 6,94            | 4,72   | 2,61   | 2,63   | 3,58         | 4,73  | 5,89   | 4,02  |
| <b>Procijanidin B1</b>       | 3,06            | 2,51   | 1,78   | 1,79   | 2,04         | 2,04  | 1,58   | 2,02  |
| <b>Procijanidin B2</b>       | 3,79            | 3,17   | 1,85   | 1,70   | 2,16         | 3,20  | 3,91   | 2,76  |

Tablica 6: Sastav pojedinačnih polifenolnih spojeva, 'Merlot'

| Stupanj paljenja             | Srednje paljeno |        |        |        | Jako paljeno |        |        |       |
|------------------------------|-----------------|--------|--------|--------|--------------|--------|--------|-------|
| Mjeseci uzorkovanja          | 1               | 3      | 6      | 9      | 1            | 3      | 6      | 9     |
| Spojevi (mg/l)               |                 |        |        |        |              |        |        |       |
| <b>Delfinidin-3-glukozid</b> | 19,98           | 19,54  | 17,17  | 12,98  | 19,17        | 16,11  | 13,00  | 11,85 |
| <b>Cijanidin-3-glukozid</b>  | 0,78            | 0,76   | 0,69   | 1,15   | 0,8          | 0,73   | 1,05   | 1,09  |
| <b>Petunidin-3-glukozid</b>  | 11,05           | 11,71  | 11,49  | 8,11   | 12,63        | 10,63  | 5,24   | 7,31  |
| <b>Peonidin-3-glukozid</b>   | 1,62            | 1,87   | 1,76   | 1,49   | 2,05         | 1,72   | 1,4    | 1,36  |
| <b>Malvidin-3-glukozid</b>   | 152,00          | 159,39 | 152,72 | 112,59 | 173,18       | 148,71 | 116,74 | 99,69 |
| <b>Kaftarinska</b>           | 85,44           | 43,75  | 42,51  | 42,98  | 44,23        | 40,64  | 49,9   | 42,96 |
| <b>Kafeinska</b>             | 4,87            | 4      | 3,85   | 4,49   | 3,89         | 3,62   | 5,3    | 4,11  |
| <b>Kutarinska</b>            | 26,00           | 9,7    | 8,76   | 9,63   | 9,09         | 8,52   | 10,88  | 9,18  |
| <b>Fertarinska</b>           | 2,73            | 1,65   | 1,52   | 1,80   | 1,61         | 1,32   | 1,63   | 1,72  |
| <b>Kumarinska</b>            | 1,58            | 1,76   | 1,40   | 1,82   | 1,38         | 1,42   | 1,10   | 1,31  |
| <b>Galna</b>                 | 12,64           | 7,17   | 5,99   | 10,55  | 5,91         | 6,15   | 9,51   | 8,75  |
| <b>Kvercetin</b>             | 0               | 0      | 0,93   | 1,42   | 1,23         | 1,43   | 1,49   | 1,47  |
| <b>Resveratrol glukozid</b>  | 1,96            | 4,38   | 4,23   | 4,93   | 4,37         | 3,25   | 3,90   | 4,78  |
| <b>Katehin</b>               | 15,18           | 16,03  | 15,96  | 15,30  | 16,46        | 15,50  | 10,13  | 15,16 |
| <b>Galokatehin</b>           | 0,70            | 0,64   | 0,72   | 1,11   | 0,77         | 0,76   | 0,75   | 1,03  |
| <b>Epikatehin</b>            | 7,17            | 7,9    | 7,51   | 6,39   | 7,87         | 7,31   | 2,68   | 5,91  |
| <b>Procijanidin B1</b>       | 2,47            | 2,19   | 1,88   | 1,6    | 2,36         | 1,92   | 2,03   | 1,84  |
| <b>Procijanidin B2</b>       | 3,67            | 4,24   | 4,05   | 3,82   | 4,45         | 3,99   | 2,05   | 3,86  |

Tablica 7: Sastav pojedinačnih polifenolnih spojeva, 'Petit Verdot'

| Stupanj paljenja             | Srednje paljeno |        |        |        | Jako paljeno |        |        |        |
|------------------------------|-----------------|--------|--------|--------|--------------|--------|--------|--------|
| Mjeseci uzorkovanja          | 1               | 3      | 6      | 9      | 1            | 3      | 6      | 9      |
| Spojevi (mg/l)               |                 |        |        |        |              |        |        |        |
| <b>Delfinidin-3-glukozid</b> | 39,03           | 22,52  | 16,52  | 7,13   | 25,84        | 20,84  | 15,67  | 15,30  |
| <b>Cijanidin-3-glukozid</b>  | 0,31            | 0,48   | 0,48   | 0,38   | 0,26         | 0,25   | 0,49   | 0,67   |
| <b>Petunidin-3-glukozid</b>  | 21,23           | 13,74  | 9,26   | 4,67   | 15,2         | 12,46  | 8,70   | 8,30   |
| <b>Peonidin-3-glukozid</b>   | 2,72            | 2,11   | 1,31   | 0,71   | 2,2          | 1,82   | 1,24   | 1,52   |
| <b>Malvidin-3-glukozid</b>   | 270,89          | 197,68 | 128,20 | 101,44 | 210,46       | 179,26 | 117,64 | 114,19 |
| <b>Kaftarinska</b>           | 93,79           | 84,60  | 81,67  | 49,64  | 87,45        | 76,96  | 82,91  | 40,13  |
| <b>Kafeinska</b>             | 4,88            | 5,68   | 5,21   | 4,98   | 5,02         | 4,43   | 5,1    | 3,87   |
| <b>Kutarinska</b>            | 27,46           | 24,46  | 23,64  | 10,13  | 24,81        | 21,38  | 24,09  | 8,58   |
| <b>Fertarinska</b>           | 3,17            | 3,07   | 2,57   | 1,64   | 3,57         | 1,39   | 2,7    | 1,59   |
| <b>Kumarinska</b>            | 1,51            | 3,73   | 1,39   | 1,26   | 2,52         | 2,42   | 1,4    | 1,26   |
| <b>Galna</b>                 | 9,37            | 9,64   | 12,91  | 10,09  | 9,14         | 9,45   | 12,79  | 8,06   |
| <b>Kvercetin</b>             | 1,98            | 0,00   | 0,66   | 0,00   | 0,71         | 1,03   | 1,01   | 0,99   |
| <b>Resveratrol glukozid</b>  | 2,78            | 1,62   | 2,21   | 1,09   | 2,36         | 2,9    | 2,37   | 4,28   |
| <b>Katehin</b>               | 16,13           | 16,42  | 14,57  | 12,76  | 15,85        | 15,09  | 14,82  | 14,84  |
| <b>Galokatehin</b>           | 0,95            | 0,99   | 1,21   | 1,73   | 0,99         | 0,9    | 1,33   | 0,99   |
| <b>Epikatehin</b>            | 8,51            | 9,04   | 6,26   | 6,52   | 8,49         | 7,7    | 6,47   | 6,13   |
| <b>Procijanidin B1</b>       | 2,63            | 3,02   | 2,55   | 6,61   | 2,33         | 2,5    | 3,15   | 2,25   |
| <b>Procijanidin B2</b>       | 3,70            | 3,86   | 3,20   | 5,89   | 3,78         | 3,2    | 3,44   | 3,69   |

