

Utjecaj primjene enzima na sastav voćnog vina od aronije (*Aronia melanocarpa*)

Vujić, Ivan

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:204:186663>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-01**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**Utjecaj primjene enzima na sastav voćnog vina od
aronije (*Aronia melanocarpa*)**

DIPLOMSKI RAD

Ivan Vujić

Zagreb, rujan, 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:
Vinogradarstvo i vinarstvo

**Utjecaj primjene enzima na sastav voćnog vina od
aronije (*Aronia melanocarpa*)**

DIPLOMSKI RAD

Ivan Vujić

Mentor: Doc. dr. sc. Ana-Marija Jagatić Korenika

Zagreb, rujan, 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, Ivan Vujić, JMBAG 0178099991, rođen 31.12.1995. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

Utjecaj primjene enzima na sastav voćnog vina od aronije (*Aronia melanocarpa*)

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor 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/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta / studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta Ivana Vujića, JMBAG 0178099991, naslova

Utjecaj primjene enzima na sastav voćnog vina od aronije (*Aronia melanocarpa*)

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

- | | | |
|----|--|--------------|
| 1. | Doc. dr. sc. Ana-Marija Jagatić Korenika | mentor _____ |
| 2. | Prof.dr.sc. Ana Jeromel | član _____ |
| 3. | Doc.dr.sc. Marin Mihaljević Žulj | član _____ |

Sadržaj

1. Uvod.....	3
2. Pregled literature	5
2.1. Aronija	5
2.2. Uloga polifenolnih spojeva u biljkama.....	5
2.3. Koncentracija polifenolnih spojeva u aroniji.....	6
2.4. Čimbenici polifenolnog sastava aronije	9
3. Materijali i metode	11
3.1. Primarna prerada.....	11
3.2. Osnovne fizikalno-kemijske analize mošta i vina.....	15
3.3. Određivanje udjela ukupnih fenolnih spojeva u moštu i vinu	15
3.4. Određivanje udjela pojedinačnih fenolnih spojeva u moštu i vinu.....	16
3.5. Određivanje koncentracije antocijana.....	17
4. Rezultati i rasprava	18
4.1. Osnovna analiza vina od aronije.....	18
4.2 Analiza polifenolnog sastava	19
4.2.1 Ukupni antocijani.....	19
4.2.2. Ukupni flavonoidi.....	20
4.2.3. Ukupni polifenoli.....	21
4.2.4. Pojedinačni polifenolni spojevi	22
5. Zaključak.....	24
6. Literatura.....	25

Sažetak

Diplomskog rada studenta **Ivana Vujića**, naslova

Utjecaj primjene enzima na sastav voćnog vina od aronije (*Aronia melanocarpa*)

Voćna vina su prehrambeni proizvodi dobiveni fermentacijom soka ili masulja od različitih voćnih vrsta. Voćno vino dobiveno od plodova aronije ujedno je i funkcionalna hrana zbog značajnog antioksidativnog potencijala koji proizlazi iz visoke koncentracije polifenolnih spojeva. Antioksidansi su spojevi koje usporavaju proces oksidacije te na taj način usporavaju i proces starenja. Istraživanjem će se utvrditi učinak maceracije i primjene pektolitičkih enzima na osnovne fizikalno-kemijske parametre i koncentraciju ukupnih i pojedinačnih polifenola u vinu od aronije utvrđenih pomoću spektrofotometra i tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC).

Ključne riječi: aronija, maceracija, pektolitički enzimi, polifenoli, voćno vino

Summary

Of the master's thesis – student Ivan Vujić, entitled

Effect of enzyme application on the composition of chokeberry fruit wine (*Aronia melanocarpa*)

Fruit wines are food products obtained by fermenting juices or pomace from different fruit species. Fruit wine derived from fruits of chokeberry is also a functional food due to the significant antioxidative potential resulting from the high concentration of polyphenolic compounds. Antioxidants are substances that slow down the oxidation process and thus slow down the aging process. Research will determine the effect of maceration and application of pectolytic enzymes on basic physical and chemical parameters and the concentration of total and individual polyphenols in aronia wines by spectrophotometer and high performance liquid chromatography (HPLC) methods.

Keywords: Aronia, fruit wine, maceration, pectolytic enzymes, polyphenols

1. Uvod

Aronija (*Aronia melanocarpa*) je višegodišnji listopadni grm koji pripada porodici ruža (*Rosaceae*) i potječe s područja Sjeverne Amerike. Kao samonikla vrsta, najviše je rasprostranjena u Kanadi. U Europi se najviše uzgaja u sjevernim dijelovima Rusije, u Poljskoj, Češkoj, Slovačkoj te na sjeveru Njemačke i Francuske. Prema službenim podacima iz 2013. godine u Hrvatskoj je bilo 20 ha nasada aronije, no prema neslužbenim podacima ta se brojka povećala na 100 ha (www.savjetodavna.hr).

Vrlo je otporna i prilagodljiva vrsta. Zahvalna je za uzgoj u sjevernim područjima zbog visokog stupnja otpornosti na mraz i otpornosti na temperature do $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Također je otporna na sušu, a nije utvrđeno da je posebno osjetljiva na bolesti i štetnike.

Uobičajeno je dozrijevanje plodova aronije tijekom kolovoza te započinjanje s berbom u to vrijeme. Zbog gotovo istovremenog dozrijevanja svih plodova, u najvećem broju slučajeva potrebna je samo jedna berba, navode Milić (2012) te Lasić Jašarović i sur. (2013). Kada plodovi dozriju, oni ne opadaju s grma već na njemu mogu ostati 20-ak dana, a da ne dođe do opadanja njihove kvalitete.

Plodovi aronije posjeduju tipičnu gorko-bademastu aromu i trpkog su okusa pa se zbog toga rijetko koriste u svježem obliku i obično se prerađuju u proizvode poput sokova, džemova i vina (Kulling i Rawel, 2008; Barcelek, 2010).

Aronija je prema svojem kemijskom sastavu bogat izvor raznih esencijalnih mikronutrijenata kao što su vitamini i minerali, te spada u kategoriju funkcionalne hrane i 'super voća' zajedno s borovnicom, kupinom, goji bobicama i brusnicom. Zahvaljujući tome, aronija dobiva sve veći marketinški prostor. U posljednje vrijeme ističe se važnost voća kao bogatog izvora spojeva koji nisu esencijalni za ljudsko zdravlje, ali pokazuju biološko djelovanje u ljudskom organizmu. U takve spojeve ubrajamo i polifenolne spojeve koji su zbog svoje složene kemijske građe podijeljeni u brojne skupine od kojih su najvažnije flavonoidi i fenolne kiseline (Kaur i Kapoor, 2001; Del Rio i sur., 2010). Podizanjem svijesti o pravilnoj prehrani dolazi do povećane potražnje za voćnim vinima kao riznicama zdravlja. Preduvjet kvalitetnog voćnog vina jest zdrav plod. Kako bi se u što većoj mjeri očuvali željeni spojevi, nužno je koristiti se tehnološkim mogućnostima suvremene proizvodnje i prerade. Neke od tih mogućnosti su hladena maceracija i fermentacija čime smanjujemo mogućnost pojave nepoželjnih senzornih karakteristika, korištenje pektolitičkih enzima koji poboljšavaju izdvajanje soka i polifenola na način da razgrađuju netopivu celulozu i hemicelulozu te selekcionirani kvasci koji olakšavaju početak i tijek fermentacije u težim uvjetima. Uz sve već navedeno, higijena podruma je također vrlo važna.



