Reverzna osmoza i nanofiltracija: utjecaj koncentriranja na bioaktivne komponente i arome crnog vina Cabernet Sauvignon

Ivić, Ivana

Doctoral thesis / Disertacija

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:729883

Rights / Prava: Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Ivana Ivić

REVERZNA OSMOZA I NANOFILTRACIJA: UTJECAJ KONCENTRIRANJA NA BIOAKTIVNE KOMPONENTE I AROME CRNOG VINA CABERNET SAUVIGNON

DOKTORSKA DISERTACIJA

Osijek, svibanj, 2022.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DOKTORSKA DISERTACIJA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Poslijediplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija i nutricionizam
Smjer: Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambene tehnologije
Katedra za prehrambeno inženjerstvo
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska
UDK:
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Znanstvena grana Inženjerstvo
Tema rada je prihvaćena na IX. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 24. lipnja 2021.
Voditelj: izv. prof. dr. sc. *Anita Pichler*

REVERZNA OSMOZA I NANOFILTRACIJA: UTJECAJ KONCENTRIRANJA NA BIOAKTIVNE KOMPONENTE I AROME CRNOG VINA CABERNET SAUVIGNON

Ivana Ivić, 81/D

Sažetak: Cilj ovog rada je bio ispitati mogućnost primjene procesa reverzne osmoze i nanofiltracije za koncentriranje crnog vina Cabernet Sauvignon, proizvedenog na konvencionalni i ekološki način. Istraživanje je obuhvatilo primjenu različitih tlakova (25, 35, 45 i 55 bara) i dva temperaturna režima (s i bez hlađenja). Rezultati su pokazali da je viši tlak rezultirao većim protok permeata i višim temperaturama koncentrata. U procesima bez hlađenja ostvarene su više temperature koncentrata te veći protok permeata, u odnosu na procese s hlađenjem pri istim radnim tlakovima. Veći protok permeata rezultirao je kraćim procesom koncentriranja, a pri istim procesnim parametrima, reverzna osmoza je trajala duže od nanofiltracije. Zadržavanje pojedinih skupina spojeva ovisilo je o primijenjenom procesu koncentriranja, procesnim parametrima te tipu vina koje se koncentriralo. Nakon koncentriranja oba vina reverznom osmozom i nanofiltracijom, došlo je do promjene njihovog fenolnog i aromatskog profila. Viši radni tlak te primjena hlađenja rezultirali su većim zadržavanjem bioaktivnih komponenti i ukupne arome vina. Gubitak dijela bioaktivnih komponenti rezultirao je smanjenjem antioksidacijske aktivnosti koncentrata, u usporedbi s početnim vinom. Kod oba procesa zabilježena je visoka permeabilnost za etanol, octenu kiselinu te nepoželjne spojeve arome (4-etilfenol i 4-etilgvajakol). Prema CIELab sustavu, nije došlo do značajne promjene boje početnog vina.

Ključne riječi: reverzna osmoza, nanofiltracija, konvencionalni i ekološki Cabernet Sauvignon, bioaktivne komponente, aroma

Rad sadrži: 164 stranica
55 slika
59 tablica
0 priloga
199 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1.	dr. sc. *Mirela Kopjar,* red. prof.	predsjednik
2.	dr. sc. *Borislav Miličević,* red. prof.	član
3.	dr. sc. *Jasmina Obhođaš,* doc.	član
4.	dr. sc. *Tihomir Moslavac*, red. prof.	zamjena člana
5.	dr. sc. *Nela Nedić Tiban*, red. prof.	zamjena člana

Datum obrane: 13. svibnja 2022.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Rektoratu sveučilišta u Osijeku, Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu te samo u elektroničkom obliku u Gradskoj i sveučilišnoj knjižnici u Osijeku

BASIC DOCUMENTATION CARD

DOCTORAL THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Postgraduate University Study-Food Technology and nutrition
Department of Food Technologies
Subdepartment of Food engineering
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia
UDC:

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology

Thesis subject was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology at its session no. IX. held on June 24, 2021.
Mentor: *Anita Pichler*, PhD, associate prof.

REVERSE OSMOSIS AND NANOFILTRATION: THE INFLUENCE OF CONCENTRATION ON BIOACTIVE COMPOUNDS AND AROMA OF CABERNET SAUVIGNON RED WINE

Ivana Ivić, 81/D

Summary: The aim of this study was to examine the possibility of applying reverse osmosis and nanofiltration processes for concentrating Cabernet Sauvignon red wine, produced in a conventional and ecological way. The research included the application of different pressures (25, 35, 45 and 55 bar) and two temperature regimes (with and without cooling). The results showed that higher pressure resulted in higher permeate flux and higher concentrate temperatures. In processes without cooling, higher concentrate temperatures and higher permeate flux were achieved, compared to processes with cooling at same operating pressures. Higher permeate flux resulted in a shorter concentration process, and at the same processing parameters, reverse osmosis lasted longer than nanofiltration. The retention of individual groups of compounds depended on the applied concentration process, processing parameters and the type of wine being concentrated. After concentration of both wines by reverse osmosis and nanofiltration, a change in their aromatic and phenolic profile occurred. Higher operating pressure and concentrate cooling resulted in greater retention of the overall aroma and bioactive compounds of the wines. The partial loss of the bioactive compounds resulted in a decrease in the antioxidant activity of the concentrate, compared to the initial wine. High permeability to ethanol, acetic acid and undesirable flavour compounds (4-ethylphenol and 4-ethylguaiacol) was observed in both processes. According to the CIELab system, there was no significant change in the colour of the starting wine.

Keywords: reverse osmosis, nanofiltration, conventional and ecological Cabernet Sauvignon, bioactive compounds, aroma

Thesis contains: 164 pages
55 figures
59 tables
0 supplements
199 references

Original in: Croatian

Defense committee:

1. *Mirela Kopjar*, PhD, prof. — chair person
2. *Borislav Miličević*, PhD, prof. — member
3. *Jasmina Obhođaš*, PhD, assistant prof. — member
4. *Tihomir Moslavac*, PhD, prof. — stand-in
5. *Nela Nedić Tiban*, PhD, prof. — stand-in

Defense date: May 13, 2022.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, University of Osijek; President's office, University Library in Zagreb and only in electronic version in University Library in Osijek

Zahvaljujem svojoj mentorici, izv. prof. dr. sc. Aniti Pichler, na pomoći oko odabira teme, na svim savjetima, uputama i strpljenju tijekom izrade ovog rada. Ovo je naš zajednički uspjeh!

Hvala svim mojim prijateljima, kolegicama i kolegama na pomoći koju su mi pružili tijekom izrade rada.

Veliko hvala mojoj obitelj, roditeljima i braći, na podršci i razumijevanju koje su pokazali kada god je to bilo potrebno.

I na kraju, veliko hvala Andrijani i Daxu na podršci, pomoći i ljubavi koju ste mi pružili u svakom trenutku…s vama nisam nikada sama… bez vas ne bih uspjela!

Sadržaj

1. UVOD 1

2. TEORIJSKI DIO 5

2.1. VINOVA LOZA 6

2.1.1. Morfologija vinove loze 6

2.2. PROIZVODNJA CRNIH VINA 8

2.2.1. Konvencionalni uzgoj vinove loze i proizvodnja vina 11

2.2.2. Ekološki uzgoj vinove loze i proizvodnja vina 12

2.3. CABERNET SAUVIGNON 14

2.4. KEMIJSKI SASTAV VINA 15

2.4.1. Alkoholi 15

2.4.2. Kiseline 16

2.4.3. Ugljikohidrati 17

2.4.4. Esteri 18

2.4.5. Aldehidi i ketoni 18

2.4.6. Terpeni 19

2.4.7. Elementi u tragovima 20

2.4.8. Polifenolni spojevi 21

2.4.9. Antioksidacijska aktivnost 27

2.4.10. Aroma vina 28

2.5. MEMBRANSKI PROCESI 31

2.5.1. Podjela membranskih procesa 32

2.5.2. Nanofiltracija 34

2.5.3. Reverzna osmoza 35

2.5.4. Podjela membrana i tipovi materijala za membrane 35

2.5.5. Tipovi modula 37

2.5.6. Primjena RO i NF u vinarstvu 42

2.6. KROMATOGRAFSKE METODE 44

2.6.1. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC) 44

2.6.2. Plinska kromatografija (GC) 45

3. EKSPERIMENTALNI DIO 49

3.1. ZADATAK 50

3.2. MATERIJALI 51

3.2.1. Konvencionalno i ekološko crno vino 51

3.2.2. Kemikalije 52

3.3. METODE 52

3.3.1. Postupak koncentriranja membranskim procesima 52

3.3.2. Određivanje osnovnog kemijskog sastava 56

3.3.3. Određivanje elemenata u tragovima 57

3.3.4. Određivanje aromatskog profila 58

3.3.5. Određivanje ukupnih polifenola 60

3.3.6. Određivanje ukupnih flavonoida 61

3.3.7. Određivanje monomernih antocijana 61

3.3.8. Određivanje polimerne boje 61

3.3.9. Određivanje pojedinačnih fenolnih spojeva (HPLC) ... 62
3.3.10. Određivanje antioksidacijske aktivnosti ... 63
3.3.11. Određivanje boje u CIELab sustavu ... 65
3.3.12. Statistička obrada podataka ... 66

4. REZULTATI ... 67

4.1. REVERZNA OSMOZA ... 68

4.1.1. Procesni parametri tijekom koncentriranja crnog vina ... 68
4.1.2. Utjecaj procesnih parametara na kemijski sastav, sadržaj kiselina i elemenata u tragovima ... 73
4.1.3. Utjecaj procesnih parametara na aromatski profil ... 76
4.1.4. Utjecaj procesnih parametara na sastav fenolnih spojeva i antioksidacijsku aktivnost ... 82
4.1.5. Utjecaj procesnih parametara na boju ... 86

4.2. NANOFILTRACIJA ... 87

4.2.1. Procesni parametri tijekom koncentriranja crnog vina ... 87
4.2.2. Utjecaj procesnih parametara na kemijski sastav, sadržaj kiselina i elemenata u tragovima ... 90
4.2.3. Utjecaj procesnih parametara na aromatski profil ... 93
4.2.4. Utjecaj procesnih parametara na sastav fenolnih spojeva i antioksidacijsku aktivnost ... 98
4.2.5. Utjecaj procesnih parametara na boju ... 102

4.3. USPOREDBA PROCESA REVERZNE OSMOZE I NANOFILTRACIJE ... 103

4.3.1. Usporedba procesnih parametara ... 103
4.3.2. Usporedba kemijskog sastava, sadržaja kiselina i elemenata u tragovima u koncentratima vina ... 104
4.3.3. Usporedba aromatskog profila koncentrata vina ... 108
4.3.4. Usporedba fenolnog profila koncentrata vina ... 109

5. RASPRAVA ... 110

5.1. REVERZNA OSMOZA ... 111

5.1.1. Procesni parametri tijekom koncentriranja crnog vina ... 111
5.1.2. Utjecaj procesnih parametara na kemijski sastav, sadržaj kiselina i elemenata u tragovima ... 113
5.1.3. Utjecaj procesnih parametara na aromatski profil ... 117
5.1.4. Utjecaj procesnih parametara na sastav fenolnih spojeva i antioksidacijsku aktivnost 123
5.1.5. Utjecaj procesnih parametara na boju ... 127

5.2. NANOFILTRACIJA ... 128

5.2.1. Procesni parametri tijekom koncentriranja crnog vina ... 128
5.2.2. Utjecaj procesnih parametara na kemijski sastav, sadržaj kiselina i elemenata u tragovima ... 130
5.2.3. Utjecaj procesnih parametara na aromatski profil ... 133
5.2.4. Utjecaj procesnih parametara na sastav fenolnih spojeva i antioksidacijsku aktivnost 136
5.2.5. Utjecaj procesnih parametara na boju ... 140

5.3. USPOREDBA MEMBRANSKIH PROCESA ... 141

6. ZAKLJUČCI ... 145

7. LITERATURA ... 150

Popis oznaka, kratica i simbola

RO	reverzna osmoza
NF	nanofiltracija
MWCO	najmanja molekulska masa koja se zadržava (eng. *molecular weight cut-off*)
Da	dalton (izjednačuje se s g/mol)
J	protok permeata u datom vremenu (L/m^{2}h)
J_A	prosječni protok permeata (L/m^{2}h)
J_{W0}	protok čiste vode prije koncentriranja (L/m^{2}h)
J_{W1}	protok čiste vode nakon koncentriranja (L/m^{2}h)
V_0	početni volumen vina (L)
V_r	volumen retentata (L)
V_p	volumen permeata (L)
A	površina membrane (m^2)
t	vrijeme trajanja procesa (h)
Y	volumni udio permeata (%)
F	volumni odnos retentata
R	retencija/zadržavanje (%)
FI	indeks začepljenja membrane (%)
EDXRF	energetsko-disperzivna rendgenska fluorescencija (eng. *energy dispersive X-ray fluorescence*)
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
ABTS	2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin sulfonska kiselina)
FRAP	eng. *ferric-reducing/antioxidant power assay*
CUPRAC	eng. *cupric-reducing antioxidant capacity*
GC-MS	plinska kromatografija s masenom spektrometrijom (eng. *gas chromatography – mass spectrometry*)
SPME	mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (eng. *solid-phase microextraction*)
HPLC	tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (eng. *high-performance liquid chromatography*)

DAD	detektor s nizom dioda (eng. *diode array detector*)
PTFE	politetrafluoretilen
UV/Vis	ultraljubičasta-vidljiva spektroskopija (eng. *ultra violet-visible spectroscopy*)
NN	narodne novine (službeno glasilo RH)
PA	poliamid
L*	CIELab parametar za svjetlinu
a*	CIELab parametar za crvenu/zelenu boju
b*	CIELab parametar za žutu/plavu boju
C*	CIELab parametar za zasićenje boje
°h	CIELab parametar za ton boje
ΔE*	CIELab parametar za razliku boje
ANOVA	analiza varijanci (eng. *analysis of variance*)
LSD	Fisher-ov test najmanje značajne razlike (eng. *least significant difference*)
PCA	analiza glavnih komponenti (eng. *principal component analysis*)
PC1	prva glavna komponenta
PC2	druga glavna komponenta
KV	konvencionalno vino
EV	ekološko vino
KR	koncentrat konvencionalnog vina dobiven reverznom osmozom
ER	koncentrat ekološkog vina dobiven reverznom osmozom
KN	koncentrat konvencionalnog vina dobiven nanofiltracijom
EN	koncentrat ekološkog vina dobiven nanofiltracijom
DKv	derivat kvercetina
DM3-g	derivat malvidin 3-glukozida
TE	ekvivalent troloxa

1. UVOD

Vino je kompleksno alkoholno piće koje se konzumira još od davnina u cijelom svijetu. Prema Zakonu o vinu (NN 32/19), vino predstavlja poljoprivredni prehrambeni proizvod dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta od svježeg i za preradu u vino pogodnog grožđa. Glavni sastojci vina su voda, etanol, šećeri, kiseline, viši alkoholi, hlapivi aromatski spojevi, bioaktivne komponente te mineralne tvari (Ivić i sur., 2021a). Etanol je najzastupljeniji alkohol koji nastaje tijekom alkoholne fermentacije i utječe na organoleptička svojstva vina, pridonosi njegovoj aromi, slatkastom i voćnom okusu (Muñoz-González i sur., 2019).

Za kvalitetu vina odgovorne su brojne hlapive i nehlapive komponente koje se nalaze u njemu, te njihove međusobne interakcije. Boja i aroma su glavne senzorske karakteristike koje utječu na percepciju vina od strane potrošača, zbog čega je vrlo bitno u konačnom proizvodu očuvati prirodno prisutne pigmente i aromatske spojeve. Međutim, tijekom rasta, dozrijevanja i prerade grožđa, a zatim i tijekom procesa proizvodnje vina, dolazi do raznih kemijskih, biokemijskih, mikrobioloških i fizikalnih promjena koje utječu na stabilnost boje i arome vina (Varoquaux i Wiley, 2017). Hlapivi aromatski spojevi odgovorni su za miris vina, a tijekom procesa prerade grožđa i proizvodnje vina može doći do njihovog djelomičnog gubitka ili do formiranja sekundarnih aromatskih spojeva uslijed različitih kemijskih reakcija u kojima sudjeluju, čime dolazi do stvaranja znatno drugačijeg aromatskog profila (Gonçalves i sur., 2018). Fenolni spojevi predstavljaju glavne bioaktivne komponente vina koje posjeduju antioksidativna svojstva, odnosno sprječavaju štetno djelovanje slobodnih radikala u organizmu, čime povoljno utječu na zdravlje ljudi i preveniraju različite bolesti (Giovinazzo i sur., 2019). Toj skupini pripadaju spojevi kao što su antocijani, flavonoidi, fenolne kiseline i drugi. Potječu najviše iz kožice grožđa, zatim sjemenke i peteljke, te su odgovorni za boju, trpkost i doprinose okusu vina. Količina fenolnih spojeva u vinu ovisi o sorti vina, ali i uvjetima tijekom procesa proizvodnje vina. Crna vina odlikuju se znatno većom količinom fenolnih spojeva od bijelih vina zbog dužeg kontakta čvrstih dijelova bobice s moštom tijekom procesa proizvodnje crnih vina (Garrido i Borges, 2013; Giovinazzo i sur., 2019).

Jedna od najpoznatijih vinskih sorti crnog grožđa je cabernet sauvignon, nastala križanjem cabernet franca i sauvignona bijelog. Uspješno se uzgaja na dubokim, ali i plitkim i suhim tlima. Ova sorta je umjerena otporna na gljivične bolesti, uzgaja se u cijelom svijetu te daje mošt bogat šećerom (do 23%) i kiselinama (oko 7 g/L). Crno vino Cabernet Sauvignon je bogato alkoholima, kiselinama, aromama i bioaktivnim komponentama. Najčešće se odlikuje voćnom i cvjetnom aromom s notama drveta i dima (Stein i sur., 2018; Tao i sur., 2009).

S obzirom na visoke zahtjeve konzumenata vina u pogledu zdravstvenog aspekta, posljednjih nekoliko godina se razvio trend ekološke proizvodnje vina. Glavna razlika između ekološke i konvencionalne proizvodnje vina je u tome što se kod ekološke proizvodnje izbjegava uporaba

umjetnih gnojiva, pesticida, insekticida i drugih dodataka kako bi se smanjio njihov negativan utjecaj na okoliš, tlo te zdravlje ljudi (Laureati and Pagliarini, 2016). Uporaba navedenih spojeva može iscrpiti tlo, narušiti njegov sastav minerala i biološku aktivnost (Azabagaoglu i sur., 2007). Uz to, izbjegava se uporaba strojeva za branje grožđa kako bi se što manje oštetilo tlo i vinova loza (Zafrilla i sur., 2003). Prijelaz s konvencionalnog na ekološki način uzgoja vinove loze i proizvodnje vina zahtjeva dugogodišnje postupke pripreme koji obuhvaćaju posebne tretmane tla, uporabu prirodnih gnojiva i pročišćene vode kroz 6 do 8 godina. Istraživanja su pokazala da vina proizvedena od konvencionalno i ekološki uzgojenog grožđa iste sorte nemaju isti kemijski sastav, aromatski i fenoli profil (Garaguso i Nardini, 2015; Vrček i sur., 2011; Zafrilla i sur., 2003).

U slučaju loših klimatskih uvjeta, neadekvatnih vinogradarskih ili vinifikacijskih tehnika, kemijski sastav vina može odstupati od željenog. Previsok udio alkohola može negativno utjecati na organoleptička svojstva vina (Wilkinson i Jiranck, 2013). Smanjeni udio polifenola i antioksidanasa te pojava nepoželjnih aromatskih spojeva smanjuju kvalitetu vina ili mogu dovesti do njegovog kvarenja. To su samo neki od razloga zbog čega je vino u nekim slučajevima potrebno korigirati kako bi se uklonile određene mane ili postigla željena svojstva. U tu svrhu se vrlo često koriste membranski procesi, posebno nanofiltracija i reverzna osmoza, koje se ističu kao jednostavne, efikasne i ekonomski isplative metode koncentriranja (Arboleda Mejia i sur., 2020). Nadalje, koncentriranjem vina moguće je dobiti vinske koncentrate koji se mogu koristiti u različite svrhe i za proizvodnju novih proizvoda.

Membranski procesi, nanofiltracija (Salehi, 2014) i reverzna osmoza (Ganorkar i sur., 2012; Rayess i Mietton-Peuchot, 2016), mogu se upotrijebiti za koncentriranje voćnih sokova, mošta i vina. Najznačajnija prednost ovih postupaka je minimalna degradacija osjetljivih komponenata kao što su bioaktivne komponente i tvari arome, te smanjenje količine energije potrebne za uklanjanje vode (Arboleda Mejia i sur., 2020; Saha i sur., 2013). S obzirom na potrošnju energije, reverzna osmoza je najučinkovitiji postupak među procesima uklanjanja vode iz namirnica. Budući da učinak reverzne osmoze opada s povišenjem koncentracije otopljenih tvari, ona se može koristiti kao predkoncentracijski korak u procesiranju mošta i vina čime se postiže značajna ušteda energije i bolje očuvanje osjetljivih nutrijenata (Chui i Muralidhara, 2010). Mali promjer pora omogućuje zadržavanje većih molekula i bioaktivnih komponenti. Nanofiltracija i reverzna osmoza se mogu koristiti za koncentriranje vina u svrhu povećanja udjela poželjnih aromatskih i fenolnih spojeva, korekcije udjela šećera i kiselina te za uklanjanje etanola i nepoželjnih spojeva male molekulske mase (Ivić i sur., 2021a; Ivić i sur., 2021b). Zbog mogućnosti izdvajanja etanola, ovi procesi se vrlo često koriste za djelomičnu ili potpunu dealkoholizaciju vina. Oba procesa se mogu provoditi na sobnoj temperaturi te je termička degradaciju sastojaka vina svedena na minimum, što predstavlja

bitnu prednost ovih procesa u odnosu na termičke postupke dealkoholizacije i koncentriranja, npr. uparavanje (Rayess i Mietton-Peuchot, 2016).

Cilj ovog istraživanja je bio ispitati utjecaj koncentriranja crnog vina Cabernet Sauvignon, proizvedenog na konvencionalni i ekološki način, reverznom osmozom i nanofiltracijom. Oba vina podvrgnuta su procesima koncentriranja na membranskom uređaju LabUnit M20 (De Danske Sukkerfabrikker, Nakskov, Danska) pri različitim procesnim parametrima (tlaku i temperaturi). U početnim vinima i dobivenim koncentratima određen je kemijski sastav, fenolni spojevi, aromatski profil i elementi u tragovima. Pratio se utjecaj procesnih parametara, tipa membrana i tipa vina na zadržavanje pojedinih spojeva.