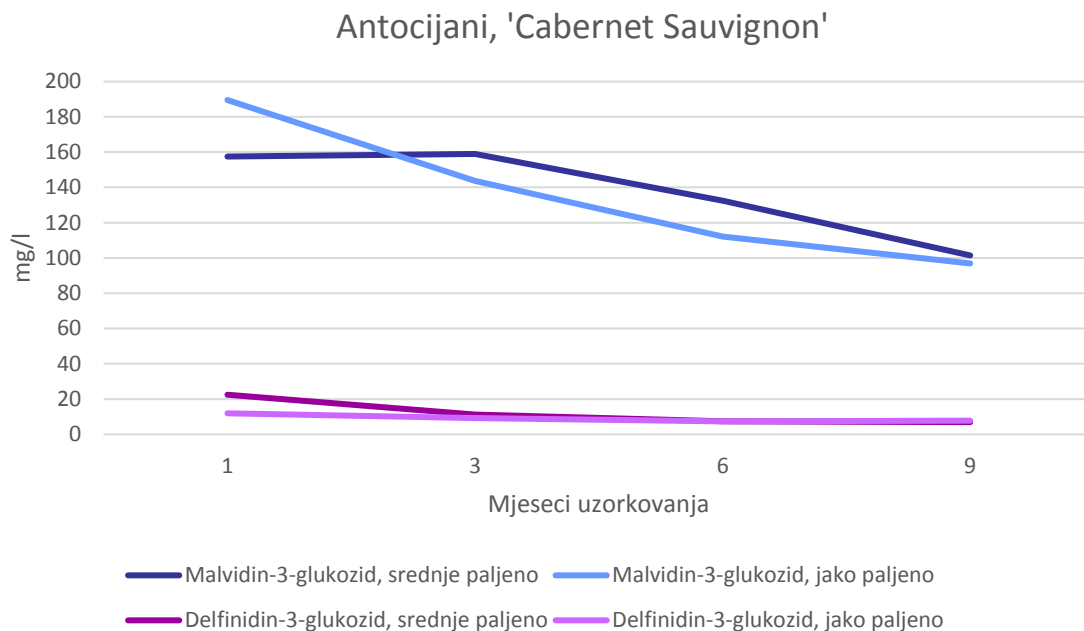
## 5. Rasprava

Nakon fermentacije provedena je osnovna fizikalno-kemijska analiza vina kako bi se definirali određeni parametri koji imaju utjecaj na daljnje istraživanje, a prikazani su u *Tablica 4*. Iz navedenog vidljivo je da se vino sorte 'Petit Verdot' izdvojilo po višem vol. % alkohola i po relativno visokom pH. Ostali parametri su unutar granica očekivanih vrijednosti, ali mogu imati utjecaj na reakcije vezane za antocijane i tanine.

Tijekom dozrijevanja, fenolni sastav vina mijenja se zbog reakcija kopigmentacije, kondenzacije i polimerizacije, a također i zbog toga što se neki fenoli, uglavnom elagitanini, oslobađaju u vino iz drveta. Elagitanini djeluju kao regulatori oksidacije, ubrzavajući kondenzaciju između flavanola i između tanina s antocijanima (Dumitriu i dr., 2017).

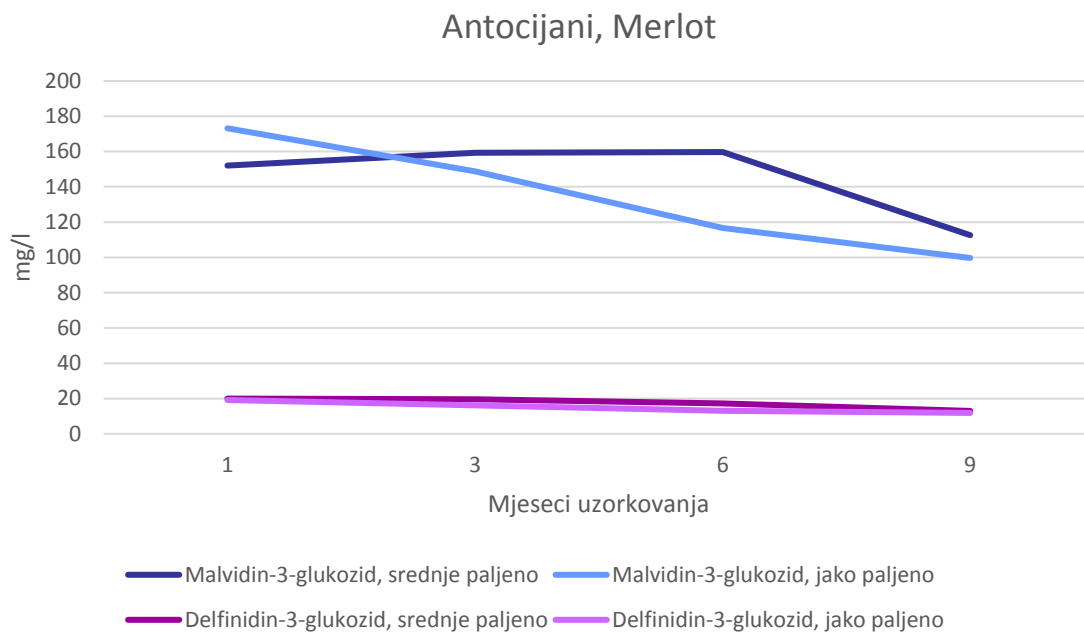
Boja crnog vina uglavnom ovisi o antocijanima ekstrahiranim iz kože grožđa tijekom fermentacije. Prema dobivenim podacima koji su prikazani u

Tablica 5, sastav pojedinačnih antocijanskih spojeva u vinu 'Cabernet Sauvignona' tijekom devet mjeseci dozrijevanja smanjuje se gotovo jednakom dinamikom. Smanjenje sadržaja antocijana rezultat je njihove razgradnje, stabilizacije i/ili promjene u strukturi. Najznačajnije su reakcije kopigmentacije kojima se molekule antocijana spajaju s drugim, najčešće fenolnim spojevima, taninima ili fenolnim kiselinama, te se tako stabiliziraju i utječu na boju vina (Kontoudakis, 2010). Dinamika smanjenja sadržaja pojedinačnih polifenolnih spojeva uglavnom se razlikuje za svaki spoj, također, na to utječe i stupanj paljenja hrastove bačve u kojoj vino odležava. Dumitriu i dr., (2017), u svojem radu navode kako se u istraživanim vinima sadržaj antocijana smanjivao korištenjem jače paljenih bačvi. U *Grafikon 1* uspoređena su dva najznačajnija antocijanska spoja, malvidin-3-glukozid i delphinidin-3-glukozid, te njihove koncentracije i dinamika smanjenja iz dvije različite bačve, srednje i jako paljene. Spojevi iz srednje paljene bačve do trećeg mjeseca dozrijevanja stagniraju, dok spojevi iz jako paljene bačve puno se brže smanjuju. To je rezultat ubrzane kopigmentacije antocijana i elagitanina koji se u velikoj mjeri ekstrahiraju iz hrasta u vino kod jakog paljenja bačve (Zbornik radova, 1997).



*Grafikon 1: Usporedba sadržaja navedenih antocijanskih spojeva ovisno o stupnju paljenja kod vina sorte 'Cabernet Sauvignon'*

Najzastupljeniji antocijan je malvidin-3-glukozid čije se koncentracije tijekom mjeseci dozrijevanja kreću od najmanje 100 mg/l do gotovo 200 mg/l. Sljedeći po zastupljenosti je delfinidin-3-glukozid, no njegove su koncentracije u odnosu na malvidin-3-glukozid znatno manje. Ostali antocijanski spojevi prisutni su u vrlo malim količinama i njihove se koncentracije smanjuju tijekom dozrijevanja. Zastupljenost antocijana kod vina sorte 'Merlot', kako je navedeno u *Tablica 6*, ista je kao i kod 'Cabernet Sauvignona'.