Slika 1. Plod aronije
Izvor: <https://www.kupisadnice.ba>

Cilj ovog rada je utvrditi utjecaj primjene pektolitičkih enzima tijekom procesa maceracije na sastav i kakvoću voćnog vina od aronije temeljem osnovnih fizikalno-kemijskih parametara u vinu te koncentracije ukupnih i pojedinačnih polifenolnih spojeva dobivenih spektrofotometrijski i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC).

2. Pregled literature

2.1. Aronija

Grm aronije doseže visinu 1.5-2.5 metra. Cvjetovi su bijele do blijedo ružičaste boje, skupljeni u cvat s 20-tak i više pojedinačnih cvjetova. Prvi cvjetovi javljaju se početkom svibnja i samooplodni su. Listovi su debeli, sjajni i glatki, tamnozeleno boje (Ochmian i sur., 2012).

Plodovi aronije su tamnoplave bobice, okruglastog do spljoštenog oblika, prekrivene pepeljastom prevlakom. U plodu je 5-8 sjemenki, dok 15-20 plodova čine grozd. Plodovi dozrijevaju od sredine kolovoza, a moguća je berba tijekom cijelog rujna jer plodovi ne opadaju. Meso ploda ima intenzivnu crvenu boju, slatko-trpkog okusa koji podsjeća na nezrele borovnice. Iskoristivost aronije je velika te otpada gotovo i nema. Upravo zato je ova biljka toliko zanimljiva tržištu nutritivno kvalitetnog voća koje uvelike doprinosi zdravlju. Koristi se u prehrani zbog izuzetnog nutritivnog sastava te je ujedno i funkcionalna hrana. Polifenolni spojevi su zaslužni za izrazita antioksidativna svojstva, a aronija ih ima više od većine voćnih vrsta. Aronija umanjuje mogućnost nastanka karcinoma (skupljač slobodnih radikala), ima antialergijska i antimikrobna svojstva, regulira krvni tlak, sprječava nastanak kardiovaskularnih bolesti te pomaže kod anemije (100 g aronije zadovoljava 93% dnevne potrebe organizma za željezom). Udio vitamina je također visok, 100 g plodova dovoljno je da osiguraju dnevne potrebe za folnom kiselinom. Pored toga, u aroniji ima i minerala, ponajprije željeza, a količina joda je također visoka. U odnosu na relativno visok udio šećera od oko 10 %, udio kiselina je nizak i iznosi 1 %. Pektin čini oko 0,75 %, dok se udio tanina zriobom smanjuje s 0,6 % na 0,35 %. Na sastav ploda aronije velik utjecaj ima sorta, način uzgoja, stupanj zrelosti plodova, rok berbe te stanište (Jeppsson i Johansson, 2000).

2.2. Uloga polifenolnih spojeva u biljkama

Polifenolni spojevi u prirodi su prisutni u gotovo svim biljkama i namirnicama biljnog podrijetla. U širem smislu nazivaju se polifenolima, a uključuju spojeve različite kemijske strukture, od jednostavnih molekula, kao što su fenolne kiseline (hidroksicimetne kiseline) pa sve do visoko polimeriziranih tvari kao što su proantocijanidini (tanini). Polifenoli čine jednu od najbrojnijih i široko rasprostranjenih skupina spojeva u biljkama kojoj pripada više od 8000 različitih spojeva (Harbone i sur., 2000).

Oni su produkti sekundarnog metabolizma u biljkama i nisu esencijalni za ljudski organizam. Najveća i najvažnija skupina polifenola su flavonoidi koji se pojavljuju u gotovo svim dijelovima biljaka, ali su po udjelu različito rasprostranjeni u različitim dijelovima biljnih organa. Polifenolni spojevi sudjeluju u biokemijskim promjenama koje se odvijaju tijekom zrenja i dozrijevanja voća i uključeni su u mehanizme formiranja boje, okusa i arome svojstvene svakoj

pojedinoj vrsti voća, no također su uključeni i u različite nepoželjne procese koji nastaju tijekom prerade svježeg voća (Dubrović, 2012).

Iako se radi o vrlo heterogenoj skupini spojeva, s kemijskog stajališta, osnovno obilježje svih polifenola je prisutnost jednog ili više hidroksiliranih benzenskih prstenova. Svi poznati spojevi mogu se podijeliti na flavonoide i neflavonoide (Del Rio i sur., 2013). Predstavnici flavonoida su flavononi, flavoni, flavonoli, izoflavonoidi, antocijani i flavani. Među flavonoidima, antocijani su antioksidansi koji igraju važnu ulogu u smanjenju rizika od brojnih bolesti. Predstavnici neflavonoida su: fenolne kiseline i stilbeni. Također jedno od njihovih karakterističnih svojstava je i povezanost s drugim molekulama, najčešće sa šećerima i proteinima. Slobodni oblici polifenolnih spojeva su uglavnom toksični, pa se oni u biljnim tkivima najčešće javljaju u vezanom obliku (Reis Giada, 2013).

Biljke se štite od nepovoljnih vanjskih uvjeta producirajući sekundarne metabolite tj. spojeve koji mogu biti derivati polifenola. Ti spojevi tada mogu imati antibakterijsko i antifungalno djelovanje, te mogu utjecati na okus ili činiti samu boju biljnih organa (Henry i Heppell, 1998). Antocijani pružaju karakterističnu boju cvjetovima i bobicama (ljubičasta, plava) čime je omogućeno privlačenje kukaca i ptica koji sudjeluju u oprašivanju i rasprostranjivanju sjemena. Također imaju sposobnost zaštite od UV zračenja. Kao jedan od obrambenih mehanizama u borbi protiv mikroorganizama, polifenoli se nakupljaju u obliku fitoaleksina (Jakobek, 2007). Fenolne kiseline mogu sudjelovati u procesu zacjeljivanja oštećenih dijelova biljke. Iz navedenog se može zaključiti kako polifenoli omogućavaju normalan rast i razvoj biljke pružajući joj potrebnu zaštitu (Kondakova i sur., 2009).

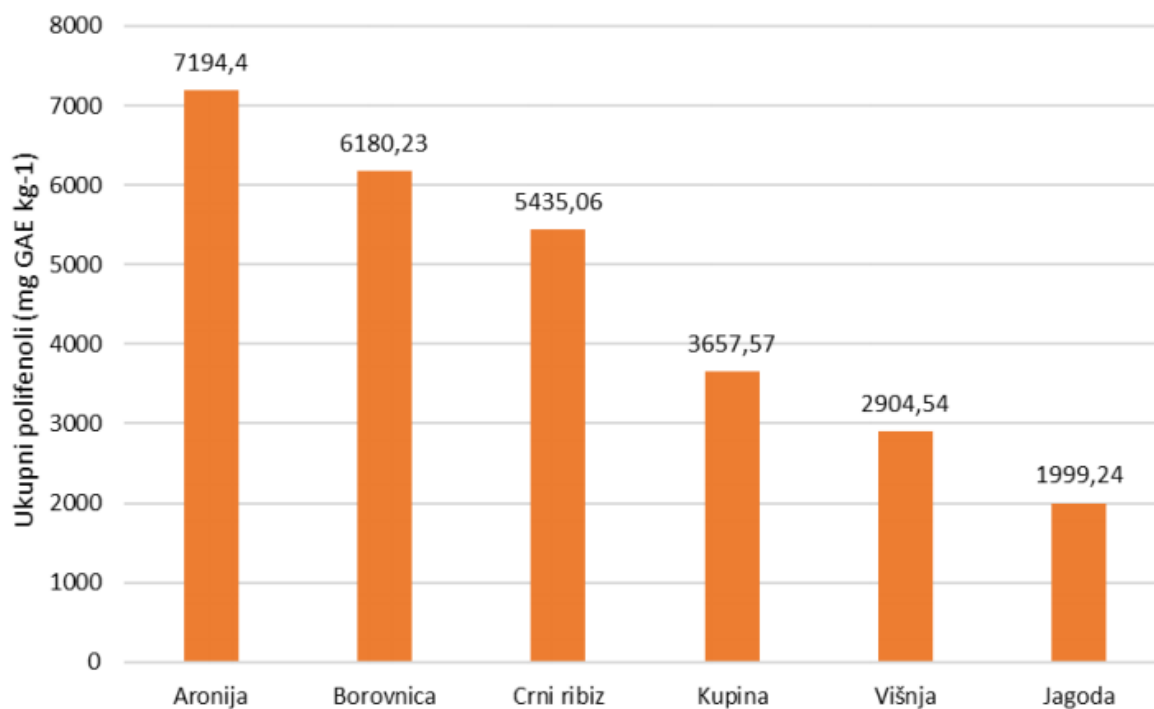
2.3. Koncentracija polifenolnih spojeva u aroniji