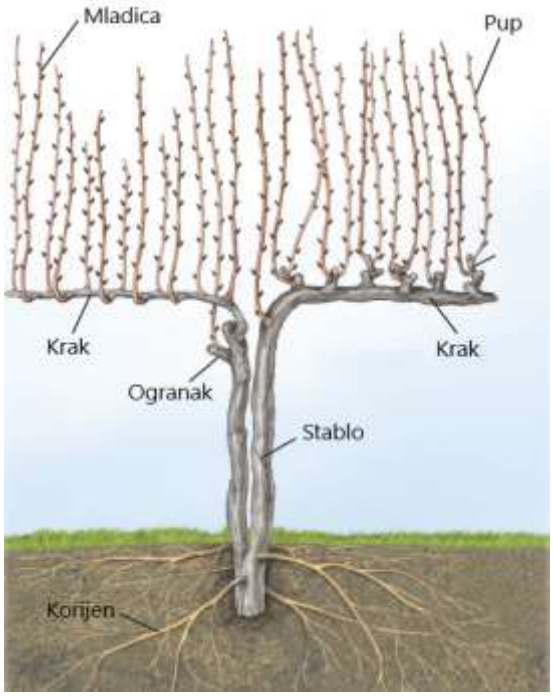
2. TEORIJSKI DIO

2.1. VINOVA LOZA

Vinova loza je drvenasta, listopadna, grmolika penjačica s viticama iz porodice *Vitaceae* ili *Ampelideae*, čiji je uzgoj i prerada plodova poznata već tisućama godina (Keller, 2015). Prema Zakonu o vinu (NN 32/19), za proizvodnju vina se koriste sorte vinove loze koje pripadaju vrsti *Vitis vinifera* ili križancima *Vitis vinifere* s drugim vrstama roda *Vitis*. Poznato je 70 vrsta roda *Vitis* koje su rasprostranjene po svim kontinentima, izuzev Antarktike. Prema francuskom botaničaru Planchonu (1887. godine), rod *Vitis* ima dva podroda, *Muscadina* i *Euvitis*. Podrod *Euvitis* se prema zemljopisnoj pripadnosti dijeli na: sjevernoameričke (tridesetak vrsta), istočnoazijske (četrdesetak vrsta) i euroazijske vrste (jedna vrsta, *Vitis vinifera*). Sjevernoameričke vrste vinove loze su otporne na niske temperature i filokseru, zbog čega se koriste kao podloga za ostale vrste. Istočnoazijske vrste uglavnom služe u dekorativne svrhe. Euroazijskoj vrsti pripada samo vrsta *Vitis vinifera* L., s dvije podvrste (*Vitis vinifera* L. subsp. *sylvestris* i *Vitis vinifera* L. subsp. *vinifera* (Maletić i sur., 2008).

2.1.1. Morfologija vinove loze

Svaka pojedina biljka vinove loze naziva se čokot ili trs. Sastoji se od nadzemnog dijela (stablo s krakovima i ograncima, rozgva, pupovi, zaperci, vitice, listovi, cvjetovi, cvatovi, grozdovi, bobice) i podzemnog dijela, odnosno korijena (**Slika 1**). Glavna uloga vegetativnih organa (stablo, mladice i listovi) je opskrba biljke vodom i hranjivima te njihovo skladištenje, ali i proizvodnja asimilata. Generativni organi (cvijet, cvat, grozd, vitica, bobica i sjemenka) služe za razmnožavanje (Blesić i sur., 2013; Maletić i sur., 2008).



Slika 1 Glavni dijelovi vinove loze (Keller, 2015)

Korijen vinove loze daje stabilnost stablu učvršćujući ga u tlo iz kojeg dobavlja vodu i hranjive tvari. Također, korijen vinove loze služi i kao skladište ugljikohidrata i drugih nutrijenata. Dijeli se na površinsko korijenje (5 do 10 cm ispod razine tla), srednje korijenje (15 do 20 cm ispod razine tla) te glavno korijenje koje prodire duboko u tlo (čak i do 30 m) (Keller, 2015; Maletić i sur., 2008).

Stablo vinove loze predstavlja nadzemni dio trsa koji započinje odmah iznad tla, a završava na mjestu grananja. Prekriveno je korom, a na sebi nosi krakove i ogranke. Stablo vinove loze se može razviti iz zimskih pupova vegetativnim putem. Debljina ovisi o sorti vinove loze i uvjetima uzgoja, a obično se kreće od 3 do 10 cm. Visina stabla može biti od 40 do 150 cm (Mirošević, 1996).

Mladice (rozgva) se razvijaju iz pupova, a ovisno o tome na kojem dijelu trsa se razviju, razlikuju se rodne i nerodne. Rodne mladice su one koje nose cvatove, odnosno grozdove. Tijekom vegetacije, mladice mijenjaju boju od zelene (na početku) do raznih nijansi narančaste, crvene, smeđe. Kada u jesen otpadne lišće, mladice postaju jednogodišnje drvo (Keller, 2015; Mirošević, 1996).

Pupovi vinove loze se oblikuju svake godine, a postoje tri vrste: ljetni (zaperci), zimski (pravi) i spavajući (pričuvni). Ljetni i zimski pupovi se razvijaju iste godine, s tim da ljetni pupovi, odnosno zaperci nisu rodni (izuzev uslijed prisustva obilja hranjiva) te se najčešće odstranjuju. Rodnost zimskih pupova se povećava od osnove do sredine trsa, a pri samom vrhu se smanjuje. Spavajući pupovi se ne vide jer su prekriveni korom, a miruju dok se ne postignu povoljni uvjeti, kao što je veći dovod hranjiva. Mogu se aktivirati i pri većem zimskom oštećenju, mrazevima ili napadom bolesti i štetnika (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008).

Listovi vinove loze se sastoje od peteljke i plojke s licem i naličjem. S obzirom na veličinu, odnosno dužinu plojke, dijele se na male (10 do 12 cm), srednje (17 do 20 cm) i velike (> 20 cm) listove. Naličje lista na svojoj površini sadrži dlačice raznih veličina i gustoće. Na osnovu oblika lista može se odrediti sorta vinove loze, s obzirom na to da svaka sorta ima karakterističan oblik lista (Maletić i sur., 2008).

Cvat vinove loze predstavlja skup cvjetova u obliku grozdova. Oblikuju se u zimskom ili ljetnom pupu. Obično se na jednoj mladici javljaju dva cvata, a može i više (do pet), ovisno o sorti vinove loze. Broj cvjetova u cvatu može biti od 100 do 1500 (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008). Cvjetovi vinove loze su sitni, pravilni i najčešće dvospolni (moguća je samooplodnja). Dijelovi cvijeta su: čaška, vjenčić, prašnici, žlijezde nektarije i tučak (Maletić i sur., 2008).

Vitice vinove loze služe biljci za penjanje i pričvršćivanje za potporanj oko kojeg se spiralno uvijaju. Na njima se ponekad može naći i nekoliko cvjetova, pa se smatra da su vitice zapravo zakržljali grozdovi (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008).

Grozd nastaje iz cvata i oboje su istog oblika. Sastoji se od bobica i peteljki koje drže bobice. Grozdovi se dijele prema obliku (valjkasti, stožasti, krilati, nepravilni), veličini i masi (mali, srednje veliki, veliki, vrlo veliki), zbijenosti (vrlo zbijen, zbijen, rastresit i vrlo rastresit) (Mirošević, 1996). Udio peteljke u grozdu može biti od 2 do 8%, a o njemu ovisi i randman mošta i vina (manje peteljke, veći randman i obrnuto). Peteljka je bogata polifenolima (naročito taninima) koji mogu prijeći u mošt ukoliko se peteljka ne odvaja tijekom prerade grožđa (npr. kod crnih vina) (Moreno i Peinado, 2012).

Bobica se razvija nakon oplodnje, a sastoji se od tri glavna dijela: kožice, mesa i sjemenke u sredini. Svaka sorta vinove loze ima karakterističan oblik, boju i veličinu bobice. Udio pojedinih dijelova u bobici ovisi o sorti, što se može vidjeti na primjerima iz **Tablice 1**.

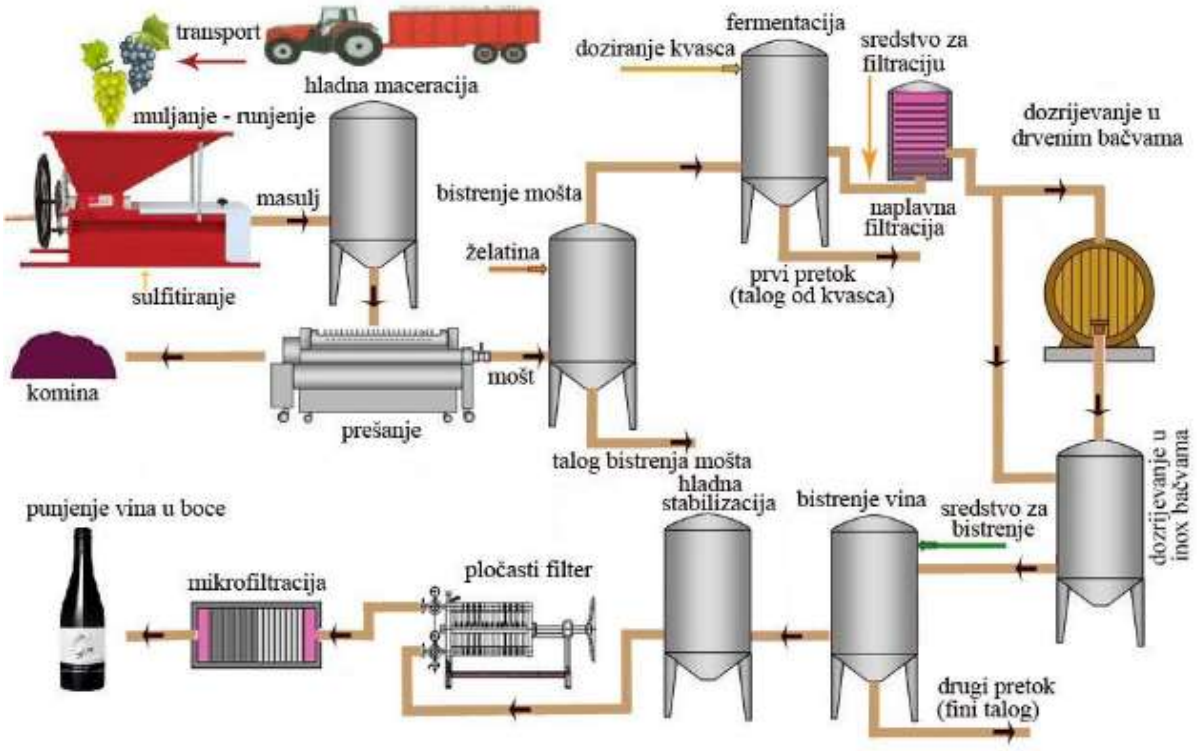
Tablica 1 Udio (%) kožice, mesa i sjemenke u bobici grožđa (Ribéreau-Gayon i sur., 2006)

	Cabernet Sauvignon	**Merlot**	**Sauvignon**
Kožica	74,4	78,8	82,9
Meso	19,8	16,4	14,2
Sjemenka	5,8	4,8	2,9

Sjemenke se razvijaju iz zametaka u tučku, kojih ima četiri. Broj sjemenki varira s obzirom na to koliko se zametaka oplodi. Besjemene sorte su namijenjeni za proizvodnju grožđica. Kožica se sastoji od 6 do 10 slojeva stanica. Debljina ovisi o sorti grožđa, a može biti manje ili više prekrivena voštanom prevlakom. Meso predstavlja glavni dio bobice gdje je smješten grožđani sok. U punoj zrelosti bobice grožđa, na meso otpada 75 do 85% mase bobice (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008).

2.2. PROIZVODNJA CRNIH VINA

Proizvodnja vina predstavlja vrlo složen proces koji započinje od same berbe grožđa. Kako bi se izbjegle različite nepravilnosti ili mane vina, vrlo je bitno osigurati berbu tehnološki zrelog i zdravog grožđa, čiste posude za skladištenje i fermentaciju, odgovarajuću prostoriju i uvjete u njoj. Proces proizvodnje vina (**Slika 2**) uključuje sljedeće postupke: muljanje – runjenje grožđa, maceracija masulja, sumporenje, dodavanje selekcioniranih kvasaca, alkoholna fermentacija masulja, prešanje masulja i otakanje mošta, završna alkoholna i eventualno malolaktička fermentacija, otakanje mladog vina s taloga, bistrenje, odležavanje.



Slika 2 Shematski prikaz procesa proizvodnje vina

Cilj runjenja grožđa je odvajanje peteljke koja sadrži visok udio tanina (daju vinu trpak i gorak okus). Muljanjem se grožđe gnječi u svrhu razdvajanja čvrste faze od tekuće, odnosno izdvajanja grožđanog soka iz bobice. Na taj način se dobije masulj, koji se sastoji od grožđanog soka i čvrstih dijelova bobice (kožice, sjemenke i mesa). U svrhu sprečavanja kvarenja, oksidacijskih reakcija i nekontroliranog vrenja zbog prisustva divljih kvasaca, masulj se sumpori (10 do 15 g/hL kalijevog metabisulfita) (Tomas i Kolovrat, 2011). Količina i vrijeme sumporenja ovisit će o zdravstvenom stanju grožđa, zrelosti grožđa, vremenu u trenutku berbe, temperaturi mošta itd. Ukoliko je grožđe trulo, nedovoljno zrelo ili je vrijeme u trenutku berbe bilo toplo, dodaju se veće količine sumpora. Sumporenjem se inaktiviraju štetni mikroorganizmi te usporavaju štetni oksidativni procesi, ali se, također, ubrzava taloženje nečistoća u moštu/masulju (zemlja ili metali zaostali iz zaštitnih sredstava itd.) (Grainger i Tattersall, 2005).

Kod proizvodnje crnih vina, vrlo važnu ulogu ima postupak maceracije (**Slika 3**), pri čemu dolazi do ekstrakcije fenolnih spojeva, tanina, aromatskih spojeva, tvari boje te mineralnih tvari iz čvrstih dijelova bobice u mošt. Intenzitet boje i arome te količina navedenih spojeva ovisit će o uvjetima maceracije (vrijeme, temperatura, učestalost miješanja, prisustvo sumpora i dr.). Najčešće se primjenjuju temperature od 20 do 25 °C. Moguće je dodati i pektolitičke enzime u svrhu razgradnje pektina u kožici bobice i bolje ekstrakcije tvari boje iz nje (Claus, 2019; Romero-Cascales i sur., 2005; Tomas i Kolovrat, 2011).



Slika 3 Postupak maceracije masulja (Marrone, 2019)

Selekcionirani kvasci koji se koriste u vinarstvu najčešće pripadaju rodu *Saccharomyces cerevisiae*, iako se u novije vrijeme koriste i kvasci drugih rodova kao što su *Candida*, *Debaryomyces*, *Dekkera*, *Hanseniaspora*, *Metschnikowia*, *Pichia*, *Torulaspora* (Padilla i sur., 2016). Cilj je odabrati onaj soj koji se odlikuje proizvodnjom većih količina etanola i boljeg iskorištenja šećera iz mošta, odnosno bolje podnosi uvjete fermentacije (temperatura, količina etanola, kiselina, sumpora itd.) te svojim metabolizmom sintetizira spojeve koji povoljno utječu na aromu vina (Rainieri i Pretorius, 2000).

Alkoholna fermentacija predstavlja anaerobnu transformaciju šećera u alkohol i ugljikov dioksid, kataliziranu enzimima koje metaboliziraju kvasci. Pored alkohola i ugljikovog dioksida koji su glavni i količinski najveći produkti rada vinskog kvasca, tijekom alkoholne fermentacije metabolizam kvasaca katalizira i stvaranje drugih spojeva, npr. spojeva arome. Proces alkoholne fermentacije je najprije buran, pri čemu dolazi do stvaranje pjene na površini, a intenzitet fermentacije će ovisiti o kemijskom sastavu mošta, temperaturi mošta, kulturi selekcioniranih kvasaca itd. Temperatura se može povisiti za 10 °C ili više tijekom fermentacije te se mora kontrolirati budući da se na temperaturama iznad 35 °C usporava rad kvasaca, posebice u početnim fazama rasta (Grainger i Tattersall, 2005). Fermentacija na temperaturama od 15 do 20 °C omogućava proizvodnju vina s izraženijom aromom i većim udjelom alkohola i ugljikovog dioksida, a manjim udjelom octene kiseline (Claus, 2019).

Nakon burne fermentacije, slijedi otakanje mošta (samotoka) u čiste posude koje se moraju do kraja napuniti i zatvoriti. Tu se nastavlja alkoholna fermentacija (tiho vrenje) i eventualna malolaktička fermentacija. Malolaktičku fermentaciju provode bakterije koje pripadaju rodovima *Lactobacillus*, *Leuconostoc* ili *Pediococcus*. Te bakterije transformiraju jaku jabučnu kiselinu u blažu mliječnu (od 1 g jabučne kiseline nastane 0,67 g mliječne kiseline i 0,33 g ugljikovog dioksida), pri čemu vino dobije laganu maslačnu aromu. Malolaktička fermentacija se može izazvati zagrijavanjem vina ili dodavanjem selekcionirane kulture bakterija. S druge strane, moguće ju je spriječiti sumporenjem ili hlađenjem vina (Grainger i Tattersall, 2005).

Kraj fermentacije se prepoznaje po tome što se vino smiri, a na dnu posude se stvori talog koji se treba ukloniti (zbog raspadanja sastojaka taloga može doći stvaranja neugodnih aroma i nepoželjnih spojeva, npr. sumporovodika, H_2S). Taloženje vina se pospješuje snižavanjem temperature (čak na −4 do −6 °C), čime se postiže bolje izdvajanje soli vinske kiseline (tartarata). Kako bi se odvojio talog, mlado vino se pretače te sumpori. Pretok vina može biti otvoren (uz prisustvo zraka – obično prvi pretok prilikom odvajanja s taloga te u slučaju odstranjivanja mirisa) ili zatvoren (obično drugi pretok ili u slučaju da je vino podložno posmeđivanju i oksidaciji aromatskih spojeva) (Claus, 2019; Tomas i Kolovrat, 2011).

Mlada vina poslije prvog pretoka nisu dovoljno bistra, a uzrok mutnoće su najčešće koloidne čestice koje lebde u vinu. Ovisno o stupnju i vrsti mutnoće, vina se mogu bistriti primjenom sredstava za bistrenje (organskih – želatina i tanin; mineralnih – bentonit) te filtriranjem (naplavni filtri za prvu, grubu filtraciju te membranska mikrofiltracija za završnu filtraciju i odstranjivanja mikroorganizama iz vina) (Mierczynska-Vasilev i Smith, 2015; Tomas i Kolovrat, 2011).

Prije samog punjenja gotovog vina u staklene boce ili neku drugu pogodnu ambalažu (tetrapak, bag-in-box, plastične boce), vino se sprema u drvene bačve ili tankove od nehrđajućeg čelika kako bi tijekom odležavanja vino dobilo svoj puni okus, kako bi omekšali tanini i kako bi se razvili poželjni spojevi arome. U novije vrijeme, u svrhu smanjenja vremena potrebnog za odležavanje vina te smanjenja troškova, došlo je do razvoja novih tehnologija, kao što su odležavanja s dodatkom dijelova drvene bačve u vino, primjena mikrooksigenacije ili odležavanje na talogu kroz određeno vrijeme. Prodiranje malih količina kisika u vino omogućava formiranje poželjnih spojeva arome (Tao i sur., 2014).

2.2.1. Konvencionalni uzgoj vinove loze i proizvodnja vina

Konvencionalna proizvodnja vina predstavlja klasični uobičajeni način proizvodnje vina koji započinje s konvencionalnim uzgojem vinove loze. Konvencionalni uzgoj vinove loze podrazumijeva upotrebu mehanizacije, pesticida ili mineralnih gnojiva, križanje i stvaranje novih sorti vinove loze te upotrebu velikih količina energije (npr. u slučaju nepovoljnih klimatskih uvjeta, uzgoj se može provoditi u zatvorenim staklenicima s kontroliranom atmosferom), a sve u svrhu postizanja velikih prinosa i odgovarajućeg kemijskog sastava i tehnološke zrelosti grožđa (Znaor, 1996). Budući da se vrlo često koriste pesticidi, hormoni, umjetna gnojiva i drugi kemijski preparati za suzbijanje nametnika i bolesti, konvencionalni način uzgoja vinove loze spada u jedan od većih onečišćivača okoliša. Upotreba mehanizacije tijekom branja može mehanički oštetiti vinovu lozu i tlo, a upotreba kemijskih preparata utječe nepovoljno na biološku aktivnost tla, uzrokuje smanjenje raznovrsnosti okolne flore i faune, eutrofikaciju voda, povećanje udjela teških metala u tlu ili vodi koji kasnije dospijevaju u

prehrambene proizvode, prvenstveno mošt i vino. Konvencionalna proizvodnja vina uključuje sve prethodno navedene postupke (muljanja i runjenje, maceraciju, alkoholnu i malolaktičku fermentaciju, otakanje i prešanje, bistrenje, odležavanje), s tim da se primjenjuje sumporenje u svrhu suzbijanja oksidacijskih reakcija, kvarenja i razvoja nepoželjnih mikroorganizama. Dozvoljeni preparati sa sumporom te dozvoljena količina slobodnog i ukupnog sumporovog dioksida u vinu (**Tablica 2**) propisana je Pravilnikom o proizvodnji vina (NN 2/05):

Tablica 2 Dozvoljena količina slobodnog i ukupnog SO_2 u vinima prema Pravilniku o proizvodnji vina (NN, 2/05)

	Slobodni SO_2	**Ukupni SO_2**
Ukoliko je sadržaj neprevrelog šećera manji od 5 g/L		
Crna vina	do 30 mg/L	do 160 mg/L
Bijela i ružičasta vina	do 40 mg/L	do 210 mg/L
Ukoliko je sadržaj neprevrelog šećera veći od 5 g/L		
Crna vina	do 40 mg/L	do 210 mg/L
Bijela i ružičasta vina	do 50 mg/L	do 260 mg/L
Vina kasne berbe	do 50 mg/L	do 300 mg/L
Vina izborne berbe	do 60 mg/L	do 350 mg/L
Vina izborne berbe bobica, izborna berba prosušenih bobica i ledeno vino	do 70 mg/L	do 400 mg/L

2.2.2. Ekološki uzgoj vinove loze i proizvodnja vina

S obzirom na visoke zahtjeve konzumenata vina u pogledu zdravstvenog aspekta, posljednjih nekoliko godina razvio se trend ekološkog uzgoja vinove loze i proizvodnje vina. Glavna razlika između ekološkog i konvencionalnog uzgoja vinove loze je u tome što se kod ekološkog uzgoja izbjegava upotreba mineralnih gnojiva, pesticida, insekticida i drugih kemijskih dodataka koji se inače upotrebljavaju tijekom konvencionalnog uzgoja vinove loze. Cilj ekološkog uzgoja vinove loze je prvenstveno smanjenje negativnog utjecaja umjetnih gnojiva, pesticida i kemijskih preparata na okoliš, tlo i zdravlje ljudi (proizvodnja vina bez štetnih kemijskih rezidua ili prevelike količine teških metala) (Laureati i Pagliarini, 2016). Uporaba navedenih spojeva može iscrpiti tlo, narušiti njegov mineralni sastav i biološku aktivnost (Azabagaoglu i sur., 2007). Nadalje, prilikom branja ekološki uzgojenog grožđa, izbjegava se upotreba mehanizacije kako bi se što manje oštetilo tlo i vinova loza, a grožđe se bere ručno, što osigurava branje samo zdravih i zrelih grozdova (Zafrilla i sur., 2003). Neki postupci iz ekološkog načina uzgoja vinove loze i obrade vinograda danas se primjenjuju i u konvencionalnom, npr. zatravljivanje vinograda i zastiranje tla u svrhu sprječavanja erozije tla i smanjenja prisustva uzročnika pojedinih bolesti, npr. sive plijesni. Ekološki uzgoj vinove loze

uključuje uporabu ekološki prihvatljivih organskih gnojiva te su takva gnojiva sve više raširena i u konvencionalnom uzgoju vinove loze. Glavni ciljevi ekološkog vinogradarstva su: održavanje prirodne plodnosti tla, uzgoj zdravih i otpornih biljaka, poticanje raznolikosti biljnih i životinjskih vrsta unutar monokulturne proizvodnje (vinove loze), smanjenje onečišćenja tla i vode, uspostavljanje zatvorenog proizvodnog ciklusa mješovitog tipa (organski ostaci stočne proizvodnje kao organsko gnojivo u vinogradarstvu i drugim granama poljoprivrede), uzgoj visokokvalitetnog grožđa za proizvodnju vina visoke kakvoće, osiguravanje zdravije okoline za život čovjeka (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008). Dopuštena sredstva za zaštitu vinove loze u ekološkom vinogradu su: feromoni, biljni preparati, ekstrakti čajeva, preparati od algi, propolis, kameno brašno, bakreni preparati, parafinska ulja, kalijev sapun, alkohol. Zabranjeni su kemijsko-sintetički insekticidi, fungicidi, herbicidi, akaricidi i slično (Pokos, 2013).