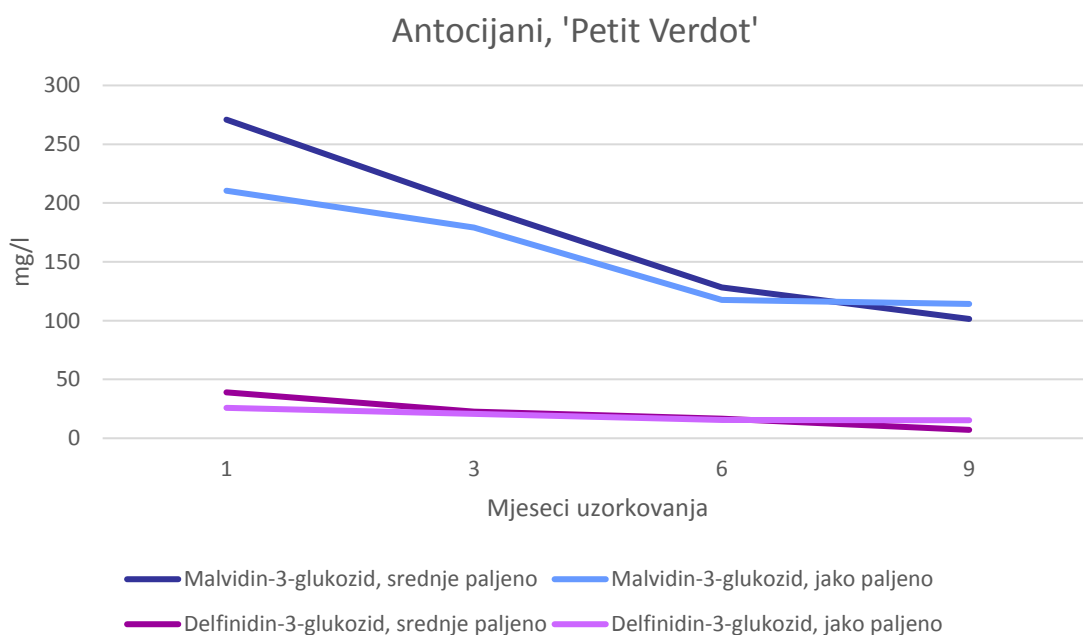


*Grafikon 2: Usporedba sadržaja navedenih antocijanskih spojeva ovisno o stupnju paljenja kod vina sorte 'Merlot'*

U *Grafikon 2*, prikazana je dinamika smanjenja koncentracija najznačajnijih antocijana kod vina sorte 'Merlot'. Za razliku od 'Cabernet Sauvignona', kod 'Merlota' sadržaj malvidin-3- glukoziada iz srednje paljene bačve, ne varira značajno već stagnira, odnosno blago raste do 6. mjeseca dozrijevanja i tek u razdoblju od 6. do 9. mjeseca počinje se smanjivati. Razlog većeg variranja antocijana kod vina 'Cabernet Sauvignona' je najvjerojatnije viši pH u odnosu na pH 'Merlota', budući da postoje četiri različite strukture antocijana koje ovise o pH, te se tijekom dozrijevanja mijenjaju, pri čemu ih je teže analitički definirati (Ribéreau – Gayon i dr., 2006). Koncentracija malvidina iz jako paljene bačve, tijekom 9 mjeseci dozrijevanja puno se brže smanjuje, kao i kod 'Cabernet Sauvignona'.

Za 'Petit Verdot' specifično je da posjeduje puno veće koncentracije polifenolnih spojeva, to je njegovo sortno svojstvo, kako je navedeno u *Pregledu literature*. To svojstvo vidljivo je u *Tablica 7*, početne koncentracije antocijana, posebice malvidina, kod 'Petit Verdota' više su za gotovo 100 mg/l u odnosu na 'Merlot' i 'Cabernet Sauvignon'. Međutim, koncentracija malvidina kod 'Petit Verdota' nakon 9 mjeseci dozrijevanja pala je do razine gdje se kreću i koncentracije malvidina iz 'Merlota' i 'Cabernet Sauvignona'.

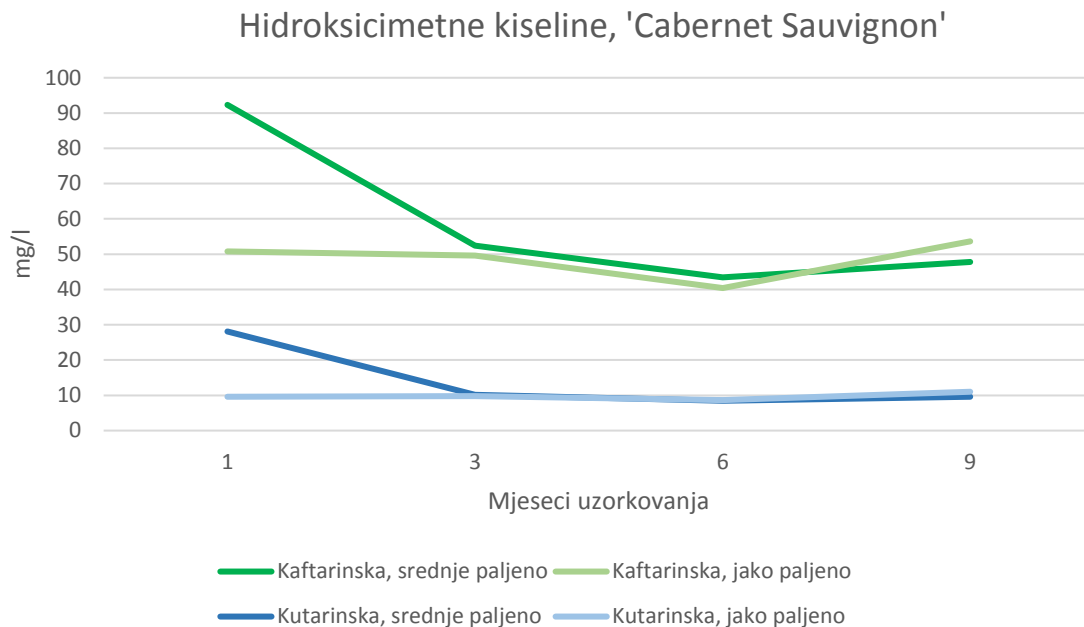
Dinamika smanjenja koncentracija kod 'Petit Verdota' razlikuje se od ostalih, koncentracije kod malvidina iz srednje paljene bačve više su od malvidina iz jako paljene bačve i događa se brže smanjenje koncentracija iz srednje paljene bačve. Slična dinamika smanjenja vidljiva je i kod delphinidin-3-glukozida. Rezultat naglog smanjenja koncentracija antocijana je nestabilnost antocijana pri nešto višem pH, kako je navedeno u *Tablica 4*, pH 'Petit Verdota' iznosi 3,60.



*Grafikon 3: Usporedba sadržaja navedenih antocijanskih spojeva ovisno o stupnju paljenja kod vina sorte 'Petit Verdot'*

Fenolne kiseline koje se javljaju u tri crna vina koja su istraživana su hidroksicimetne, kafeinska i kumarinska, ali u još većoj mjeri, njihovi esteri s vinskom kiselinom, kaftarinska, kutarinska i fertarinska. Osim što se nalaze u vinu, hidroksicimetne kiseline se ekstrahiraju i iz hrastove bačve. Od hidroksibenzojevih kiselina, determinirana je galna, te je vrlo značajno praćenje

njezinih koncentracija tijekom dozrijevanja zbog spojeva koji se otpuštaju u vino iz drveta hrasta, odnosno dolazi do hidrolize elagitanina, koji se razgrađuju na galnu i elaginsku kiselinu (Newton i dr., 1997). Chira i dr., (2017) u svojem radu navode kako vina iz slabo paljenih bačvi imaju veći sadržaj elagitanina nego iz srednje paljenih bačvi, zbog slabije termodegradacije.