Kvalitativna i kvantitativna analiza polifenolnih spojeva u aroniji vrlo je važna jer omogućuje uvid u mogući utjecaj na ljudski organizam- uzevši u obzir njihovu bioraspodivnost. Također, uz pomoć tih podataka, aroniju možemo usporediti s drugim namirnicama sličnog sastava. Najvažnije skupine polifenola prisutne u aroniji su proantocijanidini, fenolne kiseline, flavonoli, flavan-3-oli te antocijani (Oszmiański i Wojdyło, 2005).

Rezultati identifikacije fenolnih spojeva ukazuju na visoki udio proantocijanidina od 66 % ukupnih polifenola (Oszmiański i Wojdyło, 2005). Proantocijanidini su oligomeri i polimeri čija je glavna gradivna jedinica (epi)katehin (Kulling i Rawel, 2008). Antocijani su odgovorni za tamno crvenu, plavu i ljubičastu boju bobica aronije. *Aronia melanocarpa* je vrsta s, do sada, najvećom koncentracijom antocijana. Sadrži veću količinu od ostalih biljnih vrsta iz porodice ruža (*Rosaceae*) kao što su jagode, maline, višnje, kupine i dr. (Jakobek, 2007). Od antocijana kao sljedeće skupine po zastupljenosti identificirana su četiri oblika cijanidina: cijanidin-3-galaktozid, cijanidin-3-arabinozid, cijanidin-3-ksilozid i cijanidin-3-glukozid. Cijanidin-3-galaktozid i cijanidin-3-arabinozid su zastupljeni u velikim količinama u usporedbi s druga dva.

Fenolne kiseline čine oko 7,5 % od ukupnog polifenolnog sastava aronije s dva glavna predstavnika, klorogenskom i neoklorogenskom kiselinom, koje su derivati cimetine kiseline. Flavonoli su zastupljeni u niskom udjelu obzirom na druge fenolne komponente. U najvećoj koncentraciji je zastupljen kvercetin, odnosno njegovi derivati: kvercetin-3-galaktozid, kvercetin-3-glukozid i kvercetin-3-rutinozid (Oszmiański i Wojdyło, 2005). Ispitivanje koncentracije polifenolnih spojeva može se provoditi uz pomoć različitih analitičkih metoda. Samim time, kao i uslijed razlika uzrokovanih uvjetima rasta biljke i stupnja zrelosti ploda, može doći i do razlika u literaturnim podacima o koncentracijama pojedinih spojeva.

Antioksidansi su spojevi koji sprječavaju ili usporavaju procese oksidacije u organizmu, neutraliziraju slobodne radikale i na taj način kontroliraju procese starenja i razvoj kroničnih bolesti (Shahidi i Zhong, 2007; Popović, 2019). Postoje dva izvora antioksidansa: ljudski organizam, koji je sposoban sam ih proizvesti uz pomoć vitamina i minerala, dok je drugi, vanjski izvor, hrana koju svakodnevno unosimo (Antolovich i sur., 2002; Popović, 2019). Posljednjih nekoliko desetljeća sve više se razvija interes za prirodne antioksidanse kako bi se izbjegla upotreba umjetnih aditiva. Jedno od nepoželjnih svojstava prirodnih antioksidanasa je osjetljivost na kisik, posebno prilikom izlaganja svjetlu, visokoj temperaturi i sušenju. Važna karakteristika polifenola je njihovo snažno antioksidacijsko djelovanje koje se iskazuje hvatanjem slobodnih radikala te vezanjem metalnih iona, prekursora pri stvaranju slobodnih radikala (Rice-Evans i sur., 1997; Popović, 2019). Antioksidativno djelovanje polifenola povezano je s njihovom mogućnošću pozitivnog fiziološkog djelovanja u ljudskom organizmu. Naime, polifenoli pokazuju antikancerogeno, antiupalno i antialergijsko djelovanje i zbog takvog pozitivnog djelovanja, u već navedenom periodu, postali su predmet brojnih istraživanja. Antioksidacijsko svojstvo polifenolnih spojeva (flavonoida) temelji se na njihovoj sposobnosti doniranja vodikova atoma te tako hvataju slobodne radikale generirane u reakciji peroksidacije lipida (Del Rio i sur., 2013; Popović, 2019).



Graf 1. Koncentracija ukupnih polifenola u različitim biljnim vrstama

Izvor: Jakobek i sur. (2007)

Tablica 1. Prosječan sadržaj ukupnih fenolnih komponenti i flavanoida u proizvodima od aronije

Proizvod	Ukupne fenolne komponente	Ukupni flavonoidi
Sok	4416	3180
Prah	4539	2825
Kapsule	4902	2726
Mješavina za čaj	2217	1286
Sušene bobice	2210	1131

Izvor: Tolić i sur. (2015)

2.4. Čimbenici polifenolnog sastava aronije

Kao uzrok varijacija u podacima o koncentraciji polifenolnih spojeva, navode se brojni čimbenici. Mnoga istraživanja upućuju na to da bobičasto voće uzgojeno bez pesticida, u sjevernim klimatskim predjelima sadrži veće količine polifenola od onih koje rastu u umjerenom klimatskom pojasu. Dakle, što je biljka izloženija stresu sadrži i veću količinu polifenola. Utvrđeno je i kako stupanj zrelosti također utječe na koncentraciju polifenola- što je biljka zrelija povećava se udio antocijanina, a smanjuje udio fenolnih kiselina (Kondakova i sur., 2009). Antocijani su kod aronije zastupljeni s udjelom od 25 % ukupnih polifenola. Jeppsson i Johansson (2000) povezuju sadržaj antocijana i organskih kiselina s vrstom i zrelošću voća. Autori ističu kako se sadržaj antocijana može povećati za 180 % između sredine kolovoza i sredine rujna što znači da na udio fenolnih spojeva utječu i klima, vrijeme berbe i sorta. Kao čimbenici polifenolnog sastava u vinu navode se i vrsta kvasaca, temperatura skladištenja, toplinski tretmani te enzimi.

Autori Lachowicz i sur. (2017) istraživanjem učinka kvasaca i temperature skladištenja vina od aronije, utvrđuju najveću koncentraciju polifenola u moštu, a najmanju u vinu skladištenom na 25 °C. Što je temperatura skladištenja niža, više polifenola ostaje očuvano. Temperatura je imala značajan utjecaj na boju vina. Pri skladištenju vina na 4 °C boja je ostala očuvana dok je pri višim temperaturama ona degradirana.