Prijelaz s konvencionalnog na ekološki uzgoj vinove loze i proizvodnju vina zahtjeva dugogodišnje (6 do 8 godina) postupke pripreme vinograda, a oni obuhvaćaju posebne tretmane tla, uporabu prirodnih, organskih gnojiva i gore navedenih dopuštenih sredstava, pročišćene vode i slično (Băra i Barbu, 2010). Nakon što nadležno tijelo ustanovi da je vinograd prošao odgovarajuće pripreme, proizvođač ekološkog vina može dobiti potvrdnicu s datumom i točnom lokacijom vinograda s ekološkim uzgojem vinove loze, te tek tada na svoj proizvod može staviti znak „eko“ (Pokos, 2013).



Slika 4 Primjeri „eko“ znaka u pojedinim zemljama: a) Europska unija (od srpnja 2010.); b) Europska unija (stari); c) SAD; d) Kanada; e) Francuska; f) Japan (Laureati i Pagliarini, 2016)

Proizvodnja ekološkog vina obuhvaća uglavnom jednake postupke kao i proizvodnja konvencionalnog vina, s tim da je dozvoljeno ekološko vino proizvoditi samo od ekološki uzgojenog grožđa koje ima odgovarajuća organoleptička svojstva i visoku prehrambenu vrijednost. Korištenje preparata koji sadrže sumporov dioksid se treba svesti na minimum, a fizikalne metode trebaju imati prednost u odnosu na kemijske postupke. Dopušteni su sljedeći postupci: centrifugiranje, filtriranje, toplinske obrade, zatim upotreba kvasaca, saharoze (za doslađivanje), želatine, ribljeg mjehura, kazeina, bjelanjka jajeta, bentonita, tanina, aktivnog ugljena, limunske kiseline te pektolitičkih enzima. Zabranjena je upotreba organizama koji su genetički promijenjeni, bakrenog sulfata, askorbinske kiseline te kalijevog ferocijanida (Laureati i Pagliarini, 2016; Pokos, 2013; Znaor, 1996).

2.3. CABERNET SAUVIGNON

Sorta grožđa cabernet sauvignon (**Slika 5**) jedna je od najpoznatijih vinskih sorata crnog grožđa u svijetu koja potječe iz francuske pokrajine Bordeaux, a nastala je križanjem cabernet franca i sauvignona bijelog. Uzgaja se u mnogim hrvatskim podregijama (Moslavina, Podunavlje, Prigorje, Plešivica, Slavonija te Primorska Hrvatska). Njene sadnice karakterizira snažan rast, uzgaja se podjednako uspješno na dubokim, ali i na plitkim i suhim tlima. List je srednje velik, peterodijelan, tamnozeleni. Trs je srednje bujan, mladice vitke, peteljka blago crvenkasta. Cvijet je dvospolan, a grozd zbijen, stožastog oblika, a bobice male do srednje s debelom kožicom crno plave boje, pravilnog okruglog oblika, promjera do 12 do 15 mm (Mirošević i Turković, 2003).



Slika 5 Izgled grozda sorte grožđa cabernet sauvignon (Vinopedia, http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=cabernet_sauvignon)

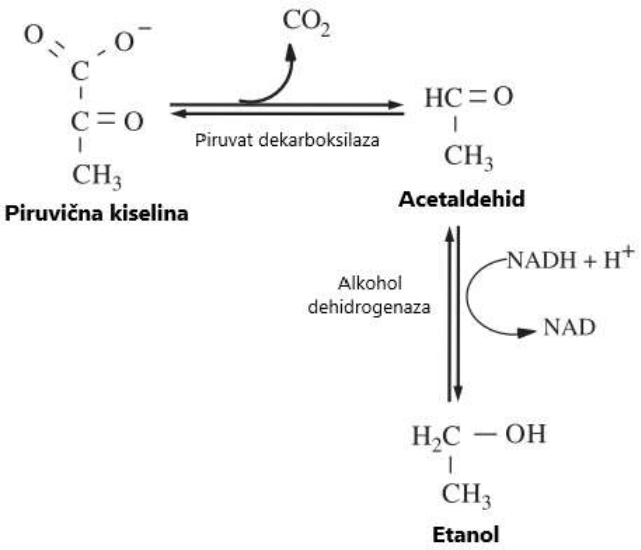
Cabernet sauvignon sorta grožđa kasno dozrijeva, umjereno je otporna na gljivične bolesti, a dobre znakove otpornosti daje prema peronospori, truljenju grožđa i smrzavicama (Robinson i sur., 2012). Vrlo dobro podnosi sušu i kišna razdoblja u jesen, ukoliko ona ne traju predugo. Sok ove sorte grožđa je bogat šećerom (do 23%) i kiselinama (oko 7 g/L). Crno vino Cabernet Sauvignon je bogato aromama, kiselinama, alkoholima i bioaktivnim komponentama. Vino se odlikuje izraženom sortnom aromom s notama crnog ribiza, borovnice, višnje, džema od šljiva i tamne čokolade, tamnocrvenom bojom s prijelazom na ljubičastu te punim, ali blago trpkim okusom. Sadržaj alkohola se obično kreće od između 12 i 13 vol.%, ukupnog ekstrakta između 18 i 26 g/L, ukupnih kiselina između 5 i 7 g/L, a glicerola između 7,5 i 9,5 g/L (Zoričić, 1996).

2.4. KEMIJSKI SASTAV VINA

2.4.1. Alkoholi

Etanol

Etanol (etilni alkohol, C_2H_5OH) je po količini, nakon vode, najzastupljeniji sastojak u vinu. Utječe na organoleptička svojstva vina, viskoznost vina, trpkost, punoću okusa te pridonosi slatkastoj i voćnoj aromi vina (Jordão i sur., 2015). Njegov volumni postotak u vinu varira s obzirom na sortu grožđa od koje se vino proizvodi, zoni i načinu proizvodnje, klimatskim uvjetima, udjelu šećera itd. Prema Pravilniku o proizvodnji vina (NN 2/05), alkoholna jakost vina mora biti minimalno 8,5 vol.% (stolna vina), a maksimum ovisi o zoni uzgoja vinove loze i sorti grožđa (najčešće do 14 vol.%, ili više za neka specijalna vina). Etanol u vinu nastaje tijekom alkoholne fermentacije uz pomoć vinskih kvasaca. Reakcija najprije započinje glikolizom, odnosno transformacijom glukoze ili fruktoze do piruvične kiseline. Zatim piruvična kiselina, uz piruvat dekarboksilazu, prelazi u acetaldehid (etanal) i CO_2. Nakon toga, alkohol dehidrogenaza katalizira reakciju redukcije acetaldehida u etanol (**Slika 6**).



Slika 6 Reakcija nastanka etanola iz piruvične kiseline (Moreno i Peinado, 2012)

Metanol

Metanol (metilni alkohol, CH_3OH) nastaje prije i tijekom alkoholne fermentacije hidrolizom pektinskih spojeva uz pektinesterazu. Pektinski spojevi su prirodno prisutni u bobicama grožđa, posebice u kožici (Moreno i Peinado, 2012). Stoga, više metanola se nalazi u vinima čija proizvodnja uključuje maceraciju i fermentaciju masulja. Crna vina sadrže najčešće oko 150 mg/L, ružičasta oko 90 mg/L, dok bijela vina sadrže oko 60 mg/L metanola. Metanol je otrovan alkohol (transformira se do mravlje kiseline ili formaldehida koji uzrokuju abdominalnu bol, otežano disanje), te u višim koncentracijama može biti i smrtonosan. Iz tog razloga,

njegova koncentracija u vinu se mora strogo kontrolirati, iako danas ona najčešće ne prelazi 150 mg/L (Hodson i sur., 2017).

Glicerol

Glicerol ($C_3H_8O_3$) je trovalentni alkohol i treća po količini najzastupljenija komponenta u vinu (nakon vode i etanola). Utječe na kvalitetu vina, doprinosi viskoznosti vina, slatkoći i punoći okusa (Ribéreau-Gayon i sur., 2006). Količina glicerola u vinu ovisit će o soju vinskog kvasca koji je upotrijebljen za fermentaciju mošta, o sorti grožđa i količini šećera u moštu. Kvasci *Saccharomyces cerevisiae* mogu proizvesti od 2 do 11 g/L glicerola, iako su najčešće koncentraciju između 4 i 9 g/L (Goold i sur., 2017; Yalçin i Özbaş, 2006). Njegova koncentracija opada tijekom odležavanja vina. Iz tog razloga, određivanjem njegove koncentracije može se odrediti kraj procesa starenja i odležavanja vina jer je tada koncentracija najčešće manja od 1 g/L (Moreno i Peinado, 2012).

Viši alkoholi

Viši alkoholi sadrže više od 2 ugljikova atoma, a u mošt dospijevaju iz voštanih sastojaka kožice bobice ili se stvaraju kao sekundarni produkti alkoholne fermentacije. Mogu se formirati kataboličkim putem iz aminokiselina te anaboličkim putem iz šećera nastalih kao nusprodukti tijekom sinteze aminokiselina (Pietruszka i sur., 2010). U vinu se nalaze u malim količinama, s tim da u koncentracijama do 400 mg/L doprinose aromi vina, a u višim koncentracija imaju suprotan učinak (Yue i sur., 2014). Stupaju u reakcije s kiselinama dajući estere koji doprinose aromi vina, stoga se koncentracija viših alkohola mijenja tijekom sazrijevanja vina. Najzastupljeniji su izoamilni alkohol, izobutilni alkohol i propan-1-ol (Moreno i Peinado, 2012). Od ostalih viših alkohola koji doprinose aromi vina, najviše se ističu heksan-1-ol, 2-feniletanol, benzilni alkohol, oktan-1-ol i drugi (Jackson, 2008).

2.4.2. Kiseline

Kiseline u vinu su prisutne kao normalni sastojci koji doprinose mirisu i okusu vina, ali mogu biti prisutne i kao produkti kvarenja. Prema Pravilniku o proizvodnji vina (NN 2/05), količina kiselina u vinu, izraženih kao vinska kiselina, mora se kretati u rasponu od 4 do 14 g/L.

Najvažnije nehlapive organske kiseline u moštu su: vinska, jabučna, limunska, jantarna. Jabučna i vinska kiselina su količinski najzastupljenije, s tim da sazrijevanjem grožđa (procesi disanja i oksidacije) i povišenjem temperature, koncentracija kiselina opada, posebice jabučne. Tijekom procesa proizvodnje vina, djelomično se gubi dio kiselina, ili se formiraju neke druge kiseline, npr. tijekom alkoholne fermentacije nastaju piruvična, octena, sukcinska, oksalna i fumarna, a tijekom malolaktičke fermentacije jabučna kiselina prelazi u blažu mliječnu kiselinu. Kiseline stupaju i u reakcije s etanolom dajući estere (Alpeza, 2008; Bayraktar, 2013). Vinsku

kiselinu sadržavaju zeleni dijelovi vinove loze. To je najizraženija i najjača kiselina u vinu čija se koncentracija kreće od 0,5 do 2 g/L. Ukoliko se veže s mineralima kalija ili kalcija, nastaju soli vinske kiseline, tartarati, koji se pri nižim temperaturama talože u obliku kristala (Francesco, 2017; Yalcin i sur., 2008). Jantarna kiselina nastaje tijekom alkoholne fermentacije iz acetaldehida i degradacijom glutaminske kiseline. Prisutna je u malim količinama u vinu, a doprinosi gorkom okusu vina. Limunska kiselina daje vinu svježinu, a može nastati na više načina: u procesu glikolize, Krebsovom ciklusu, ciklusu glioksalne kiseline ili kao produkt plijesni roda *Botrytis* (Bayraktar, 2013; Chidi i sur., 2018).

Hlapive kiseline predstavljaju skupinu masnih kiselina koje doprinose mirisu vina, budući da su hlapive pri sobnoj temperaturi. One najvećim dijelom nastaju kao sekundarni produkti alkoholne fermentacije, a njihova količina ovisit će o soju kvasca koji se koristi za fermentaciju (selekcionirani kvasci proizvode manje hlapivih kiselina) te uvjetima fermentacije (pri nižim temperaturama nastaje manje hlapivih kiselina). Najzastupljenija hlapiva kiselina je octena kiselina koja je ujedno i predstavnik ove skupine. Nastaje oksidacijom etanola djelovanjem octenih bakterija u aerobnim uvjetima ili djelovanjem kvasaca u anaerobnim uvjetima tijekom alkoholne fermentacije. Octena kiselina doprinosi aromi vina ukoliko njena koncentracija ne prelazi 0,9 g/L, a u suprotnom predstavlja kvarenje vina, octikavost (Lin i sur., 2019; Rapp i Mandery, 1986). Pored octene kiseline, hlapive kiseline kao propionska (masna nota), maslačna (aroma maslaca) te karboksilne kiseline sa 6 do 10 C-atoma (najčešće masna nota ili aroma po siru ili kozama) prisutne su u vinu u malim koncentracijama, doprinoseći ukupnoj aromi vina, a visoke koncentracije ovih kiselina se mogu pronaći u vinima gdje je došlo do mikrobiološkog kvarenja te se tada ističe njihova specifična aroma (Jackson, 2008).

2.4.3. Ugljikohidrati

U skupinu ugljikohidrata koji se mogu pronaći u moštu i vinu pripadaju šećeri (monosaharidi i oligosaharidi), pektini, sluzave tvari i drugi polisaharidi.

Šećeri nastaju procesom fotosinteze i to najvećim dijelom u listu te nešto manje u bobicama. Udio šećera ovisi o sorti grožđa, zrelosti bobice, zdravlju bobice, klimatskim uvjetima itd. Najzastupljeniji šećeri u moštu i vinu su monosaharidi, odnosno heksoze glukoza i fruktoza. Omjer glukoze i fruktoze tijekom razvoja bobice je različit, odnosno u početku je više prisutna glukoza, a kada grožđe dosegne tehnološku zrelost, taj omjer se izjednačava. Prezrelo grožđe sadrži nešto više fruktoze. Najčešće se udio šećera u zrelom grožđu kreće od 17 do 25% (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008). Pentoze su nešto manje prisutne u moštu ili vinu, a zastupljenije su u crnim nego u bijelim vinima. Od oligosaharida mogu se pronaći saharoza, maltoza, laktoza, rafinoza i trehaloza (Ribéreau-Gayon i sur., 2006). Tijekom alkoholne fermentacije, fermentirajući šećeri, prvenstveno glukoza i fruktoza, se prevode u alkohol,

ugljikov dioksid i sekundarne metabolite radom vinskog kvasca. Međutim, nakon završene fermentacije može zaostati dio nefermentiranog ili neprevrelog šećera koji daje slatkoću vinu. Na osnovu količine neprevrelog šećera, vina se dijele na suha (do 4 g/L neprevrelog šećera), polusuha (od 4 do 12 g/L neprevrelog šećera), poluslatka (od 12 do 50 g/L neprevrelog šećera) te slatka vina (više od 50 g/L neprevrelog šećera). S druge strane, šećeri mogu metabolizirati u više alkohole, estere masnih kiselina i aldehide, što utječe na konačnu aromu vina (Jackson, 2008). Šećeri reduciraju okus kiselosti, gorčine i trpkost. Dodavanje šećera tijekom proizvodnje vina nije dozvoljeno, osim kod nekih specijalnih vina, npr. aromatizirana vina (Alpeza, 2008; Gnilomedova i sur., 2018).

Pektini su linearni polimeri galakturonske kiseline, koji su najčešće esterificirani metilnim skupinama. Ova skupina spojeva predstavlja građevne tvari čvrstih dijelova grozda, posebice kožice bobice, a tijekom prerade grožđa (muljanje, runjenje, maceracija, prešanje) prelaze u mošt i vino. Razgradnjom pektina i oslobađanjem metilnih skupina nastaje metanol. Udio metanola ovisit će o sorti grožđa (neke sorte sadrže veće udjele čvrstih dijelova grozda), vremenu i temperaturi maceracije itd. S druge strane, pektini stvaraju komplekse s koloidima te otežavaju filtraciju i bistrenje vina, pa se najčešće dodaju pektolitički enzimi u svrhu njihove razgradnje (Jackson, 2008).

2.4.4. Esteri

Esteri u vinu predstavljaju vrlo važnu i često najbrojniju skupinu spojeva koja ima izniman utjecaj na aromu vina. Mogu se podijeliti u dvije skupine s obzirom na porijeklo: esteri koji nastaju tijekom alkoholne fermentacije te esteri koji nastaju tijekom dozrijevanja vina. Tijekom fermentacije, esteri nastaju kao sekundarni produkt metabolizma kvasca, a takvi esteri mogu biti acetatni esteri viših alkohola ili etil esteri masnih kiselina. Obje skupine doprinose voćnoj, svježoj i privlačnoj aromi vina, što je posebno izraženo kod mladih vina. Tijekom dozrijevanja vina, pod utjecajem temperature ili kisika, dolazi do sniženja koncentracije estera u vinu, posebice zbog njihove hlapivosti, pa je održavanje niskih temperatura tijekom čuvanja vina iznimno bitno za održavanje voćne arome vina (Alpeza, 2008). Neki od najzastupljenijih estera u vinu su etil-acetat, dietil-sukcinat, etil-heksanoat, etil-oktanoat, fenetil-acetat i drugi (Zoričić, 1996).

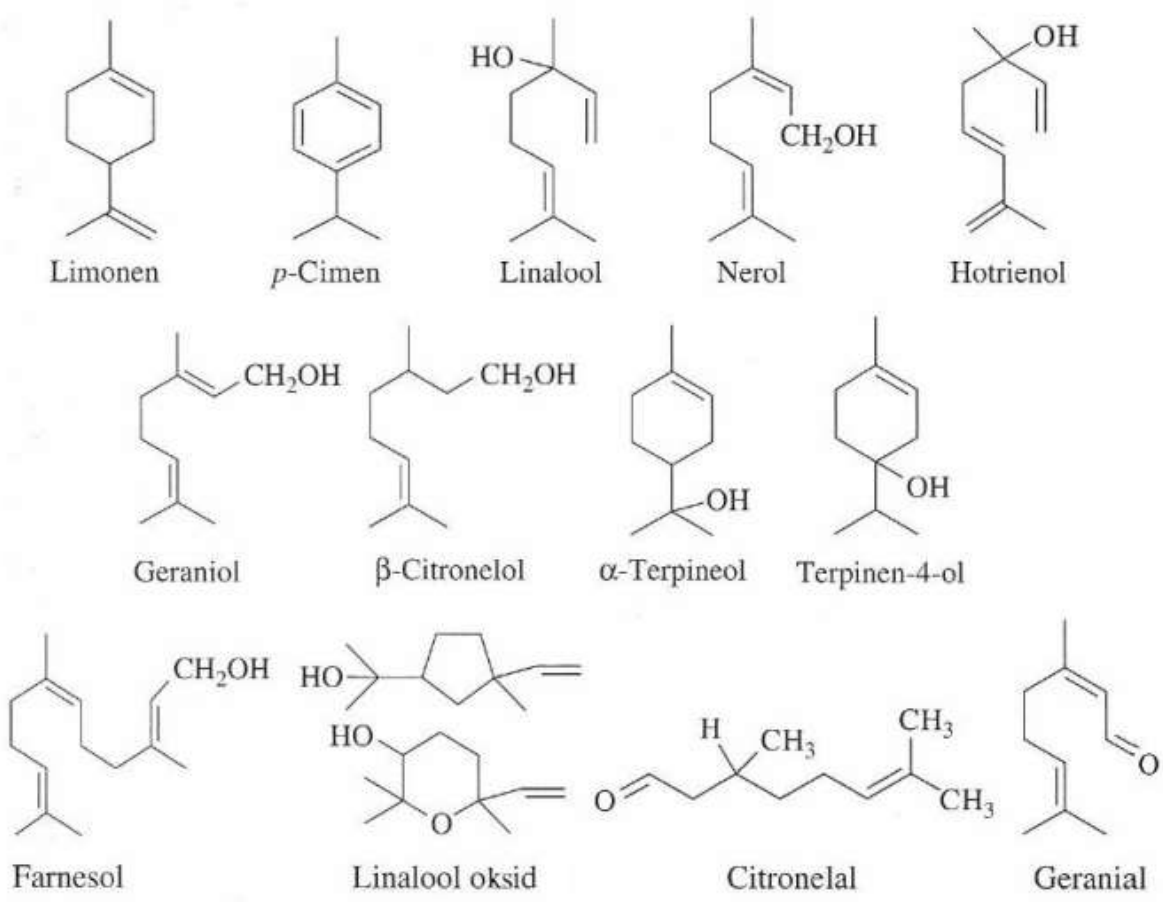
2.4.5. Aldehidi i ketoni

Aldehidi i ketoni predstavljaju skupinu karbonilnih spojeva koji značajno utječu na organoleptička svojstva vina. Vrlo su reaktivni i sa sumporastom kiselinom tvore lako topive kiseline. U čistom obliku, aldehidi imaju oštru, voćnu aromu. Najvećim dijelom nastaju tijekom alkoholne fermentacije, posebice acetaldehid koji nastaje kao međuprodukt tijekom razgradnje

šećera. Međutim, veliki dio ovako stvorenog acetaldehida prevodi se u etanol, a mali dio koji ostane doprinosi aromi. Količina acetaldehida u vinu ovisit će o količini sumpora, te ako je vino manje sumporeno, najčešće će zaostati više koncentracije acetaldehida koje mogu vinu dati miris na starost ili oksidiranost. Nadalje, viši alkoholi mogu oksidirati u aldehide, posebice tijekom dugotrajnog odležavanja vina, pri čemu tako nastali aldehidi koji sadrže 4 ili 5 C-atoma doprinose slatkastoj aromi po sušenom voću ili drvetu. Aldehidi s većim brojem C-atoma (8 do 10) doprinose voćnoj ili cvjetnoj aromi vina, ali su najčešće zastupljeni u nižim koncentracijama te se ne ističu u ukupnoj aromi vina (Waterhouse i sur., 2016). Neki od aldehida koji se mogu naći u crnim vinima su: metional (aroma kuhanog krumpira), heksanal (citrusna jabuka s jabučnom notom), zatim fenilacetaldehid, lili aldehid i heksilcinamaldehid koji doprinose cvjetnoj aromi. Ketoni su znatno manje zastupljeni u vinu u odnosu na aldehide i ostale aromatske spojeve, a najčešće se mogu pronaći geranil aceton, acetoin ili diacetil. U koncentracijama ispod 1 mg/L većina ih daje aromu po svježem maslacu, a u višim koncentracijama mogu dati neugodnu aromu po užeglom (Jackson, 2008; Moreno i Peinado, 2012).