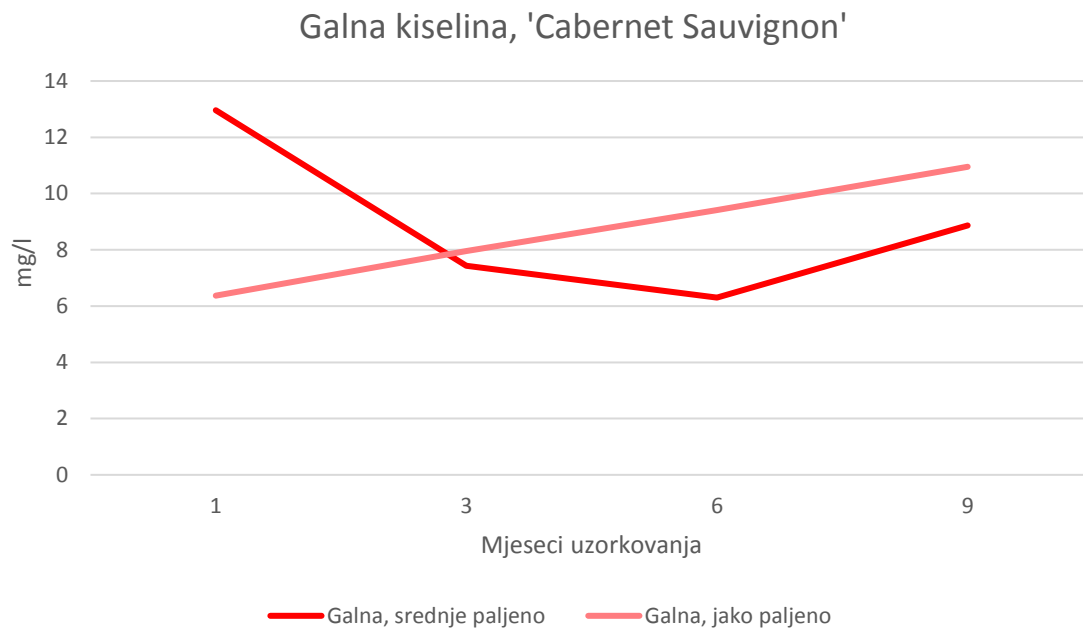


*Grafikon 4: Usporedba sadržaja navedenih hidroksicimetnih kiselina ovisno o stupnju paljenja kod vina sorte 'Cabernet Sauvignon'*

Kod sva tri vina, najzastupljenija je kaftarinska kiselina, zatim slijedi kutarinska, ali u manjim koncentracijama. U



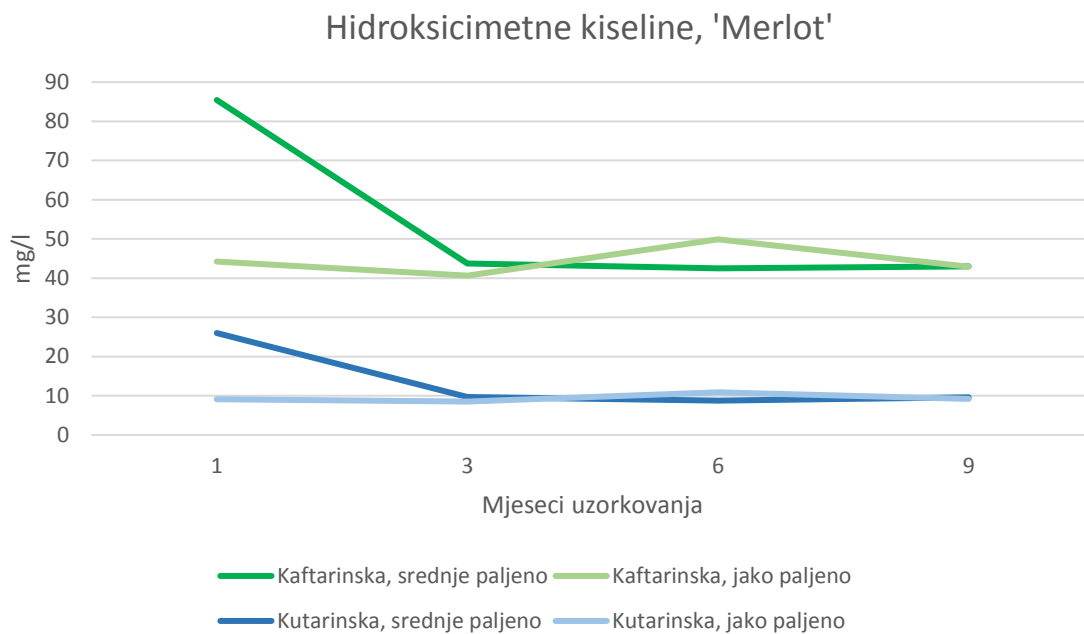
Tablica 5, navedene su sve izmjerene koncentracije pojedinačnih fenolnih kiselina kod 'Cabernet Sauvignona', a u *Grafikon 4* prikazano je kretanje njihovih koncentracija. Kaftarinska i kutarinska kiselina iz vina srednje paljene bačve bilježe jednaku dinamiku smanjenja, do trećeg mjeseca naglo se smanjuju, te do kraja dozrijevanja zadržavaju stalne koncentracije. Takvo naglo smanjenje početnih koncentracija ne javlja se kod vina iz jako paljene bačve, koncentracije kiselina blago variraju tijekom dozrijevanja.



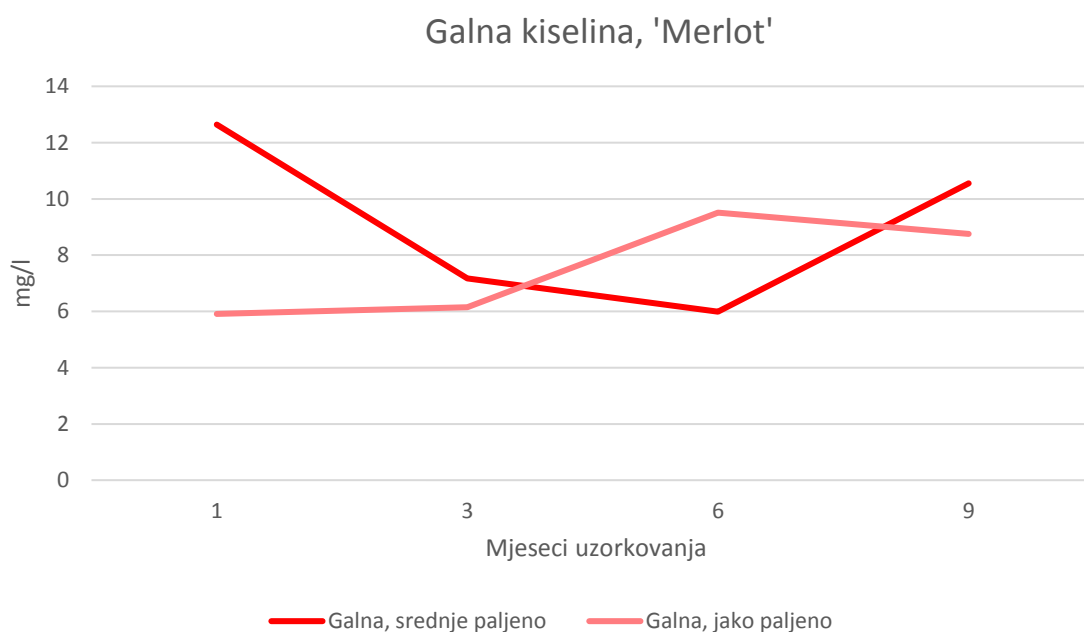
*Grafikon 5: Usporedba sadržaja galne kiseline ovisno o stupnju paljenja kod vina sorte 'Cabernet Sauvignon'*

Galna kiselina bilježi rast koncentracija u oba dva vina 'Cabernet Sauvignona', iz srednje i jako paljene bačve, ali ne jednakom dinamikom. Na *Grafikon 5* vidljivo je da koncentracije galne kod vina iz srednje paljene bačve prvo se smanjuju, te se pri kraju dozrijevanja povisuju, dok se kod vina iz jako paljene bačve galna kiselina tijekom mjeseci dozrijevanja pravocрно povećava. Kod jače paljenih bačvi dolazi do jače degradacije elagitanina, a samim time više se povećavaju koncentracije galne kiseline u vinu nego kod srednje paljenih bačvi (Chira i dr., 2017).

Vrlo slično kretanje koncentracija hidroksicimetnih kiselina kod vina iz srednje i jako paljene bačve javlja se i kod vina sorte 'Merlot', što je vidljivo u *Grafikon 6* i *Tablica 6.*, za razliku od 'Cabernet Sauvignona', koncentracije kiselina kod 'Merlota' niže su za nekoliko mg/l.