Borowska i sur. (2009) proveli su istraživanje na temu utjecaja toplinskog tretmana i primjene enzima na prinos, količinu polifenola i antioksidativnu aktivnost soka od aronije. Najniži randman soka bio je u varijanti koja je obuhvaćala toplinski tretman bez maceracije, dok je najviši bio kod varijanata koje obuhvaćaju toplinski tretman i maceraciju s enzimima. Količina ukupnih fenola značajno je varirala među varijantama. Najniža koncentracija ukupnih fenola bila je u varijanti bez maceracije s enzimima i toplinskog tretmana (3172 mg GAE/L) dok je najveća koncentracija zabilježena kod maceracije s enzimima i toplinskim tretmanom (7800 mg GAE/L). Količina antocijana bila je najveća u varijanti maceracije s enzimima bez procesa grijanja. Proces zagrijavanja u određenoj mjeri smanjuje količinu antocijana, što je i dokazano u prijašnjim istraživanjima. Iz navedenog se može zaključiti da enzimi i toplinski tretman pozitivno utječu na randman soka i polifenole.

Ostaci od prešanja aronije mogu se iskoristiti za proizvodnju pločica od žitarica. Drozd i sur. (2019) proveli su istraživanje na tu temu i uz dodatak 20 % ostataka od prešanja aronije, količina ukupnih polifenola povećala se za 178 puta u odnosu na kontrolu koja se sastojala od čistih žitarica bez dodatka prešavine.

Tomić i sur. (2015) proveli su istraživanje na temu kemijskog sastava voćnih vina od aronije. 2015. i 2016. g. ekološki uzgojeni plodovi ubrani na OPG-u u Vrbovcu macerirani su 7 dana uz svakodnevno potapanje klobuka. Od enoloških preparata dodani su kvasci *Sacharomyces bayanus* te pektolitički enzim Lallzyme OE (Lallemand). Pektolitički enzimi povećavaju ekstrakciju boje, tanina i prekursora arome.

Tablica 2. Osnovna kemijska analiza vina od aronije

Godina berbe	Alkohol (%vol)	Šećer reducirajući (g/L)	Ekstrakt bez šećera (g/L)	Ukupna kiselost (g/L)	Hlapiva kiselost (g/L)	pH	Pepeo (g/L)
2015	10.45	3.4	43.6	4.7	0.66	3.59	2.06
2016	11.91	2.9	33.8	5.3	0.49	3.48	2.12

Izvor: Tomić i sur. (2015)

Iz rezultata je vidljivo kako dobiveno vino ima visoke vrijednosti suhog ekstrakta, dok su vrijednosti veće u vinu iz 2015. g. Razlog tomu mogu biti: sastav ploda, način gnojidbe, zrelost bobica, datum berbe, lokacija nasada i sl. (Jeppsson i sur., 2000; Skupien i sur., 2007). Koncentracije pepela su također vrlo visoke, a vina iz obje godine su suha, uz mali ostatak šećera zbog uporabe *S. bayanus* kvasca. Važno svojstvo ove vrste kvasca jest sposobnost fermentacije u vrlo širokom temperaturnom području od 10 °C do 30 °C. Unatoč visokim temperaturama kod fermentacije, nije utvrđeno povećanje hlapive kiselosti u obje godine. U vinima je izmjerena visoka koncentracija pepela u usporedbi s propisanom najnižom koncentracijom od 0.6 g/L. Relativno niska ukupna kiselost rezultat je niske koncentracije organskih kiselina u plodovima.

3. Materijali i metode

3.1. Primarna prerada

Proces prerade aronije započeo je 18. listopada 2018. na znanstveno-nastavnom pokušalištu Jazbina Agronomskog fakulteta. Plodovi aronije ubrani su na OPG Florijan na obroncima Pokupske doline uz rijeku Kupu, nakon čega su zamrznuti do početka prerade. U pokusu su obuhvaćene dvije varijante po 100 kg plodova aronije. Prva je bila maceracija masulja u trajanju 24 sata bez upotrebe enzima, dok je druga varijanta također obuhvaćala maceraciju u trajanju 24 sata, ali s dodatkom pektolitičkih enzima (Lallzyme OE, Lallemand), sve na temperaturi 20 °C. Proces muljanja obavljen je na električnoj runjači-muljači što predstavlja prvu fazu procesa prerade. Muljanjem bobica aronija puca i na taj način se oslobađa sok i započinje maceracija, međudjelovanje soka i kože, odnosno ekstrakcija polifenolnih spojeva u sok. Bolja opcija od runjače i muljače bila bi pasirka pomoću koje bi se dobio homogeniji masulj. Koncentracija šećera u soku nakon prerade iznosila je 50 °Oe. U obje varijante dodan je SO₂ u obliku 5 %-tne sumporaste kiseline (Sumpovin) u količini od 50 mL.



Slika 2. Plodovi aronije prije prerade

Izvor: Autor rada

Nakon maceracije oba masulja su isprešana, a mošt je preliven u inoks posude. Prešanje je obavljeno na hidrauličnoj preši koja radi na principu pritiska vode pri tlaku od 2.0 bar. Prije fermentacije dodani su kvasci, starteri i hrana za kvasce. Kontrolirana alkoholna fermentacija provedena je na temperaturi od 22 °C uz dodatak selekcioniranog kvasca *Saccharomyces bayanus* (Excellence, Lamothe–Abiet) posebno otpornog na nepovoljne uvjete kao što su alkohol, SO₂, niža pH vrijednost, viša koncentracija fruktoze u odnosu na glukozu i niske temperature. Kvasci su dodani u količini od 50 g na 100 L, starteri (Oenostim, Lamothe–Abiet) u količini od 20 g na 100 L i hrana za kvasce (Fermaid E, Lallemand) u količini 30 g na 100 L. Bobičasto voće u svom sastavu nema dovoljno dušika potrebnog za ishranu kvasaca u procesu alkoholne fermentacije pa se iz tog razloga prije pokretanja procesa fermentacije u voćni masulj dodaju amonijeve soli (amonijev sulfat ili diamonijev fosfat) ili kompleksnija hranjiva koja se sastoje od specijalno pripremljenih inaktivnih kvasaca, dušičnih tvari i vitamina. Ukoliko kvascu nedostaje hranjiva (dušik, minerali, vitamini itd.), često dolazi do problema u vrenju mošta, poput teškog pokretanja vrenja ili do stvaranja sumporovodika (H₂S) koji ima miris pokvarenih jaja. To se može izbjeći upravo podizanjem razine dušika prije pokretanja fermentacije, dodatkom hranjiva za kvasac u sok.



Slika 3. Proces muljanja bobica aronije

Izvor: Autor rada



Slika 4. Prešanje bobica aronije
Izvor: Autor rada



Slika 5. Priprema soka aronije za alkoholnu fermentaciju

Izvor: Autor rada

3.2. Osnovne fizikalno-kemijske analize mošta i vina

Koncentracija šećera u moštu određena je kemijskom metodom prema Rebeleinu. Refraktometrijsko određivanje se ne preporučuje zbog velike količine suhe tvari i polifenola. Ukupna kiselost soka i vina izražena je u g L^{-1} kao jabučna kiselina, a određivana je metodom neutralizacije uzorka s 0.1 M NaOH uz indikator bromtimol plavi, primjenom metode O.I.V.-a (2001).

pH vrijednost mošta i vina određena je mjerenjem na pH metru Beckman expandomatic tip SS 2.