2.4.6. Terpeni

Terpeni su spojevi koji su uvelike zaslužni za karakterističnu aromu pojedine sorte, a njihova ukupna koncentracija u vinu je, najčešće, niža od 1 mg/L. Strukturna formula pojedinih terpena (**Slika 7**) se sastoji od različitog broja izoprenskih jedinica (C_5H_8) te se na osnovu toga oni dijele na monoterpene (dvije izoprenske jedinice, $C_{10}H_{16}$), seskviterpene (tri izoprenske jedinice, $C_{15}H_{24}$), diterpene (četiri izoprenske jedinice, $C_{20}H_{32}$) itd. Skupina terpena obuhvaća i terpenoide koji sadrže kisik. Terpeni doprinose najviše citrusnoj i voćnoj aromi vina (Moreno i Peinado, 2012). Razlikuju se slobodni terpeni koji su odgovorni za aromu grožđa i mošta i uglavnom se nalaze u čvrstim dijelovima bobice, te vezani terpeni koji predstavljaju prekursore aromatskih spojeva u vinu (vezani su na šećera kao mono- i diglikozidi). Tijekom maceracije ili alkoholne fermentacije, djelovanjem enzima glikozidaze na vezane terpene, oslobađaju se znatno aromatičniji slobodni terpeni ili terpenski alkoholi (linalool, nerol, geraniol i drugi) koji doprinose ukupnoj aromi vina (Maicas i Mateo, 2016; Michlmayr i sur., 2012). Glikozidaza je prirodno prisutan enzim u grožđu, ali uvjeti tijekom prerade grožđa i proizvodnje vina (posebice pH, temperatura, postupci tijekom bistrenja) ograničavaju njenu aktivnost. Zbog toga, današnja istraživanja o terpenima u vinu često se temelje na metodama poboljšanja djelovanja tog enzima te na pronalasku kvasaca (*Saccharomyces* i drugi sojevi) koji mogu sintetizirati glikozidaze tijekom alkoholne fermentacije u svrhu oslobađanja veće količine aromatskih terpena (Hernandez i sur., 2003; Mansfield i sur., 2002; Maturano i sur., 2015; Michlmayr i sur., 2012).



Slika 7 Strukturne formule pojedinih terpena (Moreno i Peinado, 2012)

2.4.7. Elementi u tragovima

Elementi u tragovima su prirodno prisutni u grožđu, odnosno vinu. U grožđe dospijevaju najčešće iz tla, a koncentracija ovisi o tipu tla, količini i tipu kemijskih preparata za suzbijanje štetočina i zaštitu vinove loze, klimatskim uvjetima (vjetar, kiša), sorti vinove loze i drugim čimbenicima. Na primjer, grožđe uzgojeno u toplijoj klimi obično sadrži više kalija nego grožđe uzgojeno u hladnijoj klimi. Visok udio elementarnog sumpora može biti rezultat upotrebe fungicida za sprječavanje bolesti vinove loze, a visok udio aluminija može biti posljedica upotrebe bentonita. S druge strane, elementi u tragovima mogu u mošt i vino dospjeti putem dodira s metalnim predmetima tijekom proizvodnje vina (alati, cijevi ili posuđe), posebice ukoliko se radi o korodiranoj opremi što rezultira visokim udjelom olova, željeza ili bakra (Jackson, 2008). Iako neki elementi u tragovima mogu povoljno utjecati na ljudski organizam u malim koncentracijama (cink ili bakar), većina ima suprotan učinak u visokim koncentracijama, a neki su i potencijalni toksikanti, npr. olovo, živa, kadmij, selen (Galani-Nikolakaki i sur., 2002; Tariba, 2011). Međutim, prirodno prisutni elementi u tragovima predstavljaju važne kofaktore za vitamine i enzime, utječu na aktivnost kvasaca, aromu i hranjivu vrijednost mošta i vina. Pored već spomenutih, među najzastupljenijim elementima su kalij, natrij, magnezij, mangan, kalcij (Jackson, 2008; Moreno i Peinado, 2012).

2.4.8. Polifenolni spojevi

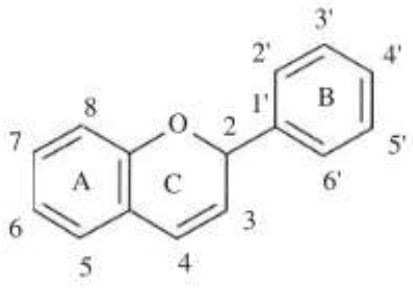
Polifenolni spojevi predstavljaju heterogenu skupinu različitih kemijskih spojeva koji su prirodno prisutni u namirnicama biljnog podrijetla. Oni su sekundarni produkti metabolizma biljaka, ali nisu esencijalni za ljudski organizam. Odgovorni su za boju i okus pojedinih prehrambenih proizvoda, posebice voća i proizvoda na bazi voća, a poznati su i kao antioksidansi (sprječavaju štetno djelovanje slobodnih radikala u organizmu). Rasprostranjeni su u različitim dijelovima biljke, a njihova koncentracija i raznovrsnost u nekoj biljci ovisi o genetskim čimbenicima, biokemijskim reakcijama koje se odvijaju tijekom rasta biljke i dozrijevanja plodova, klimatskim uvjetima, načinu uzgoja biljke, načinu prerade plodova i slično (Gonçalves i sur., 2018; Popović, 2019).

Crne sorte grožđa te crna vina sadrže veće količine polifenolnih spojeva od bijelih sorti grožđa i bijelih vina, a njihova koncentracija u crnim vinima se kreće između 1800 i 3000 mg/L, ovisno o sorti grožđa od koje se vino proizvodi i uvjetima tijekom proizvodnje. Najveći udio polifenolnih spojeva u moštu te vinu potječe iz čvrstih dijelova bobice, naročito kožice, a nešto manje nastaje metabolizmom kvasaca te ekstrakcijom iz drveta tijekom odležavanja u drvenim bačvama (Giovinazzo i sur., 2019).

Iako ovoj skupini pripadaju spojevi različite kemijske strukture, svi su prepoznatljivi po prisustvu hidroksilnih skupina vezanih za jedan ili više cikličkih aromatskih prstenova. Glavna podjela polifenolnih spojeva uključuje dvije skupine, flavonoide (difenilpropanoide) i neflavonoide (fenilpropanoide) (Jackson, 2008).

2.4.8.1. Flavonoidi

Flavanska struktura čini osnovu molekule flavonoida, a ona se sastoji od difenilpropanskog kostura C15 (C6-C3-C6) s dva benzenska prstena (A i B) povezana piranskim prstenom (C) koji sadrži kisik (**Slika 8**).



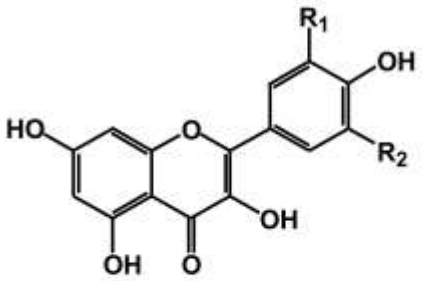
Slika 8 Osnovna kemijska struktura flavonoida (Jackson, 2008)

Osnovna struktura flavonoida je, u pravilu, aglikon, i većina ih se u biljkama nalazi u obliku glikozida vezanih za šećere. Međutim, mogu biti vezani i s drugim flavonoidima ili neflavonoidima, a njihova biološka dostupnost i antioksidacijska aktivnost ovisi o njihovoj strukturi i stupnju glikozilacije. Na šećer se vežu β-glikozidnom vezom, a najčešće se vežu na

D-glukozu u položaju C3 ili C7. Najzastupljeniji flavonoidi u crnim vinima su flavonoli, flavan-3-oli, antocijani i tanini (Jackson, 2008; Tsao, 2010).

Flavonoli

Flavonoli predstavljaju svijetlo žute pigmente, a prisutni su u svim sortama grožđa. U bijelim vinima su glavni nositelji boje, dok su u crnim vinima zamaskirani tamnije obojenim pigmentima, antocijanima. Najviše koncentracija flavonola nalaze se u kožici bobice, i to u obliku glikozida koji brzo hidroliziraju. Najzastupljeniji flavonoli u crnim vinima su kvercetin, kempferol, miricetin te izoramnetin (Jackson, 2008; Moreno i Peinado, 2012).

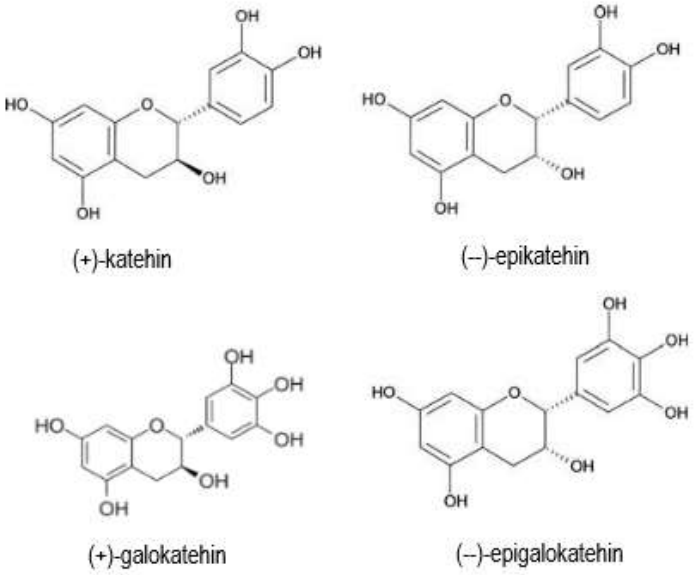


Kempferol	$R_1 = H, R_2 = H$
Kvercetin	$R_1 = H, R_2 = OH$
Miricetin	$R_1 = OH, R_2 = OH$
Izoramnetin	$R_1 = OCH_3, R_2 = H$

Slika 9 Kemijska struktura flavonola (Tsao, 2010)

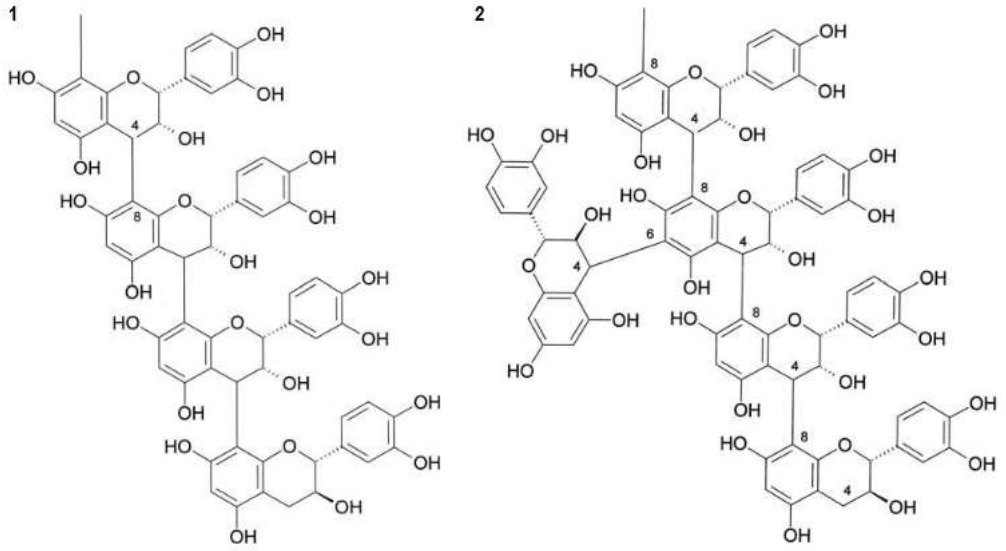
Flavan-3-oli i proantocijanidini

Flavan-3-oli često se nazivaju katehinima, budući da su najzastupljeniji spojevi u ovoj skupini katehin i epikatehin. Od ostalih flavonoida ih razlikuje jednostruka veza između C2 i C3 atoma umjesto dvostruke veze. Nadalje, na C4 atom nije vezan atom kisika, što je slučaj i u strukturi antocijanidina. Takva struktura omogućuje da ovi spojevi imaju dva kiralna centra (na C2 i C3) i četiri moguća dijastereoizomera. Stoga, katehin je izomer s *trans* konfiguracijom i ima dva stereoizomera, (+)-katehin i (−)-katehin, dok je epikatehin izomer sa *cis* konfiguracijom te i on ima dva stereoizomera, (+)-epikatehin i (−)-epikatehin. Najčešći derivati monomera katehina i epikatehina su galokatehini (**Slika 10**). Flavan-3-oli se mogu naći u raznim vrstama voća, posebice u grožđu (kožici), jabukama i borovnicama (Popović, 2019; Tsao, 2010).



Slika 10 Struktura katehina, epikatehina i njihovih derivata (Jackson, 2008; Tsao, 2010)

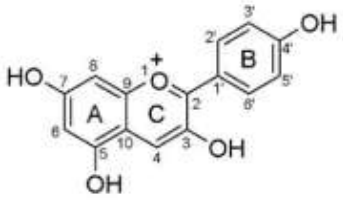
Katehin i epikatehin stvaraju polimere, odnosno proantocijanidine (kondenzirane tanine) koji mogu sadržavati 2 do 60 monomera flavan-3-ola. S obzirom na mjesto gdje su povezani, oligomerni proantocijanidini (2 do 7 monomernih jedinica) mogu biti tipa A (povezani preko C2-O-C7 ili C2-O-C5 veze) te tipa B (povezani preko C4-C6 ili C4-C8 veze). Polimerizacija se može odvijati i vezanjem na drugim mjestima, što ovisi o prisutnosti kisika, acetaldehida ili glioksalne kiseline. Za grožđe i vino su karakteristični proantocijanidini tipa B. Tijekom proizvodnje i odležavanja vina, proantocijanidini se vežu za monomere flavonoida stvarajući polimere s 8 do 14 jedinica, odnosno tanine čija molekulska masa iznosi od 2000 do 5000 daltona ili više (Jackson, 2008).



Slika 11 Primjer nerazgranate (**1**) i razgranate (**2**) strukture proantocijanidina tipa B (Jackson, 2008)

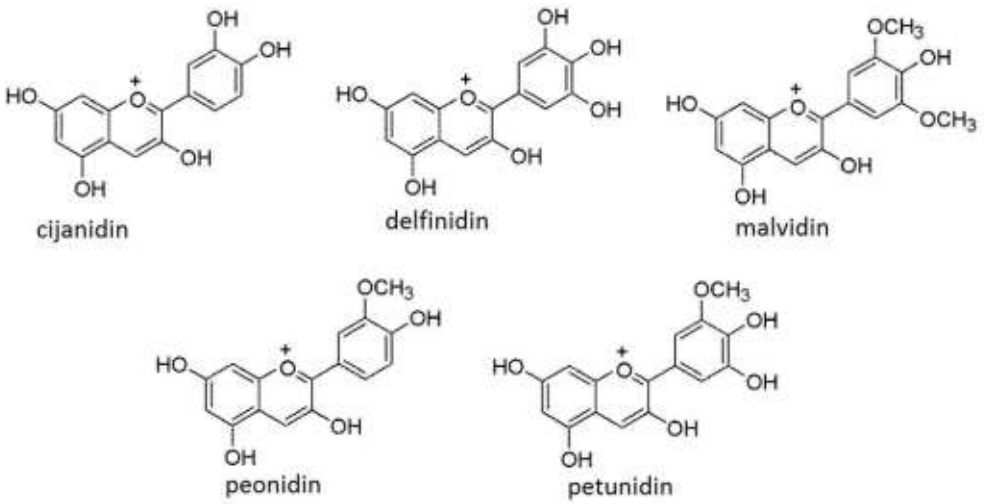
Antocijani

Antocijani predstavljaju glavne nositelje crvene, plave ili ljubičaste boje plodova voća i povrća. Topivi su u vodi, sadrže pozitivni naboj na središnjem prstenu (flavilijum kation) te konjugirane dvostruke veze (**Slika 12**) koje apsorbiraju svjetlo pri valnim duljinama od 500 nm. Antocijani nastaju glikozilacijom antocijanidina, odnosno vezanjem aglikona antocijanidina s nekim od šećera na mjestu C3 (ili C3 i C5 u slučaju diglikozida) stvarajući stabilniju strukturu. Najzastupljeniji šećeri su oligosaharidi u pirano formi (2 ili 3 jedinice monosaharida: rutinoza, soforoza, glukorutinoza) te monosaharidi glukoza, galaktoza, ramnoza, ksiloza, arabinoza. Dosada je otkriveno 500 različitih antocijana i 23 antocijanidina (Andersen i Jordheim, 2006; Popović, 2019; Wrolstad, 2000).



Slika 12 Kemijska struktura flavilijum kationa (Jackson, 2008)

Klasifikacija antocijana se temelji na mjestu vezanja hidroksilne i metilne skupine na B prstenu antocijanidina. Stoga, antocijanidini koji se javljaju u grožđu se dijele na malvidine, cijanidine, delfinidine, peonidine i petunidine, a njihove kemijske strukture su prikazane na **Slici 13**. Slobodni antocijani su nestabilne molekule koje se nastoje vezati s drugim komponentama vina radi povećanja stabilnosti, što ovisi o pH vrijednosti vina, temperaturi i kemijskoj strukturi antocijanidina. Polimerizacijom antocijana (kopigmentacijom) s drugim molekulama (npr. taninima, neflavonoidima i dr.) nastaje stabilniji polimer koji štiti molekulu antocijanidina od oksidacije ili sulfitne dekoloracije, čime se povećava stabilnost boje i kvaliteta vina (Tsao, 2010)



Slika 13 Kemijska struktura najzastupljenijih antocijanidina u grožđu (Popović, 2019)

Antocijani mogu, također, biti klasificirani na osnovu broja molekula šećera vezanih za antocijanidin. Kod većine sorti grožđa, radi se o monoglikozidima (kod *Vitis vinifera* sorti) te diglikozidima (pojedini europsko-američki hibridi), dok se triglikozidi ne pojavljuju u grožđu. Diglikozidni antocijani su stabilniji od monoglikozidnih, ali su podložniji posmeđivanju, dok su monoglikozidni antocijani jače obojani nego diglikozidni. Crne sorte grožđa uglavnom sadrže iste ili slične tipove antocijana, a različita boja pojedinih sorti grožđa ovisi o koncentraciji pojedinih antocijana i njihovoj kopigmentaciji. Najviša koncentracija antocijana u grožđu nalazi se u kožici bobice, a njihov udio u grožđu i vinu ovisi o sorti i zrelosti grožđa te okolnim uvjetima i postupcima tijekom proizvodnje, posebice uvjetima maceracije i ekstrakcije (**Tablica 3**). Najzastupljeniji antocijanidin u crnim vinima je malvidin te se smatra glavnim nositeljem boje crnih vina (Jackson, 2008; Moreno i Peinado, 2012).

Tablica 3 Razlike u koncentraciji antocijana (mg/L) u kožici grožđa sorte cabernet sauvignon i vinu Cabernet Sauvignon s obzirom na datum berbe (Moreno i Peinado, 2012)

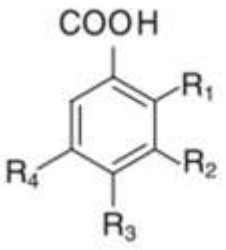
	Kožica	**Vino**	**% ekstrakcije**	**Intenzitet boje**
13. rujan	1500	930	62	0,686
20. rujan	1743	1046	60	0,812
28. rujan	1610	1207	75	0,915

2.4.8.2. Neflavonoidi

Najvažniji predstavnici skupine neflavonoida su fenolne kiseline, odnosno derivati benzojeve (C6-C1) i cimetne (C6-C3) kiseline. Ostali spojevi koji pripadaju ovoj skupini su stilbeni, hlapivi fenoli, lignani, kumarini i dr. Iako neflavonoidi nisu obojani spojevi, oni doprinose boji vina vežući se za obojane flavonoide čime povećavaju njihovu stabilnost, a doprinose i aromi vina (hlapive fenolne kiseline) te antioksidacijskoj aktivnosti. Fenolne kiseline su u prirodi rijetko u slobodnom obliku te su većinom esterificirane vinskom ili kina kiselinom te vezane u obliku glikozida ili etera. Tako vezane fenolne kiseline mogu se osloboditi samo kiselinskom, alkalnom ili enzimskom hidrolizom (Rentzsch i sur., 2009).

Hidroksibenzojeve kiseline

Hidroksibenzojeve kiseline karakterizira C6-C1 strukturni kostur, a u vinu se mogu naći u njihovom slobodnom obliku. Najzastupljenije hidroksibenzojeve kiseline u vinima su galna, *p*-hidroksibenzojeva, protokatehinska, salicilna, vanilinska, siringinska kiselina (**Slika 14**).



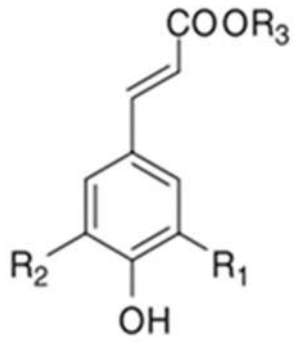
Hidroksibenzojeve kiseline	R_1	R_2	R_3	R_4	Molekulska masa
Galna kiselina	H	OH	OH	OH	170
p-hidroksibenzojeva kiselina	H	H	OH	H	138
Protokatehinska kiselina	H	OH	OH	H	154
Salicilna kiselina	OH	H	H	H	138
Siringinska kiselina	H	OCH_3	OH	OCH_3	198
Vanilinska kiselina	H	OCH_3	OH	H	168

Slika 14 Struktura hidroksibenzojevih kiselina u vinu (Moreno i Peinado, 2012; Rentzsch i sur., 2009)

Galna kiselina je hidroksibenzojeva kiselina koja ima najvišu koncentraciju u vinu, čak i do 95 mg/L u crnim vinima, dok je ostalih obično manje od 10 mg/L. Potiče iz grožđa te nastaje tijekom hidrolize kondenziranih tanina, tj. estera flavan-3-ola (galati). U vinu mogu biti prisutni i esteri ostalih hidroksibenzojevih kiselina, posebice vanilinske i protokatehinske. Udio pojedine hidroksibenzojeve kiseline u vinu ovisi o sorti grožđa, načinu uzgoja te uvjetima tijekom proizvodnje vina (Moreno i Peinado, 2012; Rentzsch i sur., 2009).

Hidroksicimetne kiseline

Okosnicu strukture hidroksicimetnih kiselina čini C6-C3 kostur, a vrlo često su u grožđu prisutne kao esteri vinske kiseline, iako se mogu naći i u glikoziliranom obliku. Njihova koncentracija je uvijek viša u kožici bobice nego u mesu, te je viša u crnim u usporedbi s bijelim sortama grožđa i vina (Moreno i Peinado, 2012). Najčešće se u vinima mogu naći kafeinska, kaftarna, *p*-kumarna, *p*-kutarna, ferulinska, sinapinska kiselina (**Slika 15**). Derivati hidroksicimetnih kiselina se mogu naći u *cis* i *trans* obliku, s tim da je *trans* oblik češći i stabilniji. Hidroksicimetne kiselina su, također, važne komponente aciliranih antocijana. U crnim vinima se često može pronaći 6-*O*-kumarilglukozid i kafeilglukozid, koji mogu poslužiti kao markeri za određivanje sorti grožđa (Merkytė i sur., 2020). Najzastupljenija hidroksicimetna kiselina u vinima je kaftarna (obično oko 50% ukupne koncentracije hidroksicimetnih kiselina). Koncentracija hidroksicimetnih kiselina u vinu ovisi o sorti grožđa, načinu uzgoja te uvjetima tijekom proizvodnje vina (Rentzsch i sur., 2009).