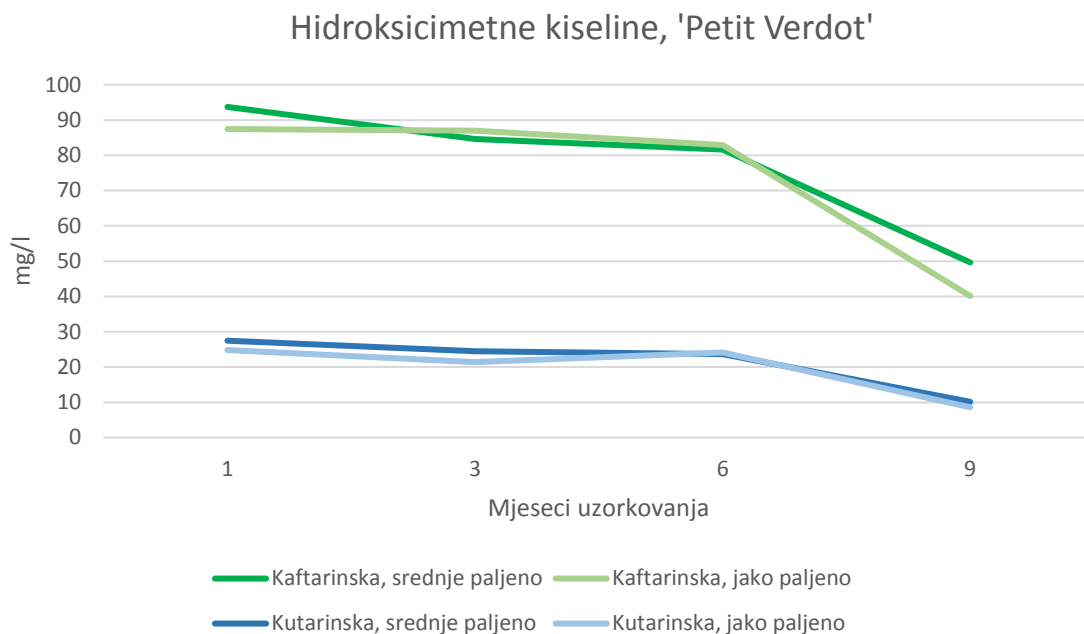


*Grafikon 6: Usporedba sadržaja navedenih hidroksicimetnih kiselina ovisno o stupnju paljenja kod vina sorte 'Merlot'*



*Grafikon 7: Usporedba sadržaja galne kiseline ovisno o stupnju paljenja kod vina sorte 'Merlot'*

Kretanje galne kiseline kod 'Merlota' (Grafikon 7) slično je kao kod 'Cabernet Sauvignona', kod vina iz srednje paljene bačve, do šestog mjeseca dozrijevanja se smanjuje, a onda do kraja dozrijevanja povećava. Kod vina iz jako paljene bačve koncentracije galne se povećavaju, no pri kraju dozrijevanja bilježe blagi pad.



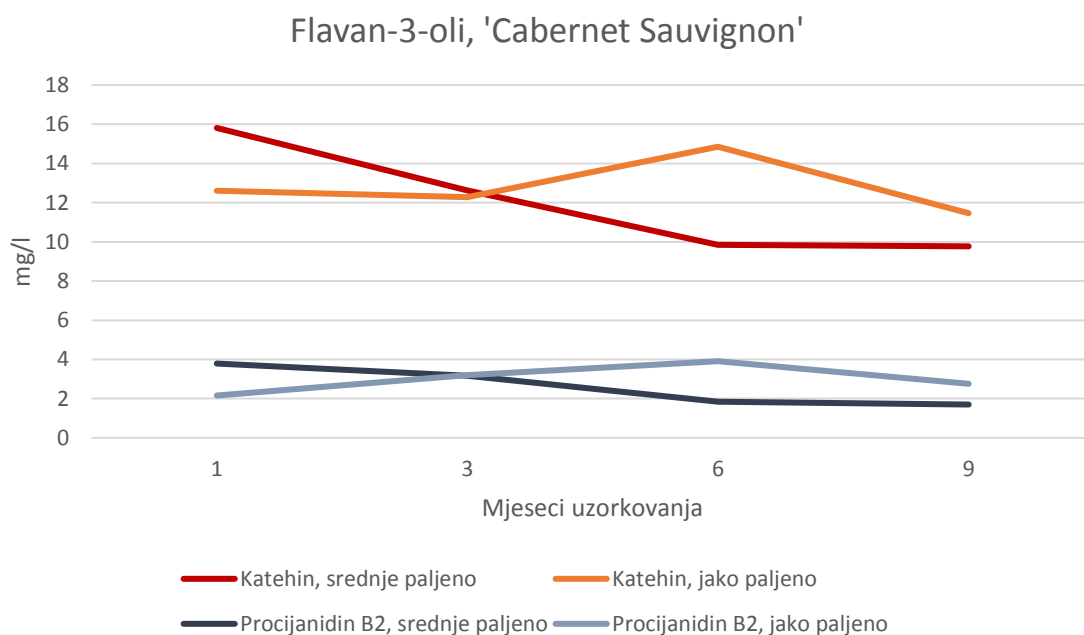
Grafikon 8: Usporedba sadržaja navedenih hidroksicimetnih kiselina ovisno o stupnju paljenja kod vina sorte 'Petit Verdot'

Kretanje koncentracija hidroksicimetnih kiselina kod vina 'Petit Verdota', razlikuje se od vina 'Cabernet Sauvignona' i 'Merlota'. Kao što je slučaj i s antocijanima, početni sadržaj fenolnih kiselina gotovo je duplo viši nego kod dva gore navedena vina (Tablica 7). U Grafikon 8 vidi se kako se koncentracije kaftarinske do šestog mjeseca dozrijevanja ne mijenjaju značajno, a od šestog do devetog bilježe nagli pad. Dinamika kretanja kaftarinske jednaka je kod vina 'Petit Verdota' iz srednje i jako paljene bačve.

Slično kretanje bilježi i kutarinska kiselina, ali u manjim koncentracijama. Galna kiselina, tijekom devet mjeseci dozrijevanja postupno raste u oba dva vina 'P. Verdota' do šestog mjeseca dozrijevanja, te su krajnje koncentracije gotovo jednake bez obzira na stupanj paljenja bačve i ekstrakciju galne kiseline iz drveta hrasta.



Grafikon 9: Usporedba sadržaja galne kiseline ovisno o stupnju paljenja kod vina sorte 'Petiti Verdot'

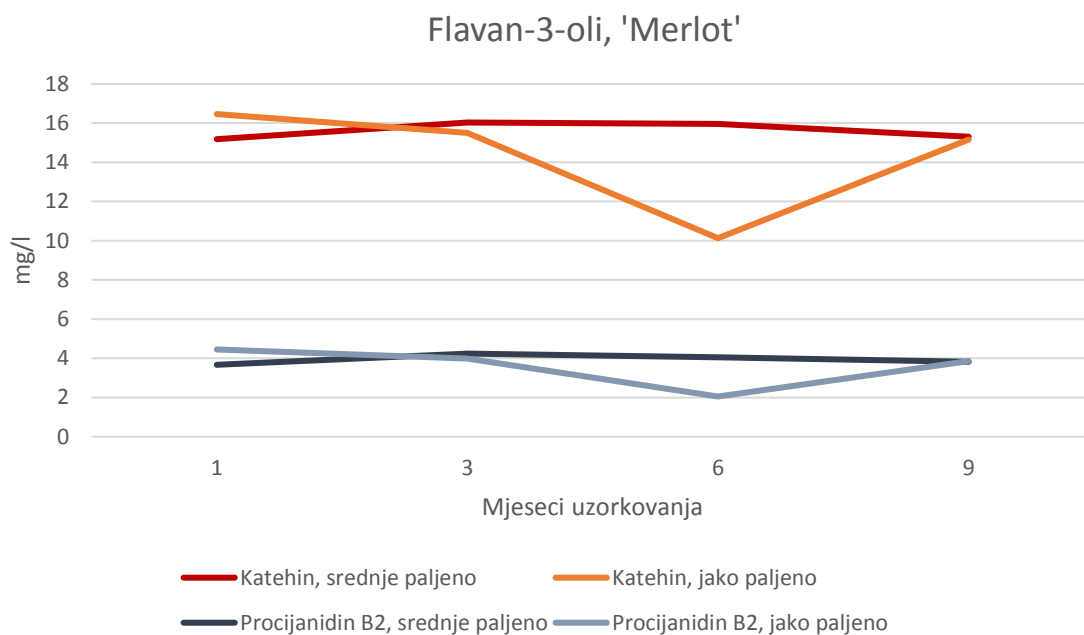


Grafikon 10: Usporedba sadržaja katehina i procijanidina ovisno u stupnju paljenja kod vina sorte 'Cabernet Sauvignon'