Alkohol u vinu određen je metodom destilacije prema O.I.V.-u (2012) na osnovu specifične težine destilata pri 20°C , $d(20/20)$. Iz dobivenih vrijednosti pomoću tablica po Riechardu očitane su odgovarajuće količine alkohola u vol %.

Reducirajući šećeri u vinu određeni su titracijskom metodom po Rebeleinu, kao što je opisano od strane Zoecklein i sur. (1995).

Ukupni suhi ekstrakt u vinu određen je denzimetrijski iz ostatka destilacije, a odgovarajuće vrijednosti dobivene su iz specifične težine ekstrakta pri 20°C , $d(20/20)$, očitane iz tablica po Riechardu u g L^{-1} , prema metodi O.I.V.-a (2012).

Ekstrakt bez šećera u vinu je dobiven računski oduzimanjem sadržaja reducirajućih šećera od vrijednosti ukupnog suhog ekstrakta.

Hlapiva kiselost u vinu, izražena u g L^{-1} octene kiseline, određena je metodom neutralizacije uzorka prethodno destiliranog vodenom parom s 0.1 M NaOH uz indikator fenolftalein, primjenom metode O.I.V.-a (2012).

Pepeo je određivan sagorijevanjem suhe tvari u mufolnoj peći pri 525°C metodom propisanom od O.I.V.-a (2012).

Slobodni i ukupni sumporni dioksid u vinu određen je alkalimetrijski metodom po Paulu propisanom od O.I.V.-a (2012).

3.3. Određivanje udjela ukupnih fenolnih spojeva u moštu i vinu

Ukupni fenolni spojevi u moštu i vinu određeni su spektrofotometrijski po metodi Singleton i Rossi (1965), koja se temelji na kolornoj reakciji fenolnih spojeva sa Folin-Ciocalteu reagensom. Odpipetirao se alikvot uzorka od 1 mL i prenio u odmjernu tikvicu od 100 mL u koju se dodalo 60 mL destilirane vode i 5 mL Folin-Ciocalteu reagensa. Reakcijska smjesa se miješala točno 8 minuta i 30 sekundi te se nakon toga dodalo 20 mL Na_2SO_4 ($\gamma = 200 \text{ g/L}$). Otopina se razrijedila do 100 mL s destiliranom vodom i ostavila stajati u vodenoj kupelji na 20°C 2 sata. Apsorbancija se mjerila na $\lambda = 765 \text{ nm}$ uz slijepu probu. Vršila su se tri uzastopna mjerenja, a konačno se uzimala srednja vrijednost. Rezultati su se izražavali u ekvivalentima galne kiseline, mg GAE L^{-1} .

3.4. Određivanje udjela pojedinačnih fenolnih spojeva u moštu i vinu

Određivanje udjela pojedinačnih fenolnih spojeva (hidroksicimetnih kiselina, hidroksibenzojevih kiselina, flavanola, procijanidina, flavonol glikozida, *trans*-resveratrola) u uzorcima mošta i vina provedeno je metodom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC) uz UV-Photodiode Array detekciju, koju su opisali Zaffrila i suradnici (2003). Standardi fenolnih spojeva otopljeni su u metanolu. Za fenolne kiseline priredila su se razrjeđenja od 5, 10, 20, 40 mgL⁻¹, za flavan-3-ole razrjeđenja od 5, 10, 20, 40 mgL⁻¹, za procijanidine razrjeđenja od 5, 10, 20, 40 mgL⁻¹, za flavonol glikozide razrjeđenja od 5, 10, 20, 40 mgL⁻¹, a za resveratrol razrjeđenja od 5, 10, 20, 40 mgL⁻¹. Kromatografska analiza provedena je metodom vanjskog standarda. Fenolni spojevi su razdvojeni na analitičkoj koloni Nucleosil 5U C-18 100A, 5 μm (250x4.60 mm I.D.). Pokretna faza se sastojala od dva tipa otopina. Otopina A sadržavala je vodu i mravlju kiselinu u omjeru 98:2 (v/v), a otopina B metanol HPLC čistoće.

Korišten je photodiode array detektor ($\lambda=278$ nm). Analiza je provedena pri sobnoj temperaturi, uz vrijeme trajanja od 35 minuta. Injektirani volumen bio je 20 μL, a vrijeme uravnoteženja kolone 5 minuta. Uzorak je pripremljen filtriranjem kroz filtar 25 mm promjera, Celulose Acetate Syringe filtar, 0,45 μm (Filtration & Separation Technology, Albert, SAD).

Identifikacija fenolnih spojeva provedena je usporedbom vremena zadržavanja razdvojenih spojeva (R_t) s vremenima zadržavanja standarda te usporedbom UV-spektara. Kvantitativne vrijednosti pojedinačnih fenolnih spojeva izračunate su iz jednadžbi baždarnih pravaca standardnih spojeva

3.5. Određivanje koncentracije antocijana

Za određivanje antocijana primijenjena je pH-diferencijalna metoda koja se temelji na strukturnoj transformaciji kromofora antocijana u ovisnosti o promjeni pH. Antocijani podliježu reverzibilnoj strukturnoj transformaciji s promjenom pH koja se manifestira promjenom spektra apsorpcije. pH-diferencijalna metoda za određivanje antocijana omogućava brzo i točno mjerenje ukupnih antocijana, bez obzira na prisutnost polimeriziranih, degradiranih pigmenata i drugih tvari koje bi mogle smetati. Antocijani su određivani metodom prema Giusti i Wrolstadu (2001) s malom modifikacijom. Uzeto je 200 μ L uzorka u dvije kivete, u jednu je dodano 1 mL pufera pH 1 (1,86 g KCl u 1 L destilirane vode, pH vrijednost namještena je na 1,0 s koncentriranom HCl), a u drugu 1 mL pufera pH 4,5 (54,43 g $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ u 1 L destilirane vode, pH vrijednost podešena je na 4,5 s koncentriranom HCl). Nakon stajanja od 15 min uzorcima je pomoću spektrofotometra (Jenway 6300, Bibby Scientific, Stone, UK) mjerena apsorbanca pri valnim duljinama od 512 nm i 700 nm (A_{512} , A_{700}). Koncentracija ukupnih antocijana računa se prema formuli:

$$\frac{A \cdot MW \cdot DF \cdot 1000}{\epsilon \cdot L}$$

gdje je: A- apsorbanca te se računa na sljedeći način:

$$A = (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1.0} - (A_{512} - A_{700})_{\text{pH } 4.5}$$

MW: molekulska masa

DF: faktor razrjeđenja

1000: faktor za preračunavanje grama u miligrame

ϵ : Molekularni apsorpcijski koeficijent

L: debljina kivete (1 cm)

4. Rezultati i rasprava

4.1. Osnovna analiza vina od aronije

Tablica 3. Rezultati osnovne kemijske analize vina od aronije s primjenom pektolitičkih enzima i bez enzima