Hidroksicimetne kiseline	R_1	R_2	R_3	Molekulska masa
Kafeinska kiselina	OH	H	H	180
Kaftarna kiselina	OH	H	Vinska kiselina	312
p-kumarna kiselina	H	H	H	164
p-kutarna kiselina	H	H	Vinska kiselina	296
Ferulinska kiselina	OCH_3	H	H	194
Sinapinska kiselina	OCH_3	OCH_3	H	224

Slika 15 Strukture hidroksicimetnih kiselina u vinu (Moreno i Peinado, 2012; Rentzsch i sur., 2009)

2.4.9. Antioksidacijska aktivnost

Slobodni radikali i oksidacijski procesi imaju štetno djeluju na ljudski organizam, rezultirajući najčešće razvojem kardiovaskularnih, degenerativnih i drugih kroničnih bolesti. Antioksidansi su spojevi koji neutraliziraju slobodne radikale čime sprječavaju ili usporavaju oksidacijske procese u organizmu. Ljudski organizam je sposoban sam proizvesti antioksidanse pomoću vitamina i minerala. Međutim, ponekad to nije dovoljno i poželjno je unositi antioksidanse putem hrane. Antioksidacijska aktivnost neke namirnice ovisit će u njenom fizikalnom stanju, kemijskom sastavu, prisutnosti svjetla, temperature, tipu supstrata i dr. Antioksidansi glavni su interes brojnih istraživanja budući da mogu odgoditi ili spriječiti kvarenje hrane, čime se smanjuje upotreba umjetnih aditiva (Kopjar, 2007; Pichler, 2011; Popović, 2019).

Fenolne spojeve u vinu, pored doprinosa boji i aromi vina, karakterizira antioksidacijska aktivnost. Doniranjem vodikovog atoma ili elektrona slobodnim radikalima, stabiliziraju ih i sprječavaju njihovo štetno djelovanje na ostale komponente vina i na ljudski organizam (Fernández-Pachón i sur., 2004; Moreno i Peinado, 2012).

S druge strane, većina ovih spojeva posjeduje hidroksilne (−OH) skupine i nezasićene dvostruke veze u svojoj strukturi što ih čini osjetljivima na oksidaciju te reagiraju sa slobodnim kisikom čineći ga nedostupnim za oksidaciju ostalih komponenata vina. Oksidacijski procesi u vinu primarno uključuju dihidroksifenolne spojeve, kao što su katehini i antocijanidini. Njihova oksidacija u dikinone rezultira nastankom hidrogen peroksida koji je potencijalni oksidant. Hidrogen peroksid može oksidirati druge komponente vina, npr. oksidacijom etanola može nastati acetaldehid. Druge komponente koje su podložne oksidaciji su sumpor dioksid, glicerol i aminokiseline. Nadalje, nastali oksidirani fenolni spojevi, odnosno kinoni reagiraju s drugim fenolnim spojevima, pri čemu dolazi do polimerizacije fenolnih spojeva i stvaranja smeđih pigmenata. U nastalom polimeru dolazi do reorganizacije strukture koja može ponovno vezati slobodni kisik, ali to rezultira nastajanjem novih kinona i hidrogen peroksida. Ukoliko nisu prisutne velike količine kisika, oksidirani fenolni spojevi mogu dovoljno brzo stvarati stabilnije polimere koji će ponovno vezati kisik ili će stupati u procese polimerizacije s drugim komponentama vina, npr. kako bi povećali svoju stabilnost, antocijani stvaraju komplekse s taninima posredstvom acetaldehida pri čemu nastaju spojevi stabilnije boje, a smanjuje se i količina acetaldehida nastalog oksidacijom etanola. Na taj način fenolni spojevi održavaju redoks potencijal vina niskim, što se smatra okosnicom za duže odležavanje vina i formiranje željenog bouqueta (Jackson, 2008).

2.4.10. Aroma vina

Aroma predstavlja jednu od najznačajnijih karakteristika prehrambenih proizvoda, koja igra veliku ulogu prilikom odabira proizvoda od strane potrošača, a može biti i indikator zrelosti, zdravstvene ispravnosti ili kvarenja. Svako voće odlikuje se karakterističnom aromom koja se nastoji u što većoj mjeri očuvati prilikom prerade voća. Aroma voća predstavlja kombinaciju velikog broja različitih kemijskih spojeva (aldehidi, ketoni, alkoholi, kiseline, esteri, terpeni i dr.). Koncentracija i kombinacija pojedinih spojeva ovisi o vrsti i zrelosti voća, načinu uzgoja, tipu tla, klimatskim uvjetima, uvjetima tijekom procesiranja (Gonçalves i sur., 2018). To vrijedi i za grožđe, budući da svaka sorta grožđa ima karakterističnu aromu, a razlike u koncentraciji pojedinih spojeva arome među istim sortama ovisi o već navedenim vanjskim čimbenicima. Biosinteza pojedinih spojeva arome predstavlja složen proces koji uključuje veliki broj biokemijskih reakcija, od biosinteze lipida, terpenoida, do oksidacijskih ili redukcijskih reakcija, metiliranja, aciliranja i slično, pri čemu vrlo važnu ulogu igraju enzimi koji su prirodno prisutni u grožđu. Međutim, tijekom prerade grožđa, uslijed mehaničkog djelovanja (muljanje, runjenje, prešanje), dodatka kvasaca (sintetiziraju različite enzime), biokemijskih reakcija tijekom fermentacije ili zbog različitih uvjeta skladištenja, početna aroma grožđa se mijenja te dolazi do formiranja arome vina (Moreno i Peinado, 2012).

Aroma vina predstavlja kombinaciju različitih spojeva arome koji potječu, najprije, od samog grožđa, a kasnije se razvijaju kroz proces fermentacije i fazu sazrijevanja. Bitno je znati odrediti kada je grožđe pogodno za berbu te kako ga preraditi, a da se pri tome sačuva što više aromatskih spojeva. S obzirom na porijeklo pojedinih spojeva, aromu vina možemo podijeliti na primarne (sortne) arome, sekundarne (fermentacijske) arome i tercijarne arome („*bouquet*“) (Belda i sur., 2017).

Primarne arome

Pod pojmom primarne arome podrazumijevaju se aromatski spojevi prisutni u samom grožđu, a na osnovu kojih se jedna sorta razlikuje od druge. Mogu se podijeliti na dvije glavne skupine:

- slobodne aromatske molekule: metoksipirazini, tioli i monoterpeni te

- prekursori: nezasićene masne kiseline, fenolne kiseline, S-cistein konjugati, dimetilsulfid prekursori, karotenoidi i glikokonjugati (Gamero Lluna, 2011; Loscos i sur., 2009).

Spojevi primarne arome stvaraju se u grožđu tijekom njegovog zrenja, a njihova koncentracija je najveća u pokožici i sloju odmah ispod nje (Padilla i sur., 2016). Koji spojevi i koliko će ih se stvarati u grožđu ovisit će o samoj sorti, ali i o klimatskim uvjetima, sastavu tla te primijenjenim vinogradarskim tehnikama (Gamero Lluna, 2011). Sinteza glikozidnih prekursora arome tijekom zrenja grožđa ovisit će o temperaturnim promjenama i vremenu izloženosti suncu (Bureau i sur., 2000a; Bureau i sur., 2000b; Gamero Lluna, 2011). Ključan proces tijekom proizvodnje vina, posebice crnog vina, je maceracija prije fermentacije, kojom se omogućuje ekstrakcija ovih spojeva u što većoj količini iz pokožice u mošt (Gamero Lluna, 2011). Terpeni su spojevi koji su uvelike zaslužni za karakterističnu aromu pojedine sorte, a njihova koncentracija je, najčešće, niža od 1 mg/L (Moreno i Peinado, 2012). Razlikuju se slobodni (odgovorni za aromu grožđa i mošta) i vezani terpeni (prekursori spojeva arome u vinu; vezani na šećere kao mono- i diglikozidi). Djelovanjem enzima glikozidaza tijekom maceracije ili fermentacije na vezane terpene, nastat će znatno aromatičniji slobodni terpeni ili terpenski alkoholi (linalool, nerol, geraniol itd.) koji će imati veliku ulogu u cjelokupnoj aromi vina (Michlmayr i sur., 2012).

Sekundarne arome

Spojevi sekundarne arome nastaju tijekom fermentacije, djelovanjem kvasaca i bakterija mliječne kiseline. Alkoholna fermentacija predstavlja anaerobnu transformaciju šećera u moštu (djelovanjem kvasaca) u etanol i ugljikov dioksid, dok se tijekom malolaktičke fermentacije jača jabučna kiselina prevodi u blažu mliječnu djelovanjem bakterija mliječne kiseline (Moreno i Peinado, 2012). Međutim, metabolizam navedenih mikroorganizama rezultira i sintezom brojnih sekundarnih produkata koji doprinose ukupnoj aromi vina. Najvažnije skupine spojeva sekundarne arome su: viši alkoholi (propan-1-ol, izobutilni alkohol, 2-fenetiletanol, izoamil

alkoholi), acetat esteri, etil esteri, aldehidi (acetaldehid, propanal, heksanal, benzaldehid), ketoni (diacetil, acetoin), monoterpenski alkoholi (linalool, geraniol, nerol).

Tercijarne arome

Tercijarne arome ili *„bouquet“* nastaje tijekom odležavanja, kao posljedica različitih kemijskih i enzimskih reakcija. Odležavanje, odnosno sazrijevanje vina može se odvijati u drvenim bačvama (oksidativni *„bouquet“*) ili u bocama (rekduktivni *„bouquet“*). Nastaju novi spojevi ili se modificiraju već postojeći pridonoseći na taj način aromi konačnog proizvoda (Gamero Lluna, 2011). Tijekom odležavanja dolazi do promjene u sastavu terpenskih spojeva, npr. koncentracija linaloola kod nekih sorti počinje opadati nakon 20 mjeseci odležavanje (Oliveira i sur., 2008). Aromatski spojevi u vinu se najčešće dijele na 6 osnovnih skupina: kiseline, alkoholi, esteri, karbonilni spojevi (aldehidi i ketoni), terpeni i hlapivi fenoli.



Slika 16 Podjela arome vina prikazana na primjeru crnog vina Cabernet Sauvignon (Puckette, 2016)

2.5. MEMBRANSKI PROCESI

Membranski procesi (reverzna osmoza i nanofiltracija) se još od 1980-tih godina koriste kao brze i jednostavne separacijske metode na području prehrambenog inženjerstva i biotehnologije. Intenzivnim ulaganjima i razvojem novih, jeftinijih i selektivnijih membrana, ovi procesi imaju sve veću primjenu i postaju sve više zastupljeni u mnogim industrijama, pa tako i u prehrambenoj industriji te vinarstvu. Koncentriranje reverznom osmozom i nanofiltracijom daje brojne mogućnosti obrade voćnih sokova, vina i mošta, kao što su koncentriranje u svrhu povećanja udjela suhe tvari, povećanja udjela šećera, korekcije kiselina i arome, korekcije udjela alkohola i drugo (Wollan, 2010).

Temelj membranskih procesa čini primjena selektivnih i polupropusnih membrana koje početnu otopinu razdvajaju na dvije frakcije:

- **retentat** ili **koncentrat** – frakcija koja zaostaje na površini membrane i u kojoj koncentracija otopljenih tvari raste tijekom postupka koncentriranja te
- **permeat** – frakcija koja prolazi kroz membranu i u kojoj se koncentracija otopljenih tvari snižava tijekom postupka koncentriranje.

Sastav retentata i permeata ovisit će prvenstveno o svojstvima membrana te procesnim parametrima (npr. tlak, temperatura) koji su primijenjeni tijekom procesa koncentriranja (Ganorkar i sur., 2012).

Prednosti membranskih procesa su:

- niske energetske potrebe;
- rad u kontroliranim temperaturnim intervalima;
- kontinuirano zadržavanje;
- mogućnost kombiniranja s drugim separacijskim metodama;
- mogućnost prenošenja u veće mjerilo;
- podesivost sustava (Popović, 2019).

Nedostaci membranski procesa su:

- polarizacija koncentracije;
- začepljenje membrana;
- relativno kratak životni vijek membrana (< 10 godina);
- faktor prenošenja u veće mjerilo je uglavnom linearan (Popović, 2019).

2.5.1. Podjela membranskih procesa

Membranski procesi se mogu podijeliti s obzirom na cilj separacije, pokretačku silu, mehanizam zadržavanja, strukturu membrane te faze u kontaktu. Cilj membranskih procesa može biti:

- čišćenje ili uklanjanje nepoželjnih spojeva (npr. čišćenje vode i uklanjanje soli ili organskih tvari iz nje);
- koncentriranje (voćnih sokova, mošta, vina);
- razdjeljivanje smjesa na dva ili više dijelova (npr. izdvajanje komponenti iz sirutke u tehnologiji mlijeka);
- posredovanje pri reakciji (kemijske i biokemijske reakcije s potrebom odvođenja produkta kroz membranu u svrhu povećanja brzine reakcije) (Mulder, 1996; Popović, 2019).

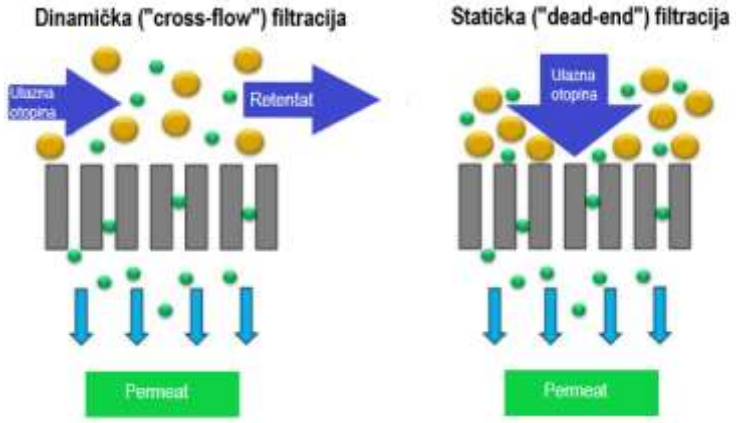
Podjela membranskih procesa s obzirom na vrstu pokretačke sile, mehanizam zadržavanja i strukturu membrane dana je u **Tablici 4**.

Tablica 4 Podjela membranskih procesa (Dolar, 2009)

Membranski proces	Pokretačka sila	Mehanizam zadržavanja	Struktura membrane
Mikrofiltracija	Tlak (Δp)	Zadržavanje čestica po veličini	Makroporozna
Ultrafiltracija	Tlak (Δp)	Zadržavanje čestica po veličini	Mezoporozna
Nanofiltracija	Tlak (Δp)	Zadržavanje čestica po veličini, interakcija otopljenih tvar s membranom, električno odbijanje	Mikroporozna
Reverzna osmoza	Tlak (Δp)	Zadržavanje čestica po veličini, interakcije otopljenih tvari s membranom, električno odbijanje	Guste
Pervaporacija	Aktivitet (tlak)	Otapanje/difuzija	Guste
Membranska destilacija	Aktivitet (temperatura)	Isparavanje	Makropore
Dijaliza	Aktivitet (koncentracija)	Difuzija	Mezopore
Elektrodijaliza	Električni potencijal	Ionska izmjena	Izmjena iona

S obzirom na tok tečenja ulazne otopine u odnosu na membranu, membranska filtracija može biti (**Slika 17**):

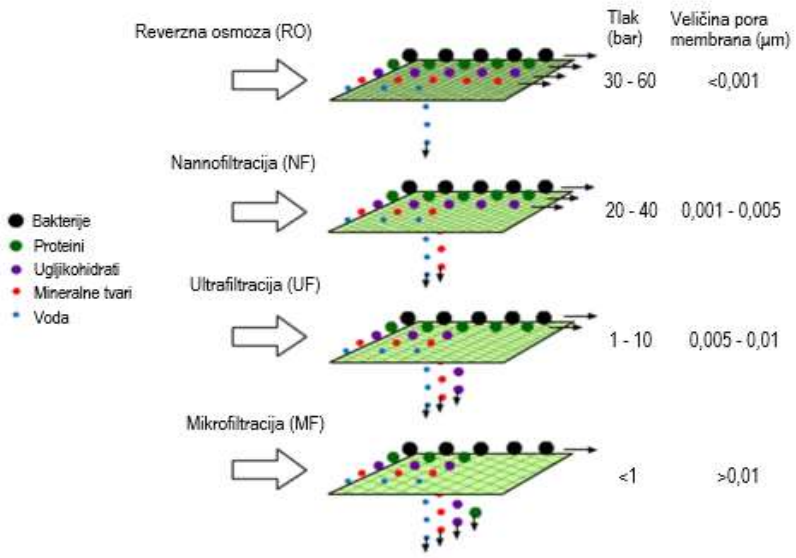
- **„dead-end“** ili **statička filtracija** – ulazna otopina struji okomito na membranu i prolazi cijelim volumenom kroz nju, a membrana pregrađuje tok ulazne otopine. Čestice koje zaostaju na membrani (veće od otvora pora) stvaraju kontinuirani sloj na površini membrane koji se naziva filterski kolač. To dovodi do začepljenja membrane i smanjenja protoka permeata kroz membranu. Što je veća debljina filterskog kolača na površini membrane, to se proces filtracije sve više usporava, što na kraju rezultira potpunom blokadom membrane i prestankom filtracije. Polarizacija koncentracije (povišenje koncentracije otopljenih tvari na površini membrane i pojava gradijenta koncentracije na granici membrana/ulazna otopina) je kod statičke filtracije velika, a kapacitet zadržavanja čestica mali (Calabro i Basile, 2011; Popović, 2019);
- **„cross-flow“** ili **dinamička filtracija** – ulazna otopina struji uzdužno (tangencijalno) po površini membrane, a permeat poprečno, odnosno unakrsno (eng. *cross-flow*). Brzina strujanja ulazne otopine, odnosno retentata, mora biti takva da se osiguraju turbulentni uvjeti strujanja (Re > 3000) tako da čestice koje su veće od otvora pora membrana i koje bi se zadržale na membrane struje zajedno s retentatom. Time se postiže kontinuirano ispiranje površine membrane čime su znatno smanjeni polarizacija koncentracije i formiranje filterskog kolača na površini membrane (Calabro i Basile, 2011; Choi i sur., 2005).



Slika 17 Prikaz dinamičke i statičke membranske filtracije (Ketola, 2016)

Mikrofiltracija (MF), ultrafiltracija (UF), nanofiltracija (NF) i reverzna osmoza (RO) danas imaju najveću praktičnu primjenu. Zajedničko im je primjena polupropusnih membrana i povišenog tlaka kao pokretačke sile, a osnovna razlika je struktura i veličina pora membrana te visina tlaka koji je potrebno primijeniti. Mikrofiltracijske membrane imaju najveće pore, dok

membrane za reverznu osmozu imaju najmanje, zbog čega je kod RO za protok permeata potrebno primijeniti i viši tlak (**Slika 18**).



Slika 18 Podjela tlačnih membranskih procesa (Popović, 2019)

Za koncentriranje otopina najučinkovitije su membrane za nanofiltraciju i reverznu osmozu zbog malog promjera pora. Kod ova dva membranska procesa čestice se na membrani zadržavaju prema različitim mehanizmima, i to prema veličini i molekulskoj masi čestica, na osnovu interakcija s membranom te na osnovu polarnosti, odnosno nepolarnosti čestica i membrane. Iz tog razloga, za opisivanje karakteristika membrana za RO i NF najčešće se koristi pojam najmanje molekulske mase koju membrana može zadržavati (eng. *molecular weight cut-off, MWCO*), izražene u daltonima (1 Da = 1 g/mol) (Rayess i Mietton-Peuchot, 2016). Stoga, ako MWCO vrijednost neke membrane iznosi 200 Da, to znači da će ta membrana zadržavati visok postotak spojeva čija je molekulska masa veća od 200 g/mol.

2.5.2. Nanofiltracija

Nanofiltracija (NF) je membranski proces za koji se koriste membrane čiji su promjeri pora oko 1 nm (10^{-3} do 10^{-2} µm), a tlakovi koji se primjenjuju najčešće su između 10 i 40 bara. MWCO vrijednost NF membrana se kreće od 200 do 1000 Da, što ovisi o proizvođaču i namjeni membrane (Cassano i sur., 2019). Membrane za NF su najčešće kompozitne, sastavljene od dva sloja. Potporni sloj se izrađuje od polimernih materijala (Popović, 2019). Prema svojim karakteristikama, NF je membranski proces koji se svrstava između RO i UF. Iako NF membrane imaju nešto veći promjer pora od RO membrana što rezultira propuštanjem i nekih poželjnih spojeva iz retentata u permeat, prednosti NF u odnosu na RO je manja potrošnja energije, mogućnost primjene nižih tlakova te lakše čišćenje membrana budući da začepljenja membrane nisu tako česta. Permeat kod procesa NF sadrži manje vodu, anorganske i

organske ione, organske soli, neke spojeve arome manje molekulske mase i dr. Zadržavanje dvovalentnih iona na NF membrana (od 90 do 99%) je veće u odnosu na zadržavanje jednovalentnih iona (od 20 do 80%) (Wang i Zhou, 2013).

Primjena NF je raznolika, a najčešće se koristi za obradu površinskih i bunarskih voda (za smanjenje udjela otopljenih minerala, smanjenje tvrdoće vode, uklanjanje klorida, organskih tvari, bakterija, virusa, proizvodnju pitke vode), zatim za koncentriranje otopina u različite svrhe (u mljekarskoj industriji za izdvajanje sirutke, kod proizvodnje voćnih sokova za koncentriranje, korekciju šećera i kiselina, u konditorskoj industriji za predkoncentriranje otopine šećera iz repe ili trske, u vinarstvu za korekciju kiselina i šećera u moštu i vinu te izdvajanje etanola i octene kiseline) i slično (Bellona, 2019; Rayess i Mietton-Peuchot, 2016).

2.5.3. Reverzna osmoza

Reverzna osmoza (RO) je membranski proces čiji je promjer pora manji od 1 nm (10^{-4} do 10^{-3} μm), MWCO vrijednost se obično kreće oko 200 Da, a tlakovi koji se primjenjuju su najčešće od 30 do 60 bara, pa i više u novijim uređajima. Membrane zadržavaju male molekule (red veličine kao i molekule vode) što dovodi do pojave visokog osmotskog tlaka na površini membrane, pa je iz tog razloga potrebno primijeniti i viši radni tlak kako bi se nadvladao osmotski te kako bi se osigurao protok permeata (Rastogi, 2017). Kao i kod NF, membrane za RO su sastavljene od dva sloja, s potpornim poroznim slojem od polimernog materijala. Gornji sloj može biti izrađen od istog materijala kao i potporni sloj, te je protok permeata u tom slučaju obrnuto proporcionalan debljini membrane, pa takve membrane imaju asimetričnu strukturu gornjeg sloja (debljina ≤ 1 μm). Kod kompozitnih membrana, gornji i potporni sloj su izrađeni od različitog materijala (Popović, 2019).

RO ima široku primjenu u industriji: demineralizacija i koncentriranje sirutke ili mlijeka, koncentriranje voćnih sokova, mošta ili vina (smanjenje udjela alkohola, korekcija kiselina, šećera, arome i pigmenata), koncentriranje rijetkog soka tijekom proizvodnje šećera i umjetnih sladila, desalinizacija morske i bočate vode, obrada otpadne vode, pročišćavanje biotehnoloških proizvoda u farmaceutskoj industriji, koncentriranje raznih ekstrakata i mirisa i slično (Cheryan, 2000; Popović, 2019).