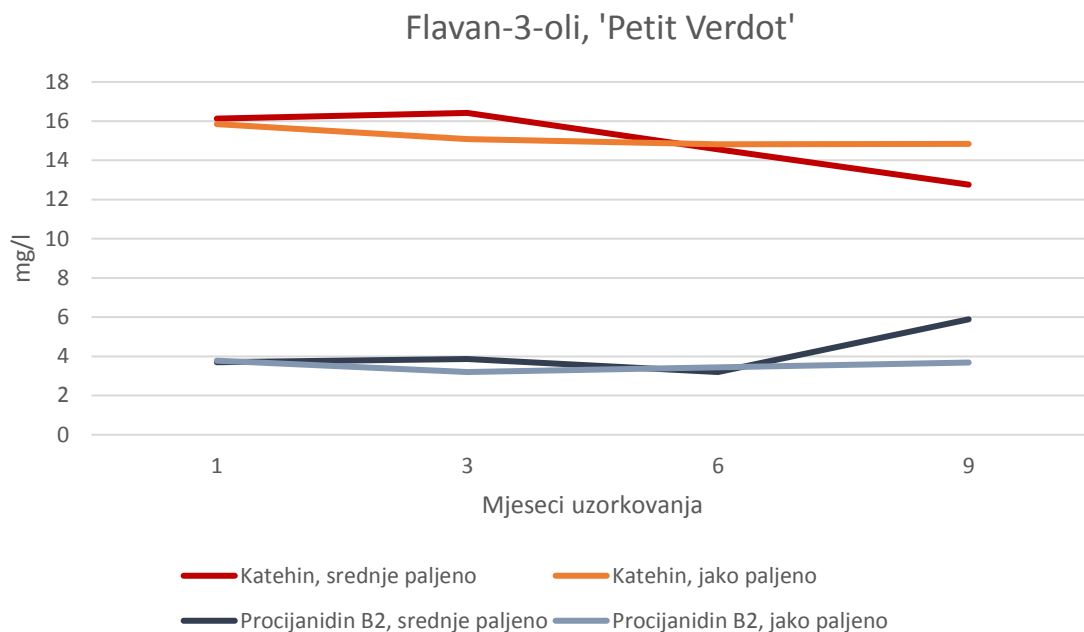
Među monomerima flavan-3-ola, kod svih vina najzastupljeniji je katehin, galokatehin pronađen je u malim količinama, oko 1 mg/l ili manje, a koncentracije epikatehina variraju o sorti i o stupnju dozrijevanja (Kontoudakis, 2010). Kod 'Cabernet Sauvignona' količine katehina znatno su niže u odnosu na ostale dvije sorte tijekom svih devet mjeseci (

Tablica 5). Kretanje koncentracija katehina kod 'Cabernet Sauvignona' u oba dva vina razlikuje se, kod vina iz srednje paljene bačve koncentracije se smanjuju, dok se kod vina iz jako paljene bačve koncentracije povećavaju do šestog mjeseca dozrijevanja, što je vidljivo na *Grafikon 10*. Sadržaj procijanidina B1 i B2 kreće se do 3-4 mg/l, varira tijekom mjeseci, ali kreće se jednakom dinamikom kao i katehin.

Katehin i procijanidini kod vina sorte 'Merlot' pokazuju drugačije kretanje, no što je slučaj kod ostalih navedenih vina (*Tablica 6*). Njihove koncentracije u bačvi srednje jačine paljena su gotovo stalne, bez odnaka, dok kod jako paljene bačve, u šestom mjesecu dozrijevanja događa se priličan pad, koji se do kraja dozrijevanja vraća na početne koncentracije (*Grafikon 11*). Isti slučaj događa se s procijanidinom B2.



*Grafikon 11: Usporedba sadržaja katehina i procijanidina ovisno u stupnju paljenja kod vina sorte 'Merlot'*



Grafikon 12: Usporedba sadržaja katehina i procijanidina ovisno u stupnju paljenja kod vina sorte 'Petit Verdot'

Kod 'Petit Verdota', koncentracije katehina i procijanidina nisu značajno više od drugih sorata kao što je bio slučaj s ostalim fenolnim spojevima (Tablica 7). Međutim kretanje tih spojeva tijekom dozrijevanja razlikuje se od ostalih sorata, koncentracije iz jako paljene bačve uopće se ne mijenjaju, odnosno tijekom 9 mjeseci dozrijevanja vrlo su stabilne. Koncentracije katehina iz srednje paljene bačve prvo blago rastu do trećeg mjeseca, pa onda od šestog mjeseca se smajuju (Grafikon 12). Procijanidin B2 u vinu srednje paljene bačve, ne prati dinamiku katehina, već bilježi prilično povišenje koncentracija pri kraju dozrijevanja. Katehini, dimerni i polimerni procijanidini su nestabilni u kiselom, stupaju u reakcije te se stvaraju homogeni polimeri ili u reakcije kopigmentacije s antocijanima. Na njihove koncentracije mogu utjecati i drugi čimbenici, kao što su pH, temperatura, oksidacija što može uvjetovati smanjenje ili povećanje njihove koncentracije (Ribéreau-Gayon i dr., 2006).

Grafikon 1

## 6. Zaključak

Temeljem provedenog istraživanja, dobiveni rezultati ukazali su na postojanje utjecaja stupnja paljenja hrastove bačve na kemijska svojstva vina. Međutim, u središtu razmatranja ovoga rada bili su pojedinačni polifenolni spojevi, čija je dinamika kretanja osim pod utjecajem stupnja paljenja, pod utjecajem kemijskih reakcija koje se odvijaju tijekom dozrijevanja, osnovnih kemijskih parametara vina i pod utjecajem sortnih svojstava.

Tijekom devet mjeseci dozrijevanja, sastav pojedinačnih antocijanskih spojeva, smanjuje se uslijed reakcija kopigmentacije ili mijenjanja strukture zbog nestabilnosti. Početni sastav antocijana i dinamika kretanja tijekom dozrijevanja ovisi o sorti, ali i o stupnju paljenja bačve. Tako se kod jako paljenih bačvi, sadržaj antocijana smanjuje većim intenzitetom, a i krajnji sastav niži je od onog kod srednje paljenih bačvi. 'Cabernet Sauvignon' i 'Merlot' pokazuju sličnu dinamiku, a 'Petit Verdot' je iznimka, njegove početne koncentracije antocijana znatno su veće, ti spojevi su nestabilni, te naglo opadaju.

Koncentracije najznačajnijih hidroksicimetnih kiselina kod 'Caberneta Sauvignona' i 'Merlota', u obje varijante bilježe smanjenje koncentracija nakon trećeg mjeseca dozrijevanja, dok kod 'Petit Verdota' smanjuju se nakon šestog mjeseca. Koncentracije galne kiseline, kao najznačajnije predstavnice hidroksibenzojevih kiselina, specifične su za praćenje, budući da osim koncentracija koje su pronađene u vinu, galna se ekstrahira i iz obrađenog hrastovog drva. U svim vinima zabilježen je porast koncentracija, te stupanj paljenja bačve utječe na dinamiku osim kod kod 'Petit Verdota' gdje stupanj paljenja nije imao izraženiji utjecaj.