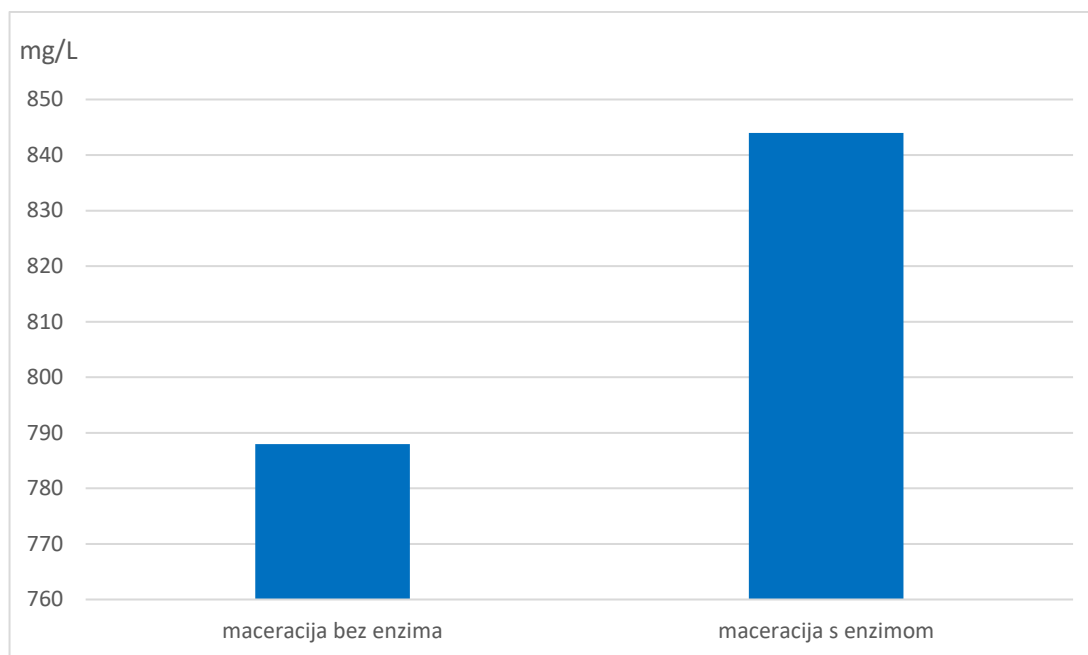
KEMIJSKI SASTAV	ENZIM	BEZ ENZIMA
Specifična težina (20/20°C)	1,0502	1,0502
Alkohol (gL ⁻¹)	55,6	48,9
Alkohol (vol%)	7,0	6,2
Ekstrakt ukupni (gL ⁻¹)	155,9	153,0
Šećer reducirajući (gL ⁻¹)	4,6	5,3
Ekstrakt bez šećera (gL ⁻¹)	152,3	148,7
Ekstrakt bez šećera i nehl. kiselina (gL ⁻¹)	145,8	144,1
Ukupne kiseline (kao jabučna) (gL ⁻¹)	7,2	8,2
Hlapive kiseline (kao octena) (gL ⁻¹)	0,61	3,22
Nehlapive kiseline (gL ⁻¹)	6,5	4,6
pH	4,00	4,05
SO ₂ slobodni (mgL ⁻¹)	0	0
SO ₂ vezani (mgL ⁻¹)	4,0	8,0
SO ₂ ukupni (mgL ⁻¹)	4,0	8,0
Pepeo (gL ⁻¹)	6,16	6,07

Analiza vina provedena je odmah po završetku fermentacije. Koncentracija alkohola se razlikovala među varijantama, dok se ona u prijašnjim istraživanjima (Tomić i sur., 2016) kretala oko 10 vol %. Iz podataka u tablici 3. vidljivo je kako vino ima visoke vrijednosti suhog ekstrakta. Veće vrijednosti zabilježene su kod vina koje je macerirano s enzimom što može biti posljedica jače ekstrakcije spojeva iz kožice. U usporedbi s rezultatima Tomić i sur. (2016) ekstrakt bez šećera je gotovo 4 puta veći u ovom istraživanju što može biti rezultat različite lokacije nasada, načina i količine gnojidbe, zrelosti bobica, starosti nasada, vremena berbe i klimatskih uvjeti u određenoj godini. Pepeo u vinu čine mineralni spojevi koji uglavnom potječu iz čvrstih dijelova ploda, ali i soka. U vinu je izmjerena visoka koncentracija pepela koja je mnogo viša od najniže propisane vrijednosti (1 gL⁻¹), što je rezultat bogatog i vrijednog kemijskog sastava. U usporedbi s analizom Tomić i sur. (2016.) količina pepela je 3 puta viša. Na količinu pepela najviše utječe sastav tla, ali i količina oborina i vrijeme berbe. Povećanjem oborina i kasnijim vremenom berbe raste i količina pepela. Vina iz obje varijante su polusuha, s graničnim vrijednostima reducirajućeg šećera. Hlapive kiseline su u varijanti bez enzima zabilježene u višestruko većim količinama, a razlog tomu bilo je popuštanje gumene zračnice na tanku te pristup kisika. Drastično povećanje hlapivih kiselina prati i nedostatak slobodnog

SO₂ koji bi smanjio oksidaciju i zaštitio vino. Niska ukupna kiselost povezana je s niskim sadržajem organskih kiselina u plodovima. pH vrijednost se nije razlikovala među varijantama, a posljedica je koncentracije organskih kiselina.

4.2 Analiza polifenolnog sastava

4.2.1 Ukupni antocijani

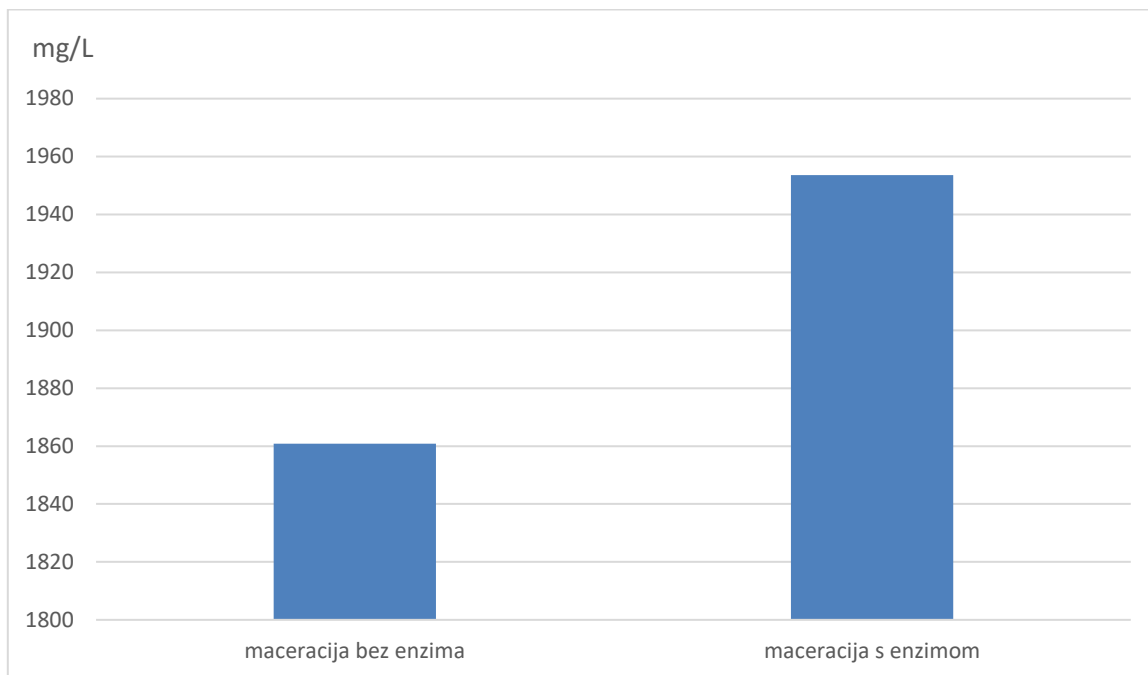


Graf 2: Ukupni antocijani u vinima od aronije

Izvor: Autor rada

Iz rezultata prikazanih u grafu 2. vidljiva je razlika u koncentraciji ukupnih antocijana koja je značajno viša u varijanti maceracije s enzimom čiji je cilj ujedno i oslobađanje veće količine pigmenata. U usporedbi s istraživanjem Tomić i sur. (2016) gdje su zabilježene koncentracije ukupnih antocijana u rasponu od 120 do 191 mgL⁻¹, koncentracije dobivene u ovom istraživanju su čak 8 puta više što može biti posljedica roka berbe (kasnija berba - više antocijana), lokacije nasada, gnojidbe i sl. Količina ukupnih antocijana u istraživanju Lachowicz i sur. (2017) kretala se od 350 do 450 mgL⁻¹ ovisno o varijanti kvasca, što je značajno manje nego u ovome istraživanju. Koncentracija ukupnih antocijana u soku od aronije prema istraživanju Borowska i sur. (2009) kreće se od 508 mgL⁻¹ za kontrolnu varijantu pa do 1087 mgL⁻¹ za varijantu u kojoj su korišteni tretmani grijanja u kombinaciji s pektolitičkim enzimima.