2.5.4. Podjela membrana i tipovi materijala za membrane

Postoji nekoliko podjela membrana koje se koriste za provedbu membranskih procesa. S obzirom na mehanizam separacije, membrane mogu biti:

- **porozne** – separacija se odvija na osnovu razlike u veličini pora i molekula (efekt sita). Prema veličini pora razlikuju se makroporozne (> 50 nm), porozne (2 – 50 nm) i mikroporozne (< 2 nm). Ovaj tip membrana koristi se kod MF, UF te NF;
- **neporozne** – separacija se odvija na osnovu različite topivosti i brzine difuzije kroz membranu. Ovaj tip membrana se najčešće koristi za RO;
- **membrane s ionskom izmjenom** – neporozne membrane koje imaju fiksirane pozitivne ili negativne grupe. Ovaj tip membrana se najčešće koristi za elektrodijalizu pri desalinizaciji morske vode i obradi industrijskih otpadnih voda (Mulder, 1996; Popović, 2019).

S obzirom na strukturu materijala od kojeg su izrađene, membrane mogu biti:

- **homogene** – membrane izrađene od samo jedne vrste materijala;
- **heterogene** – membrane izrađene od više vrsta materijala.

Prema fizičkoj strukturi, membrane mogu biti:

- **simetrične** – membrane čija je debljina najčešće od 10 do 200 μm. Smanjenjem debljine membrane povećava se njena permeabilnost. Simetrične membrane mogu biti porozne (imaju dovoljno velike pore da se transport kroz membranu odvija bez obzira na pogonsku silu) i neporozne (transport se odvija između lanaca makromolekula tvari membrane);
- **asimetrične** – membrane koje nemaju jednaku strukturu niti istu permeabilnost po poprečnom presjeku. Sastoje se od dva dijela izrađena od istog materijala: poroznog nosača, debljine 50 do 150 μm te tankog gustog sloja koji se nalazi na nosaču, debljine 0,1 do 0,5 μm;
- **kompozitne** – asimetrične membrane koje se sastoje od tankog gustog sloja i poroznog nosača, čije su debljine jednake kao i kod gore opisanih asimetričnih membrana, ali su tanki gusti i porozni sloj izrađeni od različitog materijala.

Prema kemijskom sastavu, membrane mogu biti:

- **organske** – membrane izrađene od organskih polimera;
- **anorganske** – membrane izrađene od keramike, metala, stakla.

S obzirom na geometrijski oblik, membrane mogu biti:

- **ravne** (**planarne**) – membrane u obliku ravnih, tankih folija koje su smještene na porozni nosač. Mogu biti pločaste ili spiralno namotane;

- **cijevne** – membrane u obliku višekanalne cijevi (promjer > 3 mm), izrađene od polimernih materijala, keramike, metala ili stakla;
- **kapilarne** – membrane u obliku kapilarnih cjevčica čiji promjer može biti nekoliko mm ili nekoliko μm;
- **u obliku šupljih vlakana** – membrane u obliku poroznih niti čiji je promjer kao i kod kapilarnih membrana (Mulder, 1996; Popović, 2019).

Materijali za izradu membrana

Kemijska svojstva membrana uvjetovana su vrstom materijala od kojeg su načinjene. Anorganske membrane se najčešće izrađuju od keramike, i takve membrane su čvrste, ali skupe. Odlikuje ih visoka termička i kemijska otpornost i najčešće se primjenjuju za separaciju organskih otapala, za čiju separaciju nije moguće primijeniti organske polimerne membrane budući da bi došlo do oštećenja ili otapanja membrane (Mulder, 1996).

Najčešće se za izradu membrana za MF, UF, NF i RO koriste sintetički organski polimeri, kao što su celuloza i njeni derivati, poliamidi, polipiperazinamid, polihidroksimetil akrilamid, polivinilfluorid, politetrafluoretilen, polietilen, polikarbonat i dr. Celulozni acetat jedan je od prvih materijala za izradu membrana za RO, kojim je područje primjene RO znatno prošireno. Membrane od celuloza acetata dobro zadržavaju šećere i druge veće molekule, ali propuštaju poželjne tvari arome i boje (Catarino i Mendes, 2011; Jiao i sur., 2004; Schmidtke i sur., 2012). Poliakrilonitril se uglavnom koristi za izradu membrana za UF. Od polisulfona i polietersulfona mogu se izraditi hidrofobne membrane s dobrim kemijskim, termičkim i mehaničkim svojstvima (Popović, 2019).

Danas su najčešće poliamidne membrane, budući da su pokazale najbolja svojstva tijekom koncentriranja voćnih sokova, mošta, vina i piva, npr. visok stupanj zadržavanja tvari arome i boje, visoka permeabilnost za vodu i etanol i slično (Falkenberg, 2014). Polivinifluoridne membrane, u usporedbi s poliamidnim, imaju visok stupanj propusnosti i slabo zadržavaju spojeve topive u vodi (Labanda i sur., 2009). Membrane načinjene od polipiperazinamida su se pokazale dobre za koncentriranje vina, ali, za razliku od poliamidnih membrana, imaju hrapaviju površinu što pospješuje začepljenje membrane na koje se ne može utjecati ni primjenom višeg radnog tlaka (M Cai i sur., 2017)

2.5.5. Tipovi modula

Modul predstavlja najmanju jedinicu membranskog filtera koji se sastoji od kućišta, jedne ili više membrana, potrebne potporne strukture, dovoda ulazne otopine i odvoda retentata i permeata. Konstrukcije modula moraju biti takve da se aktivna površina membrana što bolje iskoristi u malom volumenu, da se postigne velika otpornost modula na radni tlak i koroziju, da

se osiguraju dobri hidraulički uvjeti i turbulencija u svrhu smanjenja polarizacije koncentracije i stvaranja taloga, da se omogući jednostavna zamjena i čišćenje membrana te da pad tlaka u modulu ne bude previsok (Krause i Thiemig, 2013). Veći broj modula povezanih serijski ili paralelno čine stupanj membranskog postrojenja. Tako postavljene membrane i moduli omogućuju jednostavnu izmjenu kapaciteta nekog membranskog postrojenja smanjenjem ili povećanjem broja modula, ali i jednostavnu zamjenu modula ukoliko postoji za to potreba. Nadalje, spajanjem manjeg broja modula mogu se izraditi uređaji manjih kapaciteta za laboratorijske potrebe, a povećanjem broja modula povećava se kapacitet uređaja kako bi se zadovoljile potrebe industrije. S obzirom na konstrukcijska rješenja, postoji nekoliko tipova modula: pločasti, cijevni, spiralni, kapilarni i modul sa šupljim vlaknima (Popović, 2019).

Pločasti modul

Pločasti modul je dizajniran među prvima za provedbu membranskih procesa. Glavne karakteristika pločastog modula (**Slika 19**) je da su ravne membrane postavljene na noseće ploče koje im služe kao potpora te omogućuju odvod permeata kroz unutrašnjost ispunjenu brojnim žlijebovima. Između tako postavljenih membrana i nosećih ploča nalazi se razdjelna ploča koja svojom rebrastom površinom osigurava protok retentata. Membrane, noseće i razdjelne ploče su postavljene na zajedničku vertikalnu ili horizontalnu osovinu. Pločasti moduli ne mogu podnijeti jako visoke tlakove, ali omogućuju vrlo jednostavnu izmjenu i čišćenje membrana. Koriste se za provedbu procesa mikrofiltracije, ultrafiltracije, nanofiltracije, reverzne osmoze te elektrodijalize (Cui i sur., 2010; Popović, 2019).



Slika 19 Primjer pločastog modula (Kay Gunther, 2006)

Cijevni modul

Cijevni moduli (**Slika 20**) se sastoje od određenog broja cijevnih membrana smještenih unutar šuplje cijevi napravljene od poroznog, nehrđajućeg materijala (keramika ili plastični polimeri) koji služi kao potpora. Promjer cijevi se najčešće kreće između 5 i 25 mm, a dužina cijevi

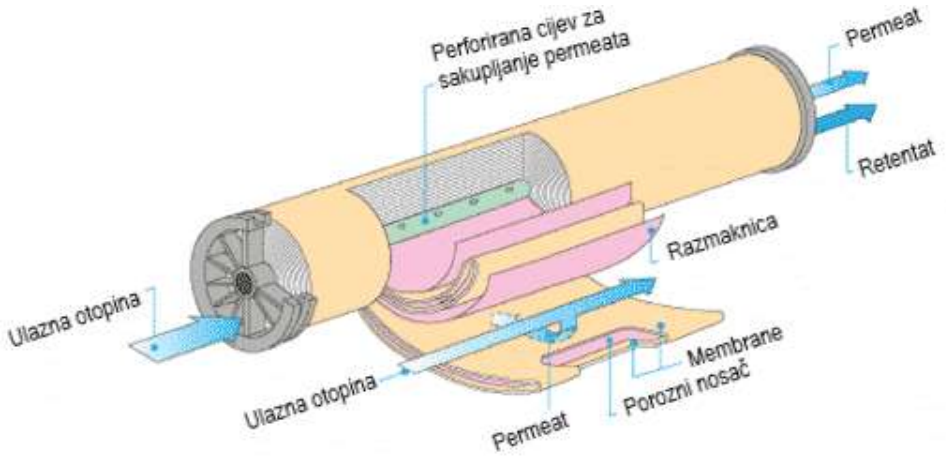
između 0,6 i 6 m. Tako napravljene cijevi mogu biti paralelno ili serijski povezane i smještene u zajedničko kućište kako bi se postigla potrebna aktivna površina membrana, povećao kapacitet uređaja i smanjila cijena proizvodnje. Vrlo se često koriste keramičke cijevne membrane koje imaju asimetričnu strukturu te heksagonalni oblik. Takve membrane se sastoje od cijevi čija je unutrašnjost obložena tankim slojem od aluminija, titana, silicija ili cirkonija. Prednosti takvih membrana i modula je visoka otpornost na temperaturu i mehanička oštećenja (Popović, 2019). Karakteristike cijevnog modula su mogućnost filtracije otopina koje sadrže relativno velike čestice, membrane se lako čiste, protok retentata je turbulentan i potrebna je velika snaga pumpe koja recirkulira retentat, a od svih tipova modula, imaju najmanju aktivnu površinu s obzirom na prostor koji zauzimaju (Cui i sur., 2010).



Slika 20 Primjer cijevnog modula (PCI Membranes, https://www.pcimembranes.com/products/c10-series-tubular-membrane-modules/)

Spiralni modul

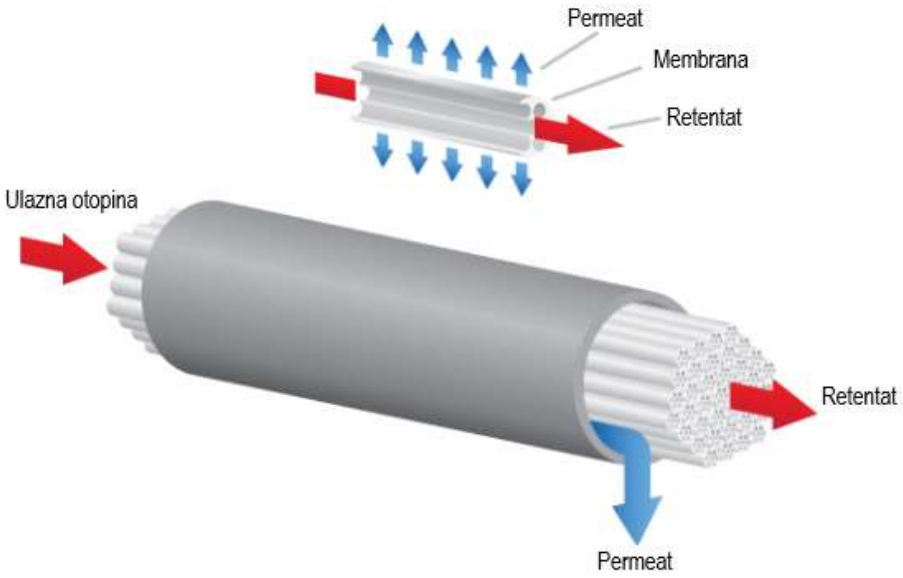
Spiralni modul se javlja kao alternativa cijevnom ili pločastom modulu. Sastoji se od spiralno smotanih ravnih membrana. Između membrana se nalazi porozni nosač za prikupljanje permeata, kao i kod pločastog modula (**Slika 21**). Tako spojene dvije membrane između kojih je porozni nosač čine tzv. „sendvič“. Između svakog „sendviča“ nalazi se porozni materijal koji omogućava turbulentno strujanje retentata. U središtu modula nalazi se perforirana cijev koja služi za odvod permeata, dok retentat izlazi na kraju modula koji je suprotan onome na koji ulazi dobavna otopina. Prednosti ovakvog modula su velika aktivna površina membrana na malom prostoru, odnosno u malom volumenu modula, budući da su spiralno namotane. Nadalje, tako postavljene membrane i potporni materijali omogućuju dvostruki tok retentata – spiralni i uzdužni, a moguće ga je koristiti za sve vrste tlačnih membranskih procesa (MF, UF, NF i RO). Najčešće se koriste za desalinizaciju vode zbog velikog kapaciteta i mogućnosti obrade velikih količina vode u jednom dana (oko 1,5 milijuna m^3). S druge strane, spiralni moduli se ne mogu mehanički čistiti, pa je češće potrebno kemijsko čišćenje, a prilikom začepljenja membrana, nije moguće zamijeniti samo pojedine membrane, nego se mora zamijeniti cijeli modul (Lee, 2020; Popović, 2019; Scott, 1998).



Slika 21 Primjer spiralnog modula (Pawar, 2018)

Kapilarni modul

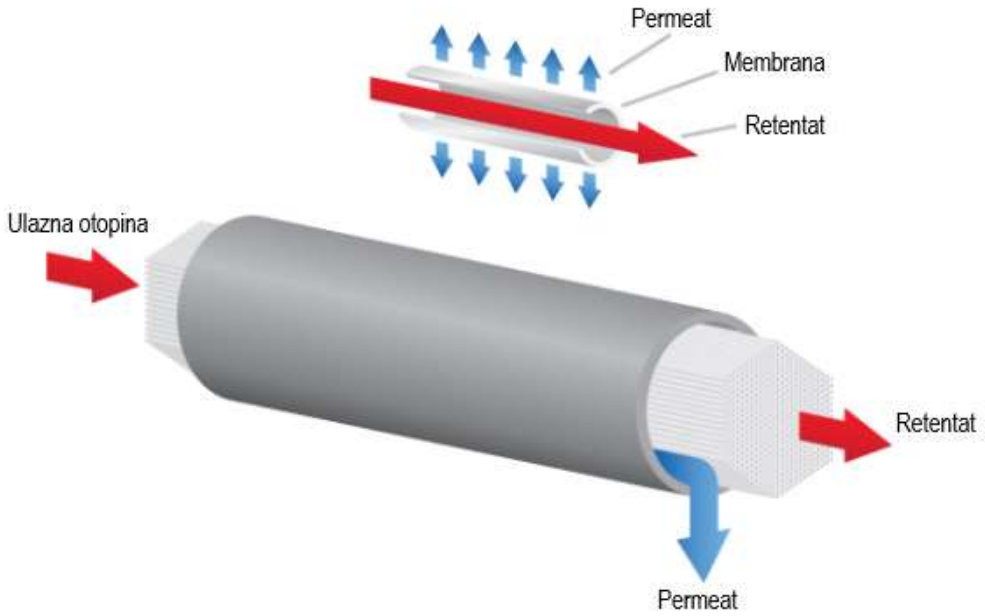
Kapilarni modul (**Slika 22**) se sastoji od kućišta u kojem se nalazi veći broj kapilara (45 do 3000), odnosno snop tankih cjevčica promjera 0,2 do 1,7 mm, povezanih s kućištem silikonskom gumom ili epoksi smolama na krajevima. Permeat kod ovakvih membrana se može skupljati izvan ili unutar kapilare, odnosno aktivna površina može biti unutar ili izvan nje. Konstrukcija ovog modula omogućava veliku aktivnu površinu membrana u malom volumenu modula te dinamičku filtraciju, budući da retentat struji uzdužno preko površine membrane kroz kapilare i izlazi na kraju kućišta, dok permeat izlazi poprečno kroz kapilare te se sakuplja u prostoru između kapilara odakle se odvodi van. Veća aktivna površina daje kapilarnom modulu prednost u odnosu na cijevni modul, ali zbog velike gustoće kapilara i njihovog malog promjera, češće je i teže začepljenje membrana. Međutim, pranje uređaja se uspješno provodi stvaranje kontra tlaka s vanjske strane (Mulder, 1996; Popović, 2019; Scott, 1998).



Slika 22 Primjer kapilarnog modula (Synder Filtration, https://synderfiltration.com/learning-center/articles/module-configurations-process/capillary-filtration/)

Modul sa šupljim vlaknima

Moduli sa šupljim vlaknima su vrlo slični kapilarnim vlaknima. Razlika je u tome što se u kućištu ovih modula nalaze membrane u obliku šupljih vlakana (50 do 3000 vlakana) koja su upakirana u snopove (**Slika 23**) i povezana epoksi smolama na krajevima. Snopovi vlakana su usađeni u ploče koje razdvajaju prostor s visokim i niskim tlakom. Gustoća snopova vlakana ovisi o njihovu promjeru i razmaku između vlakana, a može biti i do 30 000 m^2/m^3, što ponovno predstavlja veliku aktivnu površinu u malom volumenu modula. Moduli sa šupljim vlaknima primjenjivi su za proces MF, UF, NF i RO, a vrlo često se primjenjuju za pročišćavanje morske vode (promjer vlakna je tada 50 do 100 μm). Materijali od kojih se izrađuju vlakna su različiti polimerni materijali, npr. celulozni acetat, aromatski poliamid i slično (Popović, 2019). U središtu modula, između snopova vlakana, nalazi se središnja perforirana cijev kroz koju se uvodi ulazna otopina u modul. Kao i kod kapilarnog modula, retentat može strujati izvan ili unutar vlakana, ovisno o konstrukciji. Pored velike aktivne površine membrana, prednosti ovog modula uključuju i veliku fleksibilnost vlakana, mogućnost ispiranja vlakana s povratnim tokom sa strane gdje izlazi permeat te mogućnost filtracije i koncentriranja otopina s visokim udjelom suhe tvari. Glavni nedostaci uključuju teža začepljenja membrana, odnosno vlakana, puknuće vlakana usred filtracije te nešto veći troškovi u odnosu na procese provedene s drugim modulima (Scott, 1998; Yasukawa i sur., 2018).



Slika 23 Primjer modula sa šupljim vlaknima (Synder Filtration, https://synderfiltration.com/learning-center/articles/module-configurations-process/hollow-fiber-membranes/)

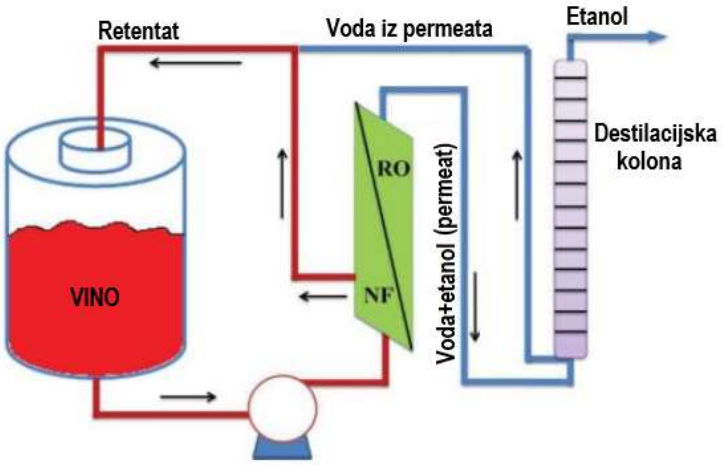
2.5.6. Primjena RO i NF u vinarstvu

Zbog svojstava njihovih membrana, reverzna osmoza i nanofiltracija su se pokazale kao jednostavni i izrazito učinkoviti separacijski postupci za koncentriranje mošta i vina. Mali promjer pora omogućuje zadržavanje većine organskih molekula (šećera, kiselina, tvari boje i arome i slično), dok u permeat najvećim dijelom prolazi voda, etanol (u slučaju koncentriranja vina) te spojevi izrazito male molekulske mase. Stoga, RO i NF se u vinarstvu često koriste za koncentriranje mošta i vina uz minimalnu degradaciju njihovih komponenata. Mošt se uglavnom koncentrira ukoliko je potrebno korigirati udio šećera ili kiselina. Koncentrirani mošt se može koristiti i kao zaslađivač ili u različitim omjerima razrijediti s permeatom, ovisno o tome što se želi dobiti. Izbor membranskog procesa za koncentriranje mošta ovisi o tome do kojeg udjela šećera se mošt želi koncentrirati. Šećeri imaju veliku molekulsku masu te tijekom koncentriranja stvaraju sloj (gel) na površini membrane što uzrokuje stvaranje visokog osmotskog tlaka, začepljenje membrane i smanjenje protoka permeata, tj. smanjuje se učinkovitost procesa (Salgado i sur., 2013). Membrane za NF imaju veću permeabilnost od onih za RO te se mošt može brže i jednostavnije koncentrirati uz manju potrošnju energije. S druge strane, veća permeabilnost može rezultirati i promjenom u sastavu polifenola, jabučne i vinske kiseline, ali se ti spojevi mogu naknadno rekuperirati iz permeata procesom RO (Kiss i sur., 2004; Pati i sur., 2014; Versari i sur., 2003). Stoga se vrlo često za koncentriranje mošta koristi kombinacija dva membranska procesa: mikrofiltracija ili nanofiltracija za koncentriranje mošta te reverzna osmoza za rekuperaciju poželjnih spojeva iz permeata (Rektor i sur., 2004).

NF i RO se mogu koristiti za koncentriranje vina i to u svrhu korekcije ili povećanja udjela aromatskih i fenolnih spojeva, korekcije udjela šećera i kiselina, uklanjanje nepoželjnih aromatskih spojeva, npr. 4-etilfenol ili 4-etilgvajakol (Ugarte i sur., 2005), zatim za korekciju udjela octene kiseline (Jullok i Chie Hang, 2020), ekstrakciju fenolnih spojeva iz masulja ili vina (Arboleda Mejia i sur., 2020; Yammine i sur., 2019) te vrlo često za smanjenje ili korekciju udjela etanola u vinu. U posljednjih nekoliko godina može se primijetiti da udio alkohola u vinima je sve veći, što se vrlo često pripisuje porastu udjela šećera u moštu (zbog promjene klimatskih uvjeta). Mnoge države, posebice članice Europske unije, zahtijevaju smanjenje i ograničenje udjela alkohola u vinima, u svrhu redukcije zlouporabe alkohola i štetnog utjecaja na zdravlje. U nekim državama se uvodi dodatni porez na vina s udjelom alkohola većim od zakonom propisanim za pojedini tip vina. Iako su do danas razvijene predfermentativne, fermentativne te postfermentativne metode redukcije alkohola u vinima, pri tome se mora obratiti pozornost na utjecaj smanjenja udjela alkohola na kvalitetu i organoleptička svojstva vina te zahtjeve potrošača (Jordão i sur., 2015; Sam i sur., 2021). Smanjenje udjela ili uklanjanje etanola iz vina reverznom osmozom ili nanofiltracijom zahtjeva najprije određivanje optimalnih procesnih parametara, kao što su tlak, temperatura, frekvencija rada pumpe, brzina

protoka permeata i slično, kako bi se osigurao visok protok etanola kroz membrana, a s druge strane kako bi se što više sačuvale poželjne aromatske, bioaktivne i druge komponente u vinu (Massot i sur., 2008; Pham i sur., 2019).