Katehini su najbrojniji predstavnici monomera flavan-3-ola, njihove koncentracije ovise o sortnim svojstvima, o uvjetima sredine, te o interakciji s drugim fenolnim spojevima. Kretanje tijekom dozrijevanja varira, razlikuje se među sortama i bačvama. Isti je slučaj s procijanidom B1 i B2.

Značaj polifenolnih spojeva u crnim vinima oduvijek je bio velik, u prilog idu i novija, detaljnija istraživanja koja prikazuju njihova bioaktivna svojstva. U budućim bi istraživanjima trebalo proširiti na analizu pojedinačnih predstavnika hidrolizirajućih tanina porijeklom iz drveta koji značajno mijenjaju polifenolni profil vina, a samim time i njegova organoleptična svojstva.



## 7. Popis literature

1. Chatonnet P (1995) Influence des procedes de tonnellerie et des conditions d'elevege sur la composition et la qualite des vins eleves en futs de chene; These Doctorat, Universite de Bordeaux II, France
2. Cheynier V, Dueñas-Paton M, Salas E, Maury C, Souquet JM, Sarni-Manchado P, Fulcrand H (2006) Structure and Properties of Wine Pigments and Tannins; *Am. J. Enol. Vitic*; 57, 298-305
3. Cheynier V, Moutounet M and Sanri-Manchado P (2000) Los compuestos fenolicos. In: *Enologia: Fundamentos cientificos y tecnologicos*; (pp. 114-136); Ed. Flancy C, AMV Ediciones, Madrid, Spain
4. Chira K, González-Centeno MR and Teissedre PL (2017) Wine Ageing in Oak Barrel: Effect of Toasting; *Agricultural Research & Technology, Open Access Journal Process*; 12(2)
5. Dumitriu GD, López de Lerma N, Zamfir, CI, Cotea VV and Peinado RA (2017) Volatile and phenolic composition of red wines subjected to aging in oak cask of different toast degree during two periods of time; *LWT - Food Science and Technology*; 0023-6438, 30627-8
6. Ector BJ, Magee JB, Hegwood CP and Coign MJ (1966) Resveratrol Concentration in Muscadine Berries, Juice, Pomace, Purees, Seeds, and Wines; *American Journal of Enology and Viticulture*; 47 (1), 57-62
7. Fernández de Simón B, Sanz M, Cadahía E, Martínez J, Esteruelas E and Muñoz AM (2014) Polyphenolic compounds as chemical markers of wine aging in contact with cherry, chestnut, false acacia, ash and oak wood; *Food Chemistry*; (online) 143, 66 – 76;  
[https://www.researchgate.net/publication/256928127\\_Polyphenolic\\_compounds\\_as\\_chemical\\_markers\\_of\\_wine\\_ageing\\_in\\_contact\\_with\\_cherry\\_chestnut\\_false\\_acacia\\_ash\\_and\\_oak\\_wood](https://www.researchgate.net/publication/256928127_Polyphenolic_compounds_as_chemical_markers_of_wine_ageing_in_contact_with_cherry_chestnut_false_acacia_ash_and_oak_wood) (pristupljeno: 15. siječnja 2019.)
8. Flint SD, Peter W, Jordan PW and Caldwell MM (1986) Plant protective response to enhanced uv-b radiation under field conditions: leaf optical properties and photosynthesis; *Photochemistry and Photobiology*; 41, 95-99
9. Garde-Cerdan T and Ancin-Azpilicueta C (2006) Review of quality factors on wine ageing in oak barrels; *Trends in Food Science & Technology*; (online) 17, 438–447; [https://www.researchgate.net/publication/223263448\\_Review\\_of\\_quality\\_factors\\_on\\_wine\\_ageing\\_in\\_oak\\_barrels](https://www.researchgate.net/publication/223263448_Review_of_quality_factors_on_wine_ageing_in_oak_barrels) (pristupljeno: 15. siječnja 2019.)
10. <https://www.jancisrobinson.com/learn/grape-varieties/red/merlot>; pristupljeno: 28. veljače 2019.
11. <https://www.wine-searcher.com/grape-365-petit-verdot>; pristupljeno: 28. veljače 2019.
12. Jeandet P, Bessis R and Gautheron B (1991) The Production of Resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) by Grape Berries in Different Developmental Stages; *American Journal of Enology and Viticulture*; 42 (1), 41-46
13. Jeromel A, Orbanić F, Tomaz I, Andabaka Ž i Jagatić-Korenika AM (2017) Kakvoća crnih vina (V.vinifera) dozrijevanih u bačvama od slavonske hrastovine; *Glasnik zaštite bilja*; 6, 19-27

14. Kontoudakis N (2010) Grape Phenolic Maturity, Determination Methods and Consequences on Wine Phenolic Maturity; Ph Doctoral Thesis, Departament de Bioquímica and Biotecnologia, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, Spain; (online) [https://www.researchgate.net/publication/275832540\\_Grape\\_phenolic\\_maturity\\_Determination\\_methods\\_and\\_consequences\\_on\\_wine\\_phenolic\\_composition](https://www.researchgate.net/publication/275832540_Grape_phenolic_maturity_Determination_methods_and_consequences_on_wine_phenolic_composition) (pristupljeno: 15. siječnja 2019.)
15. Lee CY and Jaworski AW (1990) Identification of Some Phenolics in White Grapes; *American Journal of Enology and Viticulture*; 41(1), 87-89
16. Li S, Crump AM, Grbin PR, Cozzolino D, Warren P, Hayasaka Y and Wilkinson KL (2015) Aroma Potential of Oak Battens Prepared from Decommissioned Oak Barrels; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 63(13), 3419-3425
17. Lu Y and Yeap Foo L (1999) The polyphenol constituents of grape pomace; *Food Chemistry*; 65, 1-8
18. Lucić F (2017) Tehnologija proizvodnje barrique bačava; Završni rad, Poljoprivredni odjel, Veleučilište u Požegi; (online) <https://zir.nsk.hr/islandora/object/vup%3A387> (pristupljeno: 15. siječnja 2019.)
19. Milković A (2018) Utjecaj gama zračenja grožđa sorte 'Merlot' na kemijski sastav vina; Diplomski rad, Zavod za vinogradarstvo i vinarstvo, Agronomski fakultet u Zagrebu
20. Monagas M, Bartolome B and Gomez-Cordoves C (2005) Updated Knowledge About the presence of phenolic compounds in wine, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*; 45 (2), 85-118
21. Moreno-Arribas MV and Polo MC (2009) *Wine Chemistry and Biochemistry*; Springer Science+Business Media, LLC, New York, USA
22. Newton J, Aiken J, Masyczek J, Stambor E, Larmie E, Myers J and Swan J (1997) A study on the effect of heating oak wood, Its influence on Wine Flavor, Part Two; *International Barrel Symposium*; Independent Stave Company, Inc; St. Louis, Missouri, SAD
23. O.I.V. (2007) *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis*, Vol. 1., Paris, France
24. Orbančić F, Sošić M, Stulić L and Šember N (2018) Quality of red wines produced with different oenological products; 42nd Conference for Students of Agriculture and Veterinary Medicine with International Participation, Proceedings book, Novi Sad, Srbija
25. Pereira GE, Gaudillere JP, Pieri P, Hilbert G, Maucourt M, Deborde C, Moing A and Rolin D (2006) Microclimate influence on mineral and metabolic profiles of grape berries; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 54 (18), 6765-6775
26. Perez-Lopez FR, Chedraui P, Haya J and Cuadros JL (2009) Effects of the Mediterranean diet on longevity and age-related morbid conditions; *Maturitas* 64 (2), 67-79
27. Rentzsch M, Wilkens A and Winterhalter P (2009) Non-flavonoid phenolic compounds; *Wine Chemistry and Biochemistry*; 509-527
28. Ribéreau-Gayon P, Glories Y, Maujean A and Dubourdieu D (2006) *Handbook of Enology, The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments, Volume 2*; John Wiley and Sons, Ltd, Chichester, England
29. Singleton VL, Timberlake CF, and Lea AGH (1978) The phenolic cinnamate of white grapes and wine; *Journal of the Science of Food and Agriculture*; 29, 403-410
30. Souquet JM, Labarbe B, Le Guerneve C, Cheynier V and Moutounet M (2000) Phenolic composition of grape stems; *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48; 1076-1080