4.2.2. Ukupni flavonoidi

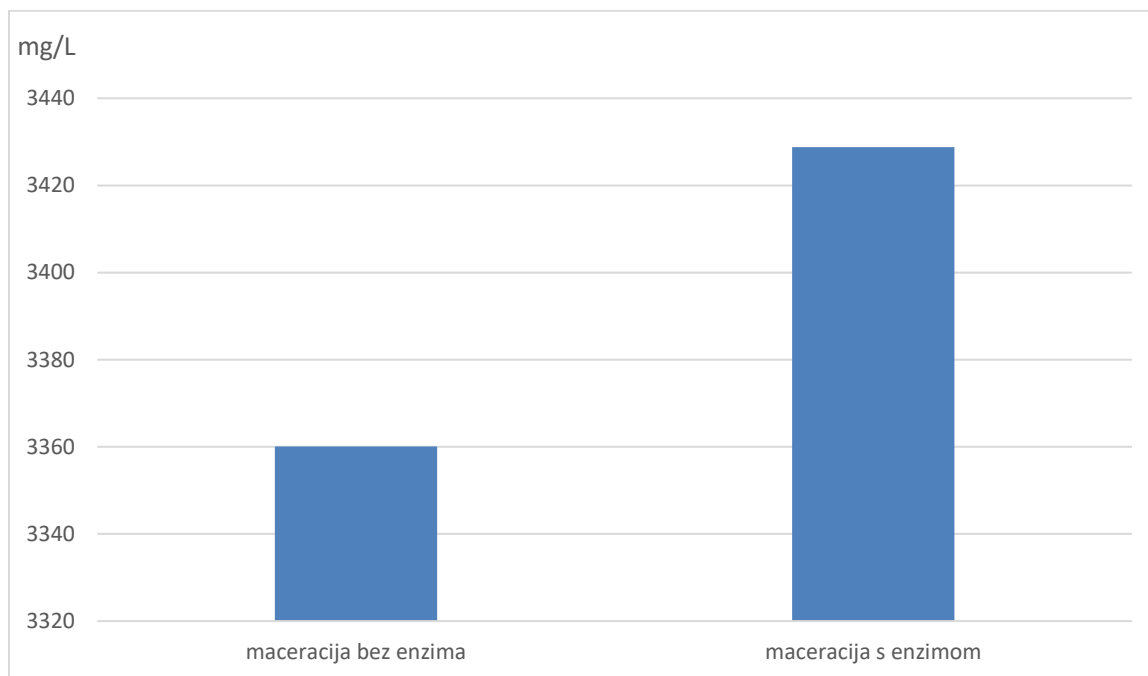


Graf 3. Ukupni flavonoidi u vinima od aronije

Izvor: Autor rada

Koncentracije ukupnih flavanoida prikazane u grafu 3. također se razlikuju, pri čemu je veća koncentracija u varijanti maceracije s enzimom (1950 mgL^{-1}) u odnosu na maceraciju bez enzima (1860 mgL^{-1}).

4.2.3. Ukupni polifenoli



Graf 4. Ukupni fenoli u vinu od aronije
Izvor: Autor rada

Prosječna koncentracija ukupnih fenola (mgL^{-1}) izraženih kao ekvivalent galne kiseline (GAE) u vinu, a određivani spektrofotometrijski prikazani su u grafu 4. Koncentracije ukupnih fenola kretale su se od 3360 mgL^{-1} za varijantu bez enzima do 3430 mgL^{-1} za varijantu s dodatkom enzima. U usporedbi sa sličnim istraživanjima (Lachowicz i sur., 2017) čiji su se rezultati kretali u rasponu od 4093 mgL^{-1} do 4321 mgL^{-1} ovo je istraživanje dalo ipak nešto niže rezultate. Koncentracija ukupnih polifenola u soku prema istraživanju Borowska i sur. (2009) može doseći koncentracije od 7800 mgL^{-1} . Toplinski tretman, maceracija i korištenje pektolitičkih enzima znatno utječu na povećanje ukupnih fenola. Prosječna koncentracija polifenola u vinu od aronije je za 1.6 puta veća nego u vinu od grožđa (Lachowicz i sur., 2017).

4.2.4. Pojedinačni polifenolni spojevi

Tablica 4: Koncentracija pojedinačnih polifenolnih spojeva u vinima od aronije

Spojevi (mgL ⁻¹)	Maceracija bez enzima	Maceracija s enzimima
Cijanidin-arabinozid	2,78	3,52
Cijanidin-galaktozid	27,93	35,77
Cijanidin-glukozid	0,58	0,78
Cijanidin-ksilozid	37,23	51,96
Pelargonidin-arabinozid	0,00	0,00
Pelargonidin-galaktozid	1,46	2,15
Procijanidin B1	11,54	11,71
Procijanidin B3	16,56	17,83
Procijanidin B4	6,84	7,18
Procijanidin B2	7,22	6,84
Epikatehin	21,56	17,88
Klorogenska kiselina	180,44	179,79
Kavna kiselina	185,03	182,02
Neoklorogenska kiselina	21,09	26,34
Kumarna kiselina	4,13	4,89
Rutin	4,35	9,93
Kvercetin-glukozid	15,22	25,85
Kvercetin-galaktozid	5,31	8,71

Najzastupljenije fenolne komponente u ovom istraživanju su: fenolne kiseline (klorogenska, kavna, neoklorogenska i kumarna), antocijani (cijanidin-arabinozid, cijanidin-galaktozid, cijanidin-glukozid i cijanidin-ksilozid), flavan-3-oli (procijanidin B1, B3, B4, B2 i epikatehin) te flavonoli (rutin, kvercetin-glukozid i kvercetin-galaktozid). Zastupljenost pojedinih fenolnih komponenti razlikuje se u odnosu na druga istraživanja. U istraživanju Lachowicz i sur. (2017) najzastupljenije grupe spojeva u soku od aronije prije fermentacije sa *Saccharomyces bayanus* kvascima bile su: flavan-3-oli, fenolne kiseline, antocijani te flavonoli, a kod odležanog vina na 25 °C prvo mjesto zauzimaju fenolne kiseline. U spomenutom istraživanju utvrđena je najviša koncentracija ukupnih fenola u moštu (6533 mgL⁻¹), dok je najniža u vinu skladištenom na 25 °C (3516 mgL⁻¹). Kod fenolnih kiselina najzastupljenije su kavna i klorogenska. Kavne i klorogenske ima više u varijanti bez enzima, dok neoklorogenske i kumarne ima više u varijanti s enzimom. Najzastupljeniji flavan-3-ol je epikatehin kojeg ima

više u varijanti bez enzima nego sa enzimom. Slijede procijanidini B3, B1, B2 i B4 kojih ima više u varijanti s enzimom. Od pojedinačnih antocijana najviše je prisutno cijanidin-ksilozida i cijanidin-galaktozida te cijanid-arabinozid i cijanid-glukozid. Koncentracija antocijana veća je kod varijante s dodatkom pektolitičkih enzima, a najveća razlika je kod cijanidin-ksilozida. Rezultati istraživanja Tomić i sur. (2016) razlikuju se u sastavu pojedinačnih antocijana s najviše cijanidin-3-galaktozida (11.04 mgL^{-1}) i cijanidin-3-arabinozida (9.21 mgL^{-1}) dok su u manjoj količini prisutni cijanidin-3-glukozid ($0,13 \text{ mgL}^{-1}$) i cijanidin-3-ksilozid (0.04 mgL^{-1}).