Za potpunu ili djelomičnu dealkoholizaciju vina najčešće se primjenjuju celuloza acetatne ili celuloza triacetatne membrane koje su visoko permeabilne za vodu i etanol, a ostvaruju visok postotak zadržavanja visokomolekularnih komponenti, proteina, polifenola, ugljikohidrata itd. Pored odgovarajućih membrana, bitno je osigurati i odgovarajuće procesne parametre tijekom dealkoholizacije vina. Primjenom visokog radnog tlaka ubrzava se protok permeata, ali brže dolazi do začepljenja membrane što dovodi do većeg zadržavanja spojeva u retentatu (veće je zadržavanje i etanola) te povišenja radne temperature koja se mora sniziti kako bi se spriječila termička degradacija sastojaka vina (Catarino i Mendes, 2011). Uz to, polarizacija koncentracije i povećanje osmotskog tlaka na membrani s vremenom sve više otežavaju protok etanola u permeat te se proces dealkoholizacije obavezno provodi uz recirkulaciju retentata i uz tangencijalno strujanje retentata („cross-flow“ proces). Nadalje, za proizvodnju bezalkoholnog vina ili vina s udjelom etanola manjim od 5 vol.%, prednost imaju kontinuirani procesi u odnosu na šaržne. Kontinuirani proces (**Slika 24**) podrazumijeva neprestano razrjeđenje retentata na određeni volumen kako bi se snizila koncentracija suhe tvari u njemu, što smanjuje viskoznost retentata, začepljenje membrane, osmotski tlak te olakšava protok vode i etanola. Razrjeđenje retentata uz dodatak vode se izbjegava budući da se dodatak vode u vino smatra patvorenjem. Stoga, izdvojeni permeat se obrađuje dodatnim postupkom (reverznom osmozom, adsorpcijom, destilacijom, pervaporacijom) kako bi se izdvojio etanol iz njega, a ostatak permeata (voda i eventualno neke kiseline, spojevi arome) se vraćaju u retentat (Catarino i Mendes, 2011; Massot i sur., 2008; Saha i sur., 2013; Zamora, 2016).



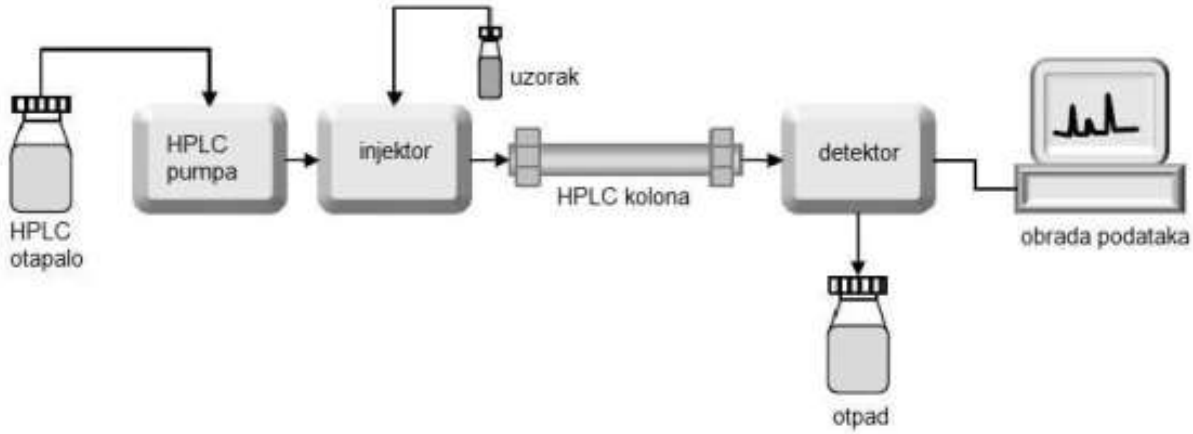
Slika 24 Shematski prikaz postupka dealkoholizacije vina pomoću nanofiltracije ili reverzne osmoze uz obradu permeata u destilacijskoj koloni (Rayess i Mietton-Peuchot, 2016)

2.6. KROMATOGRAFSKE METODE

Kromatografske metode obuhvaćaju različite analitičke metode kojima se ispituje sastav neke smjese te se razdvajaju i kvantitativno određuju pojedine komponente te smjese. Ove metode se temelje na postojanju nepokretne (stacionarne) faze koja može bit čvrsta tvar ili tekućina te pokretne (mobilne) faze koja je najčešće tekućina ili plin. Komponente smjese se razdvajaju na osnovu adsorpcije, ionske izmjene, fizikalnih svojstava (npr. hlapivosti) itd. Princip rada obuhvaća propuštanje analizirane smjese koja je tekućina ili plin, preko stacionarne faze koja može biti unutar kolone ili na plohi. Najčešće kromatografske metode u prehrambenoj industriji su tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti te plinska kromatografija (Coskun, 2016; Popović, 2019).

2.6.1. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC)

Postoji nekoliko tipova tekućinske kromatografija visoke djelotvornosti (eng. *high performance liquid chromatography, HPLC*): adsorpcijska kromatografija, kromatografija ionske izmjene, kromatografija na gelu te najčešće primjenjivana razdjelna kromatografija. Stacionarna faza kod tekućinske kromatografije nalazi se u koloni, a kroz nju prolazi mobilna faza (tekućina) koja nosi analiziranu smjesu. Komponente smjese se razdvajaju na osnovu različite brzine kretanja kroz kolonu. Razdjelna kromatografija može biti sustav tekućina-tekućina ili kromatografija u sustavu vezane faze. Ta dva tipa razdjelne kromatografije razlikuju se prema tome kako je stacionarna faza vezana na punilu. Najčešće, stacionarna faza u koloni je silikagel na koji su vezane različite organske grupe. Nadalje, s obzirom na polarnost stacionarne i mobilne faze, razlikujemo normalnu i reverznu razdjelnu kromatografiju. Normalna kromatografija podrazumijeva upotrebu vrlo polarne stacionarne faze, npr. trietilenglikol ili voda, te nepolarne mobilne faze, kao što su heksan ili propil eter. Reverzna kromatografija podrazumijeva obrnuto: nepolarnu stacionarnu fazu (razni ugljikovodici) i polarnu mobilnu fazu (voda, metanol ili acetonitril). U tom slučaju, razdvajanje komponenti smjese temelji se na osnovu polarnosti pojedine komponente, npr. najpolarniji sastojak iz kolone s nepolarnom stacionarnom fazom će izaći prvi jer će najmanje reagirati s njom (Malviya i sur., 2010; Popović, 2019). Tekuća mobilna faza se obično nalazi u spremnicima kraj HPLC uređaja te se kroz sustav pumpa pomoću crpke i ventila za doziranje. Ostali dijelovi HPLC sustava prikazani su na **Slici 25**. Detektori koji se koriste u sklopu HPLC sustava dijele se s obzirom na to koju karakteristiku komponente snimaju te mogu biti: UV/Vis (ultraljubičasto ili vidljivo zračenje), PDA (cijeli spektar apsorpcije), MS (maseni spektar), RI (indeks loma) i EC (elektrokemijski) detektori (Skoog i sur., 1999).



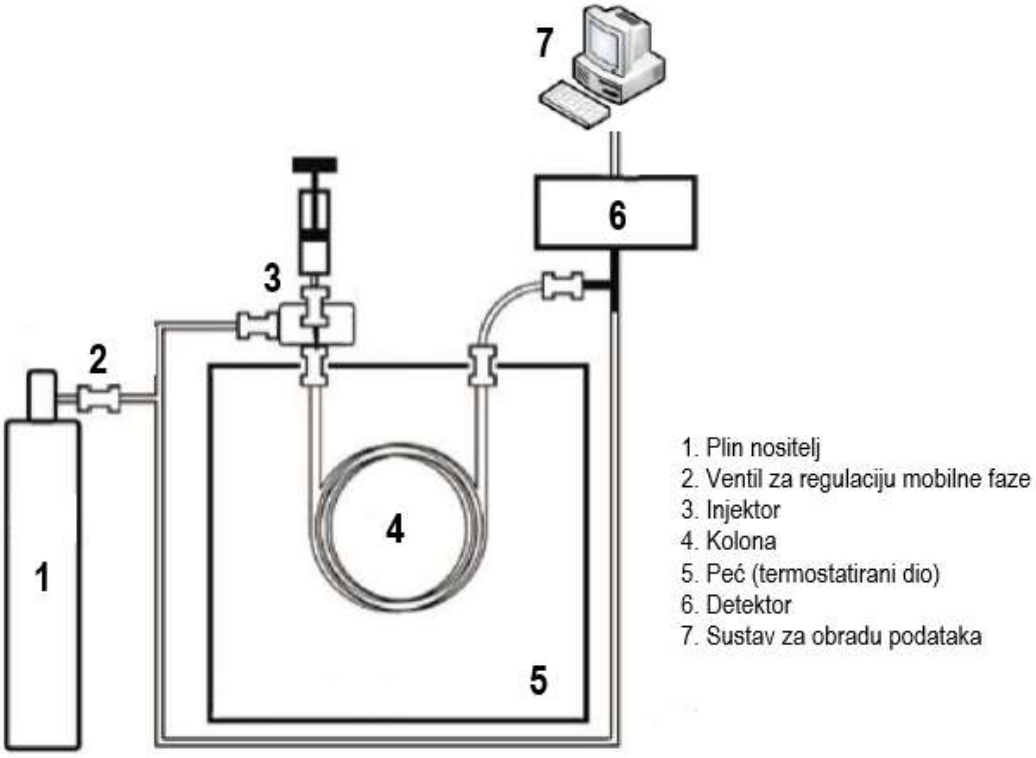
Slika 25 Dijelovi HPLC sustava (Czaplicki, 2013)

Tijekom analize kemijskoga sastava vina, HPLC metoda se najčešće koristi za određivanje i kvantifikaciju pojedinih fenolnih spojeva. Najčešće se primjenjuje reverzna razdjelna kromatografija, a sama metoda, tipovi mobilne i stacionarne faze koji će se koristiti ovisi o tome koji tipovi fenolnih spojeva se žele izdvojiti (fenolne kiseline, flavonoidi i sl.), a cilj je ostvariti što bolje razdvajanje komponenti uzorka, zadovoljavajuću retenciju i oblik pikova na kromatogramu. Način eluiranja (ispiranja) kolone je gradijentan, a koriste se dva otapala, od kojih je jedno polarno (npr. vodena otopina octene ili fosforne kiseline), a drugo nepolarne ili manje polarno (zakiseljeni metanol ili acetonitril). Identifikacija pojedinih fenolnih spojeva se provodi na osnovu retencijskih vremena na kojem izlaze pojedini pikovi te se ta retencijska vremena uspoređuju s onima od prethodno analiziranih standarda tih spojeva. Također, identifikacija se provodi na osnovu masenog ili svjetlosnog spektra ili drugih karakteristika, ovisno o tipu detektora. Najčešće se primjenjuju UV/Vis ili PDA detektor (Jakobek, 2007).

2.6.2. Plinska kromatografija (GC)

Plinska kromatografija (eng. *gas chromatography*) je brza kvalitativna i kvantitativna separacijska tehnika koja se vrlo često u prehrambenoj industriji koristi za određivanje tvari arome u namirnicama. Temelji se na primjeni inertnog plina nositelja koji predstavlja mobilnu fazu i koji eluira komponente uzorka iz kolone. Kolona je ispunjena stacionarnom fazom što mogu biti razna silikonska ulja, ugljikovodici velike molekulske mase ili esteri naneseni na kruti nosač. Prilikom ulaska uzorka u kolonu, on se trenutno razdjeljuje između mobilne i stacionarne faze. Pri tome, naizmjeničnom adsorpcijom i desorpcijom dolazi do razdvajanja lakše hlapivih sastojaka koje plin nositelj odnosi kroz kolonu (Skoog i sur., 1999). S obzirom na način odjeljivanja komponenata smjese, postoje tri tipa plinske kromatografije: frontalna, istiskivanja i eluiranja. Najčešće se primjenjuje eluiranje, gdje se konstantno uvodi struja inertnog plina koji ispire s kolone pojedine komponente koje su se razdvojile. Plin nositelj ne smije reagirati s uzorkom, mora biti suh i visoke čistoće, ne smije sadržavati ugljikovodike, a

najčešće se koriste vodik (H_2), helij (He), dušik (N_2) i argon (Ar) (Kaur i Sharma, 2018; Pichler, 2011). Dijelovi sustava plinske kromatografije prikazani su na **Slici 26**.



Slika 26 Sustav plinske kromatografije (Radić i Kukoč Modun, 2013)

Odabir kolone je jedan od najvažnijih uvjeta za zadovoljavajuće razdvajanje komponenti smjese. Kolona mora biti selektivna, nehlapiva, termički stabilna (posebice na česte izmjene temperature od nižih do viših), kemijski inertna prema komponentama u analiziranoj smjesi. Detektori koji se koriste u sklopu plinskog kromatografa dijele se s obzirom na to koje kemijsko ili fizikalno svojstvo koriste kao osnovu za identifikaciju izeluirane komponente. Stoga, detekcija se može provoditi na osnovu mjerenja toplinske vodljivosti komponente, radioaktivnoj i plamenoj ionizaciji, infracrvenoj i ultraljubičastoj spektrometriji, spektrometriji masa itd. Bitno je da detektor daje brz odziv i reagira na male udjele komponenata u plinu nositelju (Pichler, 2011).

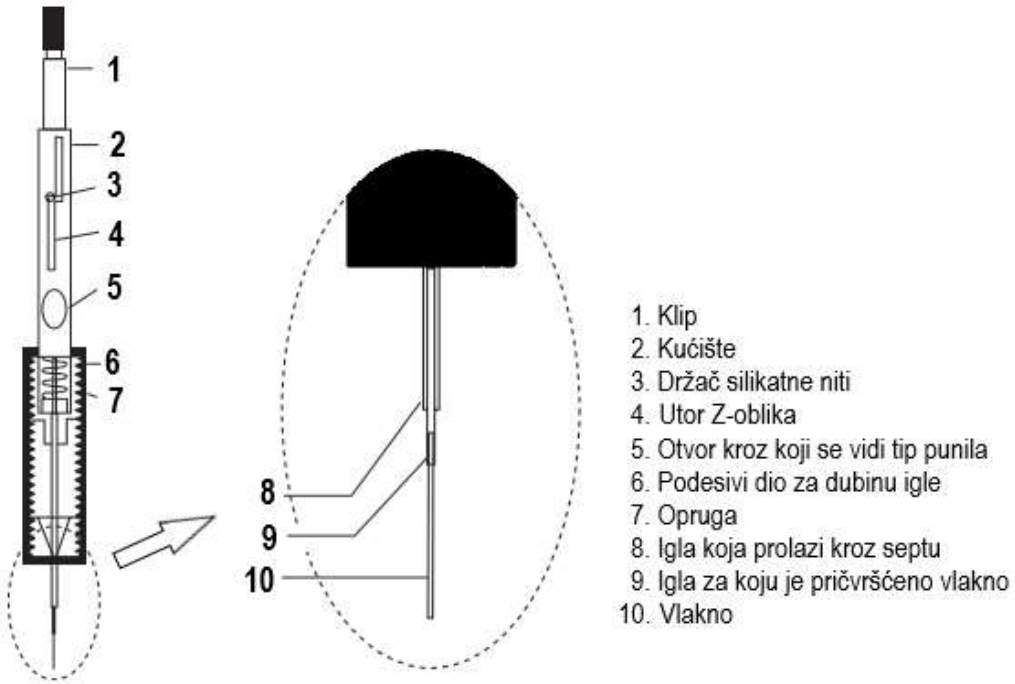
Spektrometrija masa

Detektori koji identificiraju komponente na osnovu spektra masa koriste se vrlo često u sklopu plinskog kromatografa. Spektrometrija masa (eng. *mass spectrometry*) se temelji na razlikovanju molekula s obzirom na njihov omjer mase i naboja (*m/z*). Osnovni dijelovi masenog detektora su ionski izvor, maseni analizator i detekcijski sustav. Princip rada masenog detektora zasniva se na ioniziranju molekula u ionizatoru, pri čemu se molekule bombardiraju snopom elektrona što dovodi do kidanja kemijskih veza i nastanka niza iona koji su karakteristični za pojedinu molekulu. Ioni se analiziraju na osnovu masene razlike

djelovanjem magnetskog i električnog polja, a za kvantifikaciju dovoljna je vrlo mala količina uzorka. Dobiveni maseni spektar predstavlja dijagram relativnih intenziteta signala za pojedine vrijednosti odnosa *m/z*. Svaki spoj ima karakterističan spektar masa na osnovu kojeg se identificira. Kod analize smjese, svaka komponenata smjese će dati svoj maseni spektar, a ukupni spektar smjese je rezultat linearnog zbrajanja komponenti (Pichler, 2011; Popović, 2019).

Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (SPME)

Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (eng. *solid-phase microextraction, SPME*) je novija metoda izolacije hlapivih spojeva koja se vrlo često koristi za pripremu uzorka za analizu na plinskom kromatografu s masenim detektorom (GC-MS). SPME tehnika je jednostavna, brza i ne zahtjeva upotrebu dodatnih kemikalija koje mogu izmijeniti ili reagirati s pojedinim komponentama analiziranog uzorka. Ovom tehnikom uzorkovanja omogućeno je izdvajanje samo hlapivih komponenti uzorka koje se žele analizirati, a time se sprječava ulazak kisika i vlage u kolonu plinskog kromatografa. SPME aparatura se sastoji od kućišta s iglom te polimerne stacionarne faze (punilo ili vlakno) unutar igle (**Slika 27**). Igla štiti vlakno tijekom uporabe i čuvanja ili tijekom prolaska kroz septum plinskog kromatografa. Najčešća vlakna koja se upotrebljavaju su polidimetilsiloksan (PDMS), sa slojem poliakrilata (PA), različite kombinacije polidimetilsiloksana, divinilbenzena ili Carboxena (PDMS/DVB, PDMS/Carboxen) i drugo (Popović, 2019).



Slika 27 Shematski prikaz SPME aparature (Mottaleb i sur., 2014)

Princip rada SPME tehnike temelji se na zagrijavanju i miješanju uzorka u zatvorenoj posudi kako bi se hlapivi sastojci oslobodili. Igla s vlaknom se postavlja u prostor iznad uzorka gdje dolazi do adsorpcije hlapivih komponenti na vlakno. Temperature i vrijeme ekstrakcije i adsorpcije ovise o tipu uzorka, vlakna i komponentama koje se analiziraju, ali je vrlo bitno da oba parametra budu konstantna. Nakon adsorpcije, vlakno se postavlja u injektor plinskog kromatografa gdje, pod utjecajem visoke temperature i vakuuma, dolazi do desorpcije sastojaka s vlakna u kolonu (Mottaleb i sur., 2014; Pichler, 2011).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Ciljevi istraživanja ove doktorske disertacije su bili:

- usporediti i utvrditi primjenu dva tipa procesa, reverzne osmoze i nanofiltracije, za koncentriranje crnog vina;
- ispitati utjecaj tlaka i temperaturnog režima na protok permeata i konačnu temperaturu koncentrata tijekom koncentriranja crnog vina reverznom osmozom i nanofiltracijom;
- ispitati utjecaj tlaka i temperature na zadržavanje fenolnih i aromatskih spojeva u koncentratima crnog vina;
- ispitati mogućnost djelomične dealkoholizacije te korekcije kiselina i aromatskog profila crnog vina reverznom osmozom i nanofiltracijom;
- usporediti dva crna vina Cabernet Sauvignon dobivena konvencionalnim i ekološkim načinom proizvodnje tijekom koncentriranja reverznom osmozom i nanofiltracijom.

Istraživanje je obuhvatilo sljedeće aktivnosti:

1. **Priprema koncentrata crnog vina**

Koncentriranje konvencionalnog i ekološkog crnog vina reverznom osmozom i nanofiltracijom provedeno je na laboratorijskom uređaju za membransku filtraciju LabUnit M20 (De Danske Sukkerfabrikker, Nakskov, Danska) pri četiri različita tlaka (25, 35, 45 i 55 bara), dva temperaturna režima (s i bez hlađenja) i primjenom dva tipa membrana:

- membrane za reverznu osmozu Alfa Laval RO98pHt M20 (DSS, Tetra Pak Filtration Solutions, Silkeborg, Danska);
- membrane za nanofiltraciju Alfa Laval NF M20 (DSS, Tetra Pak Filtration Solutions, Silkeborg, Danska).

2. **Određivanje osnovnog kemijskog sastava i sadržaja elemenata u tragovima**

Osnovni kemijski sastav (reducirajući šećeri, kiseline, slobodni i ukupni sumpor dioksid, etanol, glicerol, gustoća, pH) crnih vina i koncentrata određen je pomoću uređaja WineScan™ (Foss, Hilleroed, Danska). Sadržaj elemenata u tragovima u crnim vinima određen je pomoću metode energetsko-disperzivne rendgenske fluorescencije (EDXRF) uz Canberra Si(Li) detektor (Mirion Technologies/Canberra Industries, Meriden, SAD).

3. **Određivanje aromatskog profila**

Aromatski spojevi u crnim vinima i koncentratima određeni su pomoću plinskom kromatografa s masenim detektorom (Wardencki i sur., 2009) uz SPME (mikroekstrakcija na čvrstoj fazi) kao tehniku uzorkovanja.

4. **Određivanje polifenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti**

Određivanje ukupnih polifenola po Folin – Ciocalteu metodi (Ough i Amerine, 1988), ukupnih flavonoida (Kim i sur., 2003), monomernih antocijana (pH-diferencijalna metoda) i polimerne boje (Giusti i Wrolstad, 2001) provedeno je spektrofotometrijski. Antioksidacijska aktivnost određena je spektrofotometrijski prema četiri različite metode:

- DPPH (Brand-Williams i sur., 1995);
- ABTS (Re i sur., 1999);
- FRAP (Benzie i Strain, 1999);
- CUPRAC (Özyürek i sur., 2011).

Pojedinačni fenolni spojevi određeni su pomoću tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC), i to:

- fenolne kiseline (galna, kafeinska i kaftarna);
- flavan-3-ola (katehin i epikatehin);
- flavonoida (rutin i kvercetin) (Ivić i sur., 2021a);
- antocijana (malvidin 3-glukozid) (Lončarić i sur., 2016).

5. **Određivanje boje u CIELab sustavu**

Boja uzoraka određena je pomoću kromametra CR-400 (Konica Minolta, Inc., Osaka, Japan). Određeni su parametri C*, a*, b*, L*, °h te ΔE*.

6. **Statistička obrada podataka**

Statistička obrada podataka provedena je u računalnom programu Statistica 13.1 (StatSoft Inc., Tulsa, SAD).

3.2. MATERIJALI

3.2.1. Konvencionalno i ekološko crno vino

Konvencionalno i ekološko crno vino Cabernet Sauvignon korišteno u ovom istraživanju proizvedeno je od crnog grožđa sorte cabernet sauvignon (berba iz 2018. godine) koje je uzgojeno na konvencionalni i ekološki način u Zmajevcu, Hrvatska. Vinogradi su međusobno udaljeni 5 km zračne linije.