31. Trousdale EK and Singleton VL (1983) Astilbin and engeletin in grape and wine; *Phytochemistry* 22 (2) 619-620
32. Vitrac X, Castagnino C, Waffo-Teguo P, Delaunay JC, Vercauteren J, Monti JP, Deffieux G and Merillon JM (2001) Polyphenols Newly Extracted in Red Wine from Southwestern France by Centrifugal Partition Chromatography; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 49, 5934-5938
33. Vivas N (1993) Le séchage naturel du bois de chêne destiné à la fabrication de barriques; *Avenir Enologie, Château-Chaintré*; 70, 17
34. Vivas N and Glories Y (1993) Étude de la flore fongique du chêne (*Quercus* sp) caractéristique du séchage naturel des bois destinés à la tonnellerie; *Cryptogamie Mycol*; 14, 127-148
35. Wang SP and Huang KJ (2004) Determination of flavonoids by high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis; *Journal of Chromatography A*; 1032, 273–279
36. Zamora F (2003) *Elaboracion y crianza del vino tinto, aspectos científicos y practicos*; Ed. Mundi-Prensa, AMV Ediciones, Madrid, Spain
37. Zbornik radova (1997) *International Barrel Symposium*; Independent Stave Company, Inc; St. Louis, Missouri, SAD
38. Zbornik radova (1999) *4th International Barrel Symposium*; Independent Stave Company, Inc; St. Louis, Missouri, SAD
39. Zhang B, Cai J, Duan C, Reeves M and He F (2015) A Review of Polyphenolics in Oak Woods; *International Journal of Molecular Sciences*; (online) 16, 6978 – 7014; <https://www.mdpi.com/1422-0067/16/4/6978> (pristupljeno: 22. siječnja 2019.)

## 8. Prilog

### Popis tablica

|  |    |
|--|----|
| Tablica 1: Klasifikacija fenolnih spojeva iz biljaka .....                           | 12 |
| Tablica 2: Fenolne kiseline iz grožđa i vina.....                                    | 17 |
| Tablica 3: Sadržaj pojedinačnih polifenolnih spojeva u mladim vinima s Jazbine ..... | 37 |
| Tablica 4: Osnovna fizikalno - kemijska analiza vina .....                           | 40 |
| Tablica 5: Sastav pojedinačnih polifenolnih spojeva, Cabernet Sauvignon .....        | 41 |
| Tablica 6: Sastav pojedinačnih polifenolnih spojeva, Merlot .....                    | 42 |
| Tablica 7: Sastav pojedinačnih polifenolnih spojeva, Petit Verdot.....               | 43 |

### Popis shema

|  |    |
|--|----|
| Shema 1: Biosintetski putevi polifenolnih spojeva (Zhang i dr., 2015).....           | 13 |
| Shema 2: Osnovna kemijska struktura flavonoidnih spojeva (Zhang i dr., 2015).....    | 13 |
| Shema 3: Strukturna formula benzojeve kiseline (Ribéreau – Gayon i dr., 2006).....   | 16 |
| Shema 4: Strukturna formula cimetine kiseline (Ribéreau – Gayon i dr., 2006) .....   | 17 |
| Shema 5: Strukturna formula resveratrola (Ribéreau – Gayon i dr., 2006).....         | 18 |
| Shema 6: Strukturna formula flavonola (Kontoudakis, 2010) .....                      | 19 |
| Shema 7: Strukturna formula monomera flavan-3-ola (Moreno-Arribas i dr., 2009) ..... | 20 |
| Shema 8: Strukturna formula procijanidina B (Ribéreau – Gayon i dr., 2006) .....     | 22 |
| Shema 9: Strukturna formula antocijana (Moreno-Arribas i dr., 2009) .....            | 23 |
| Shema 10: Strukturna formula monomera elagitanina (Zhang i dr., 2015).....           | 27 |
| Shema 11: Strukturne formule siringila i gvajacila (Zbornik radova, 1997).....       | 29 |

## Popis grafikona

|  |    |
|--|----|
| Grafikon 1: Usporedba sadržaja navedenih antocijanskih spojeva ovisno o stupnju paljenja kod vina sorte 'Cabernet Sauvignon' .....     | 45 |
| Grafikon 2: Usporedba sadržaja navedenih antocijanskih spojeva ovisno o stupnju paljenja kod vina sorte 'Merlot' .....                 | 46 |
| Grafikon 3: Usporedba sadržaja navedenih antocijanskih spojeva ovisno o stupnju paljenja kod vina sorte 'Petit Verdot' .....           | 47 |
| Grafikon 4: Usporedba sadržaja navedenih hidroksicimetnih kiselina ovisno o stupnju paljenja kod vina sorte 'Cabernet Sauvignon' ..... | 48 |
| Grafikon 5: Usporedba sadržaja galne kiseline ovisno o stupnju paljenja kod vina sorte 'Cabernet Sauvignon' .....                      | 49 |
| Grafikon 6: Usporedba sadržaja navedenih hidroksicimetnih kiselina ovisno o stupnju paljenja kod vina sorte 'Merlot' .....             | 50 |
| Grafikon 7: Usporedba sadržaja galne kiseline ovisno o stupnju paljenja kod vina sorte 'Merlot' .....                                  | 50 |
| Grafikon 8: Usporedba sadržaja navedenih hidroksicimetnih kiselina ovisno o stupnju paljenja kod vina sorte 'Petit Verdot' .....       | 51 |
| Grafikon 9: Usporedba sadržaja galne kiseline ovisno o stupnju paljenja kod vina sorte 'Petit Verdot' .....                            | 52 |
| Grafikon 10: Usporedba sadržaja katehina i procijanidina ovisno u stupnju paljenja kod vina sorte 'Cabernet Sauvignon' .....           | 52 |
| Grafikon 11: Usporedba sadržaja katehina i procijanidina ovisno u stupnju paljenja kod vina sorte 'Merlot' .....                       | 54 |
| Grafikon 12: Usporedba sadržaja katehina i procijanidina ovisno u stupnju paljenja kod vina sorte 'Petit Verdot' .....                 | 55 |

## Životopis

Fumica Orbanić, rođena je 11. rujna 1994. u Puli. Pohađala je klasičnu gimnaziju u Pazinskom kolegiju – klasičnoj gimnaziji s pravom javnosti u razdoblju od 2009. do 2013. Zatim, upisuje preddiplomski studij Hortikulture na Agronomskom fakultetu u Zagrebu, po završetku, 2016. stječe titulu sveučilišne prvostupnice inženjerke hortikulture. Iste godine, nastavlja školovanje na Agronomskom fakultetu na diplomskom studiju Hortikultura – Vinogradarstvo i vinarstvo. Tijekom školovanja aktivno je sudjelovala u izvannastavnim aktivnostima na Fakultetu, s kolegama je surađivala na natječaju za Dekanovu nagradu 2018, s radom "Primjena suvremenih enoloških protokola u proizvodnji crnih vina na VVP Jazbina". Iste godine prisustvovala je Konferenciji studenata Agronomije i Veterine u Novom Sadu u Srbiji s radom "Quality of red wines produced with different oenological products". Stručnu praksu, izvan Fakulteta, odrađivala je u Agrolaguni, u Poreču tijekom berbe 2017. Po završetku predavanja na Fakultetu, zaposlila se u vinariji San Tommaso u Rovinju kao pomoćni enolog.