5. Zaključak

Primjena enzima u proizvodnji vina od aronije utjecala je na kemijski sastav vina, ali i na teksturu masulja. Kod osnovne analize vina utvrđene su više koncentracije alkohola i nehlapive kiseline u varijanti maceracije s pektolitičkim enzimom. U vinima su zabilježene općenito visoke koncentracije suhog ekstrakta i pepela, a nešto više u varijanti s enzimom. Primjena enzima nije utjecala na promjenu pH vrijednosti. Primjena pektolitičkih enzima je značajno utjecala na jače otpuštanje soka odnosno učinkovitiju maceraciju, što je bilo i vizualno uočljivo nakon 24 sata trajanja procesa.

Kod analize pojedinačnih polifenola najveće razlike su u koncentraciji pojedinačnih antocijana i flavonola kojih ima više u varijanti maceracije s enzimom, a razlog tome je intenzivnija ekstrakcija. Najzastupljenija skupina fenolnih spojeva su hidroksicimetne kiseline, klorogenska i kavna kiselina, bez značajnih razlika među varijantama.

Ovim istraživanjem utvrđeno je pozitivno djelovanje pektolitičkih enzima na sastav vina od aronije zbog intenzivnije ekstrakcije soka i polifenolnih spojeva tijekom maceracije u trajanju od 24 sata.

6. Literatura

1. Antolovich M., Prenzler PD., Patsalides E., McDonald S., Robards K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst*. 127:183-198.
2. Balcerek M. (2010). Carbonyl compounds in aronia spirits. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 60 (3):243-249.
3. Borowska EJ., Szajdek A., Czaplicki S. (2009). Effect of heat and enzyme treatment on yield, phenolic content and antioxidant capacity of juices from chokeberry mash. *Italian Journal of Food Science*. 21(2): 1-14.
4. Del Rio D., Borges G., Crozier A (2010). Berry flavonoids and phenolics: bioavailability and evidence of protective effects. *British Journal of Nutrition*. 104(53): S67-S90.
5. Dubrović I. (2012). Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na antioksidacijsku aktivnost te mikrobiološku kakvoću soka od jagode. Doktorski rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb.
6. Drozd W., Boruckowska H., Boruckowski T., Zdybel E. (2019). Use of blackcurrant and chokeberry press residue in snack products. 1: 13-19.
7. Giusti M. M., Wrolstad R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*.
8. Harborne JB., Williams C. (2000). Advances in flavonoid research since. *Phytochemistry*. 55: 481-504.
9. Henry CJK., Heppell NJ (1998). *Nutritional aspects of food processing and ingredients*, Aspen Publication, Gaithersburg.
10. Jakobek L. (2007). Karakterizacija polifenola u voću i njihov utjecaj na antioksidacijsku aktivnost voća. Doktorski rad. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek.
11. Jeppsson N., Johansson R. (2000). Changes in fruit quality in black chokenberry (*Aronia melanocarpa*) during maturation. *The Journal of Horticultural science and Biotechnology*. 73 (3), 349-345.
12. Kaur C., Kapoor HC (2001). Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology*. 36: 703-725.
13. Kondakova V., Tsvetkov I., Batchvarova R., Badjakov I., Dzhambazova T., Slavov S. (2009). Phenol compounds – qualitative index in small fruits. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 23(4):1444-1448.
14. Kulling S. E., Rawel H. M. (2008). Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) – A review on the characteristic components and potential health effects. *Planta medica*. 74 (13), 1625-1634.
15. Lachowicz S., Wojdylo A., Chmielewska J., Osmianski J. (2017). The influence of yeast type and storage temperature on content of phenolic compounds, antioxidant activity, colour and sensory attributes of chokeberry wine
16. Lasić Jašarović T., Grubišić Popović G., Grgić V., Šimunović V. (2013). Uzgoj Aronije, Poljoprivredna savjetodavna služba, <http://www.savjetodavna.hr/adminmax/publikacije/aronija_2312_finish_opt.pdf> , pristupljeno 18. ožujka 2019.

17. Milić M. (2012). Priručnik za uzgoj aronije, <<https://www.agroklub.com/dokumenti/prirucnik-za-uzgoj-aronije-rasadnik-milic/1422/>> , pristupljeno 18. ožujka 2019.
18. Net green group: < <https://www.kupisadnice.ba/>>, Pristupljeno: 17. travnja 2019.
19. Ochmian I., Grajkowski J., Smolik M. (2012). Comparison of Some Morphological Features, Quality and Chemical Content of Four Cultivars of Chokeberry Fruits (*Aronia melanocarpa*), Not Bot Horti Agrobo. 40(1): 253-260.
20. Oszmianski J., Wojdylo A. (2005). *Aronia melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity. European Food Research and Technology. 221: 809-813.
21. Popović K. (2019). Utjecaj koncentriranja membranskim procesima na tvari boje i arome soka od aronije. 3: 59-59.
22. Reis Giada ML. (2013). Food Phenolic Compounds: Main classes, sources and their antioxidant power. In Oxidative stress and chronic degenerative diseases - A role for antioxidants. 87-112.
23. Rice-Evans C., Miller NJ., Paganga G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in plant science. 2: 152-159.
24. Savjetodavna služba: < https://www.savjetodavna.hr/wp-content/uploads/publikacije/aronija_2312_finish_opt.pdf>, Pristupljeno: 18. ožujka 2018.
25. Singleton V.L., Rossi J.A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. Am. J. Enol. Vitic. 16: 144-158.
26. Skupien K., Oszmianski J. (2007). The effect of mineral fertilization on nutritive value and biological activity of chokeberry fruit. Agricultural and Food Science. 16: 46-55.
27. Tolić M. T., Jurčević I. L., Krbavčić I. P., Marković K., Vahčić N. (2015). Phenolic content, antioxidant capacity and quality of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) products. Food technology and biotechnology, 53(2): 171.
28. Tomić T., Tomaz I., Jeromel A. (2016). Kemijski sastav voćnih vina, Glasnik zaštite bilja, 39(3): 38-43.
29. Zafrilla P., Morillas J., Mulero J., Cayuela J. M., Martinez-Cacha A., Pardo F., Lopez Nicolas J. M. (2003). Changes during storage in conventional and ecological wine: phenolic content and antioxidant activity. J. Agric. Food Chem. 51: 4694-4700.
30. Zheng W., Wang S. Y. (2003). Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. J Agric Food Chem. 51, 502-509.
31. Zoecklein B., Fugelsang K.C., Gump B.H., Nury F.S. (1995). Wine analysis and production. New York: Chapman & Hall.