Konvencionalni način uzgoja grožđa uključivao je minimalno 6 prskanja (u kišnim sezonama i više) vinove loze s komercijalnim preparatima na bazi bakra. Ekološki način uzgoja grožđa

uključivao je 10 prskanja vinove loze s elementarnim sumporom i bakrom (do 3 kg/ha tijekom jedne vegetacije). Bakar se koristio samo do faze cvatnje vinove loze, nakon čega su se koristili biljni preparati s eko certifikatom (aminokiseline, flavonoidi ili Neem ulje). Tijekom ekološke proizvodnje vina, sumpor se koristio u minimalnim količinama u svrhu sprječavanja kvarenja vina.

3.2.2. Kemikalije

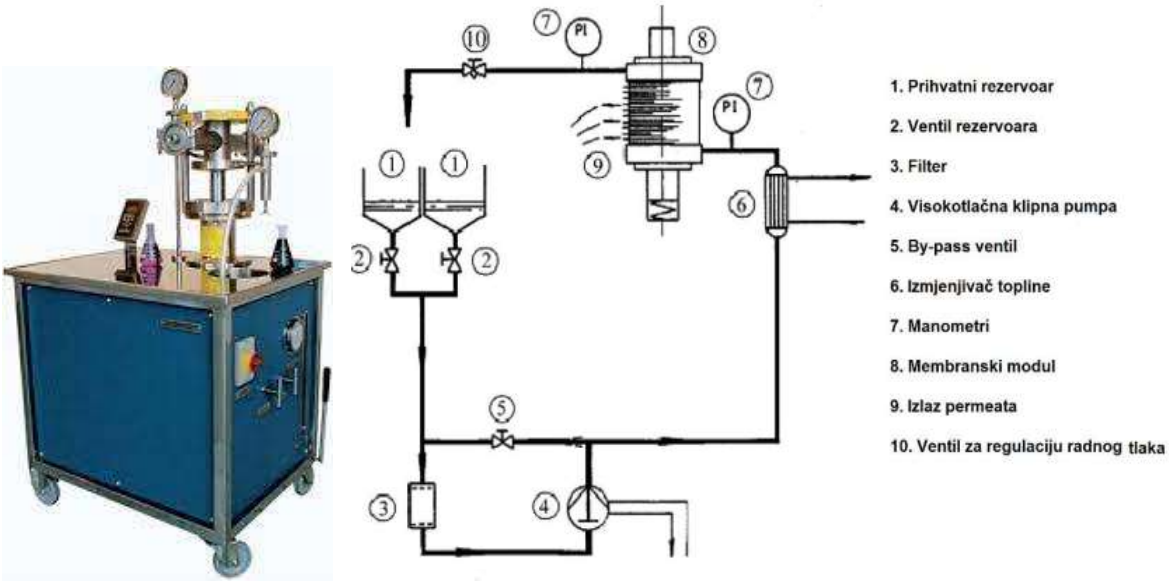
- Folin-Ciocalteu reagens, natrijev klorid, natrijev nitrat, natrijev karbonat, natrijev hidroksid, kalijev disulfit, natrijev acetat, kalijev klorid, klorovodična kiselina, etanol (Kemika, Zagreb, Hrvatska);
- Natrijev acetat trihidrat, željezov klorid heksahidrat, amonijev acetat (Gram-Mol, Zagreb, Hrvatska);
- Bakrov klorid (Acros Organics, New Jersey, SAD);
- Mirtenol, aluminij klorid, kvercetin dihidrat, monohidrat galne kiseline, kalij persulfat, Trolox ((±)-6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kiselina), ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin sulfonska kiselina), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazine) (Sigma-Aldrich, St. Lois, SAD);
- HPLC standardi: galna kiselina, kafeinska kiselina, (+)-katehin hidrat, (-)-epikatehin, rutin hidrat, kvercetin (Sigma-Aldirch Chemie Gmbh, Steinheim, Njemačka);
- Metanol (HPLC), neokuproin (Merck, Darmstadt, Njemačka);
- Fosforna kiselina (HPLC) (Fluka, Buchs, Švicarska);
- Malvidin 3-glukozid (Extrasynthese, Genay, Francuska);
- Standardi elemenata Se, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Br, Rb, Sr i Pb (TraceCERT, Fluka Analytical, St. Gallen, Švicarska).

3.3. METODE

3.3.1. Postupak koncentriranja membranskim procesima

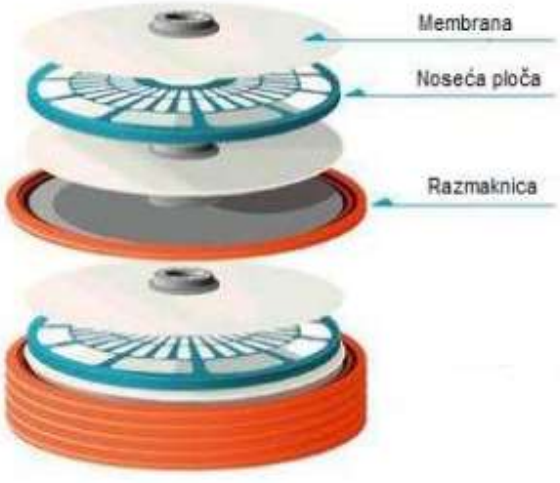
Koncentriranje crnih vina membranskim procesima (reverznom osmozom i nanofiltracijom) provedeno je pomoću laboratorijskog uređaja LabUnit M20 (De Danske Sukkerfabrikker, Nakskov, Danska) s pločastim modulom. Uređaj za koncentriranje (**Slika 28**) se sastoji od: centralnog vijka, pločastog modula, gornje i donje prirubnice, hidraulične pumpe, visokotlačne klipne pumpe (Rannie 16.50), by-pass ventila, dva prihvatna rezervoara s pripadajućim

ventilima, ventila za regulaciju tlaka, manometra na ulazu i izlazu iz modula te filtera na ulazu u klipnu pumpu. Za hlađenje je korišten spiralni izmjenjivač topline s vodovodnom vodom kao sredstvo za hlađenje.



Slika 28 Membranski filter LabUnit M20 (Popović, 2019)

Membrane su smještene unutar pločastog modula (**Slika 29**). Međusobno su odvojene razmaknicama koje na svojoj površini imaju kanale za raspodjelu otopine po cijeloj površini membrane. Između dvije membrane se nalazi noseća ploča koja se sastoji od malih žlijebova napravljenih tako da omogućuju odvod permeata bez začepljivanja tijekom rada uređaja. Tako postavljeni tzv. „sendviči“ (razmaknica, membrana, noseća ploča, membrana, razmaknica) slažu se oko centralnog vijka između gornje i donje prirubnice.



Slika 29 Shematski prikaz pločastog modula s razmaknicama, membranama i nosećim pločama (Popović, 2019)

Kompresija i dekompresija modula se ostvaruje pomoću hidraulične pumpe (do tlaka između 100 i 200 kN). Visokotlačna pumpa omogućuje protok dobavne otopine od prihvatnog rezervoara kroz modul te ponovno do prihvatnog rezervoara ukoliko se radi recirkulacija. Za hlađenje klipova visokotlačne pumpe koristi se priključak za rashladnu vodu (0,5 L/min). Za regulaciju protoka dobavne pumpe koristi se by-pass ventil koji smanjuje brzinu protoka u modul, vraćajući dio protoka na usisnu stranu.

Broj razmaknica, nosećih ploča i membrana u modulu je varijabilan što omogućuje različite izvedbe veličine pločastog modula. Primjenom odgovarajućih membrana moguće je provesti bilo koji membranski proces (ultrafiltracija, nanofiltracija ili reverzna osmoza). Modul se može koristiti pod tlakom do 80 bara, pH od 0 do 14 te temperature do 100 °C.

3.3.1.1 Nanofiltracija

Koncentriranje konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon postupkom nanofiltracije provedeno je na gore opisanom membranskom filteru. U pločasti modul postavljeno je šest kompozitnih poliamidnih membrane Alfa Laval NF M20 (DSS, Tetra Pak Filtration Solutions, Silkeborg, Danska) na poliesterskom nosaču. Površina jedne membrane iznosila je 0,0289 m^2 (ukupna površina šest membrana je 0,1736 m^2). Karakteristike membrana dane su u **Tablici 5**.

Tablica 5 Karakteristike Alfa Laval NF M20 membrana

Maksimalni tlak (bar)	Temperatura (°C)	pH interval	Zadržavanje $MgSO_4$* (%)	Nosač
55	5 – 50	3 – 10	≥ 99	Poliester

*zadržavanje $MgSO_4$ soli mjereno je na 5 bara, 25 °C, koncentracija 2 g/L.

Početni volumen crnog vina bio je 3 L, a temperatura 15 °C. Koncentriranje je provedeno pri četiri različita tlaka (25, 35, 45 i 55 bara) te dva temperaturna režima (s i bez hlađenja koncentrata) uz recirkulaciju koncentrata. Preliminarnim ispitivanjem kapaciteta uređaja određeno je da je nanofiltracijom moguće izdvojiti 1,7 L permeata i 1,3 L koncentrata. U tom slučaju volumni odnos retentata iznosi 2,31. Procesi s hlađenjem provedeni su uz spiralni izmjenjivač topline koji je u prihvatnom rezervoaru uronjen u koncentrat. Kao rashladno sredstvo koristila se vodovodna voda. Tijekom postupka nanofiltracije crnog vina, svake 4 minute mjeren je volumen prikupljenog permeata i temperatura koncentrata. Nakon završenog procesa koncentriranja provedeno je pranje uređaja, modula i membrana prema postupku opisanom od strane proizvođača te je mjeren protok čiste vode. Zbog bolje usporedbe s početnim uzorkom crnog vina, dobiveni koncentrati razrijeđeni su do početnog volumena od 3 L prije svake analize.

3.3.1.2 Reverzna osmoza

Koncentriranje konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon postupkom reverzne osmoze provedeno je na gore opisanom membranskom filteru. U pločasti modul postavljeno je šest kopozitnih poliamidnih membrana Alfa Laval RO98pHt M20 (DSS, Tetra Pak Filtration Solutions, Silkeborg, Danska) na polipropilenskom nosaču. Površina jedne membrane iznosila je 0,0289 m^2 (ukupna površina šest membrana je 0,1736 m^2). Karakteristike membrana dane su u **Tablici 6**.

Tablica 6 Karakteristike Alfa Laval NF M20 membrana

Maksimalni tlak (bar)	Temperatura (°C)	pH interval	Zadržavanje $MgSO_4$* (%)	Nosač
55	5 – 60	2 – 11	≥ 98	Polipropilen

*zadržavanje NaCl soli mjereno je na 16 bara, 25 °C, koncentracija 2 g/L.

Postupak koncentriranja crnog vina reverznom osmozom je proveden kao i kod nanofiltracije (četiri tlaka i dva temperaturna režima uz recirkulaciju koncentrata). Prikupljeno je 1,3 L koncentrata i 1,7 L permeata, a tijekom procesa koncentriranja svake 4 minute mjeren je volumen permeata i temperatura koncentrata. Dobiveni koncentrati su razrijeđeni na početni volumen vina (3 L) prije analiza.

3.3.1.3 Izračun procesnih parametara

Na osnovu podataka dobivenih mjerenjem volumena permeata i koncentrata tijekom koncentriranja crnog vina nanofiltracijom i reverznom osmozom te protoka čiste vode nakon čišćenja membrana, izračunati su sljedeći parametri **(1-6)**:

a) protok permeata

$$J = \frac{V_p}{A \times t} \quad \textbf{(1)}$$

gdje je: J – protok permeata (L/m^2h);
V_p – volumen permeata (L);
A – površina membrane (m^2);
t – vrijeme istjecanja permeata (h).

b) volumni udio permeata

$$Y = \frac{V_p}{V_0} \times 100 \quad \textbf{(2)}$$

gdje je: Y – volumni udio permeata (%);
V_p – volumen permeata u datom vremenu (L);
V_0 – početni volumen vina (L).

c) volumen retentata

$$V_r = V_0 - V_p \quad \textbf{(3)}$$

gdje je: V_r – volumen retentata (L);
V_0 – početni volumen vina (L);
V_p – volumen permeata u datom vremenu (L).

d) volumni odnos retentata

$$F = \frac{V_0}{V_r} \quad \textbf{(4)}$$

gdje je: F – volumni odnos retentata;
V_0 – početni volumen vina (L);
V_r – volumen retentata (L).

e) retencija u odnosu na početnu koncentraciju

$$R = \frac{c_r}{c_0} \times 100 \quad \textbf{(5)}$$

gdje je: R – retencija (%);
c_r – koncentracija u retentatu;
c_0 – koncentracija u početnom uzorku vina.

f) indeks začepljenja membrane

$$FI = \left(1 - \frac{J_{W_1}}{J_{W_0}}\right) \times 100 \quad \textbf{(6)}$$

gdje je: FI – indeks začepljenja membrane (%);
J_{W_1} – protok čiste vode nakon koncentriranja vina (L/m^{2}h);
J_{W_0} – protok čiste vode prije koncentriranja vina (L/m^{2}h).

3.3.2. Određivanje osnovnog kemijskog sastava

Osnovni kemijski sastav konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon i koncentrata određen je pomoću uređaja WineScan™ (Foss, Hilleroed, Danska) prikazanog na **Slici 30**. Uzorak vina ili koncentrata se stavlja u vijalu u koju se uranja senzor. Uređaj WineScan™ sadrži FTIR (infracrveni spektrometar s Fourierovom transformacijom) u svrhu skeniranja uzorka. Kalibracija uređaja WineScan™ provedena je pomoću Qkit™ (Foss, Hilleroed, Danska).



Slika 30 WineScan™ uređaj

3.3.3. Određivanje elemenata u tragovima

U svrhu određivanja elemenata u tragovima u uzorcima crnih vina i koncentrata, najprije je 50 mL uzorka s 10 µg internog standarda selenija (TraceCERT 1000 mg/L) u plastičnim posudama (58 x 58 x 40 mm) zamrznuto tekućim dušikom (40 h, Labconco – FreeZone 2.5 L, Labconco Corporation, Kansas City, SAD) na −80 °C i 0.015 mbara. Dobiveni viskozni uzorak se zatim stavlja u plastične držače koji su zatvoreni s vrha i dna mylar folijom (3 µm debljine). Tako pripremljeni uzorci su podvrgnuti EDXRF metodi s anodom molibdena. Radni parametri su 45 kV, 35 mA i vrijeme zračenja 1000 s. Za detekciju rendgenskog zračenja korišten je Canberra Si(Li) detektorom (Mirion Technologies/Canberra Industries, Meriden, SAD) koji je hlađen dušikom. Aktivna površina detektora je 30 mm^2, debljina 3 mm, debljina Be prozora 0,025 mm i rezolucija 170 eV FWHM na 5,9 keV. Za analizu podataka korišten je IAEA QXAS software (International Atomic Energy Agency, Seibersdorf, Austria). Za izradu kalibracijskih krivulja elemenata K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Br, Rb, Sr i Pb korišteni su TraceCERT 1000 mg/L certificirani standardi. Relativne pogreške tijekom analiza elemenata u vinu dobivene su iz koeficijenta korelacijskih krivulja: K – 15,22%; Ca – 16,66%; Mn – 10,03%; Fe – 5,32%; Cu – 1,67%; Zn – 2,83%; Br – 10,82%; Rb – 5,34%; Sr – 1,98% i Pb – 2,4%. Limit detekcije određen je pomoću jednadžbe **(7)**:

$$LD = c \times \sqrt[3]{\frac{N_c}{B}} \qquad \textbf{(7)}$$

gdje je: LD – limit detekcije;
c – poznata koncentracija traženog elementa;
N_c – intenzitet pozadinskog zračenja ispod karakterističnog pika X-zraka;
B – broj snimanja pozadinskog zračenja.

Izračunate su sljedeće vrijednosti limita detekcije: 96 mg/L za K; 331 mg/L za Ca; 11 µg/L za Mn; 7 µg/L za Fe; 6 µg/L za Cu; 1,3 µg/L za Zn; 0,823 µg/L za Br; 0,5 µg/L za Rb i Sr; 0,867 µg/L za Pb. Konačna koncentracija elemenata u tragovima u analiziranim uzorcima prikazana je kao srednja vrijednost tri mjerenja.

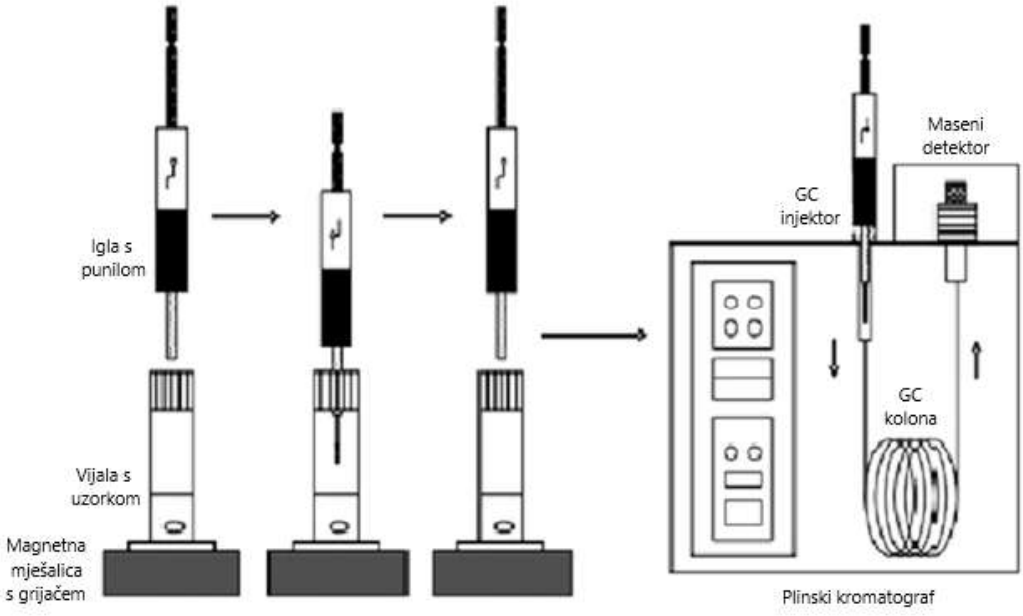
3.3.4. Određivanje aromatskog profila

Spojevi arome u konvencionalnom i ekološkom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima određeni su pomoću plinskog kromatografa Agilent 7890B s masenim detektorom Agilent 5977A (Agilent Technologies, Santa Clara, SAD) prikazanog na **Slici 31**. U svrhu uzorkovanja koristila se tehnika mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME) koja se temelji na primjeni igle unutar koje se nalazi punilo od polidimetilsiloksana-divinilbenzena (PDMS/DVB), debljine 65 μm (Supelco, Bellefonte, SAD) kao polimerna stacionarna faza (**Slika 32**).

U staklenu vijalu od 10 mL injektirano je 5 mL uzorka (crnog vina ili koncentrata) te se dodano 1 g NaCl radi bolje ekstrakcije spojeva arome. U vijalu je dodano 10 μL internog standarda mirtenola (koncentracije 0.5 g/L) u svrhu određivanja koncentracija spojeva arome u uzorcima. Vijala je zatim hermetički zatvorena teflonskim čepom te je postavljena u vodenu kupelj na magnetskoj miješalici s grijačem. Uzorak u vijali se miješao i zagrijavao na 40 °C kroz 5 minuta radi zasićenja nadprostora uzorka hlapivim spojevima, nakon čega je u nadprostor postavljena SPME igla s gore navedenim punilom. Adsorpcija spojeva arome na punilo se odvijala kroz 45 minuta na 40 °C, nakon čega je igla prenesena u injektor plinskog kromatografa. U injektoru se odvija toplinska desorpcija spojeva arome u kolonu plinskog kromatografa. Kolona se postepeno zagrijava kako bi se spojevi arome razdvojili na osnovu njihove hlapivost, tako da u maseni detektor najprije dospijevaju lakše hlapivi spojevi.



Slika 31 Plinski kromatograf s masenim detektorom



Slika 32 SPME aparatura i postupak uzorkovanja (Popović, 2019)

Uvjeti rada plinskog kromatografa

Parametri ekstrakcije: temperatura ekstrakcije: 40 °C;

vrijeme ekstrakcije: 45 min;

SPME punilo: 65 µm PDMS/DVB (Supelco).

GC – MS analitički uvjeti: kolona: HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm);

početna temperatura: 40 °C (10 min);

temperaturni gradijent 1: 3 °C/min do 120 °C;

temperaturni gradijent 2: 10 °C/min do 250 °C;

konačna temperatura: 250 °C;

temperatura injektora: 250 °C;

vrijeme desorpcije: 7 min;

temperatura detektora: 250 °C.

plin nosač: helij 5,0 (čistoće 99,9%) (Messer Austria, Gumpoldskirchen, Austria);

energija ionizacije: 70 eV;

maseni interval (*m/z*): 40 – 400.

Dobiveni pikovi na kromatogramu identificirani su na osnovu masenih spektara, unaprijed postavljenih baza spojeva *Nist08* (National Institute of Standards i Technology, Gaithersburg, SAD) i *Wiley 9* (Wiley, SAD) te retencijskog indeksa. U svrhu izračuna retencijskog indeksa za pojedinačne spojeve, pri istim GC – MS uvjetima analiziran je standard koji sadrži smjesu alkana C7 – C30. Za izračun retencijskog indeksa koristila se sljedeća jednadžba **(8)**:

$$RI = 100 \times \left[n + (N - n) \frac{\log t_x - log t_n}{log t_N - log t_n} \right] \quad \textbf{(8)}$$

gdje je: RI – retencijski indeks;
n – broj C atoma u alkanu koji izlazi prije nepoznatog spoja;
N – broj C atoma u alkanu koji izlazi nakon nepoznatog spoja;
x – nepoznati spoj;
t – retencijsko vrijeme (min).

Određivani su odabrani spojevi arome:

- kiseline (octena, oktanska, dekanska, laurinska, miristinska, palmitinska kiselina);
- alkoholi (izoamilni alkohol, but-2,3-diol, heksan-1-ol, metionol, benzilni alkohol, oktan-1-ol, 2-feniletanol, dodekanol);
- karbonilni spojevi (4-propilbenzaldehid, geranil aceton, lili aldehid, heksilcinamaldehid);
- terpeni (α-terpinolen, β-citronelol, β-damascenon, β-jonon, fenantren);
- esteri (etil-heksanoat, etil-4-hidroksibutanoat, dietil-sukcinat, etil-oktanoat, etil-sukcinat, fenetil-acetat, etil-dekanoat, etil-vanilat, etil-laurat, heksil-salicilat, etil-miristat, diizobutil-ftalat, etil-pentadekanoat, metil-palmitat, dibutil-ftalat, etil-palmitat, etil-linoleat, etil-oleat, etil-stearat);
- hlapivi fenoli (4-etilfenol, 4-etilgvajakol, 2,4-di-*tert*-butilfenol).

3.3.5. Određivanje ukupnih polifenola

U konvencionalnom i ekološkom crnom vinu Cabernet Sauvignon i koncentratima, koncentracija ukupnih polifenola određena je po Folin-Ciocalteu metodi (Ough i Amerine, 1988). U epruvetu je redom otpipetirano 0,2 mL uzorka (crnog vina ili koncentrata), 1,8 mL destilirane vode, 10 mL Folin-Ciocalteu reagensa (3,3:100) i 8 mL otopine natrijevog karbonata (7,5% otopina). Smjesa se promućka i ostavi stajati 2 – 20 sati stajati u mraku pri sobnoj temperaturi. Nakon toga, mjerena je apsorbancija na spektrofotometru Cary 60 UV-Vis (Agilent Technologies, Santa Clara, SAD) pri valnoj duljini od 765 nm. Odrađena je i slijepa proba s destiliranom vodom umjesto uzorka. Svaki uzorak je odrađen u tri mjerenja, a rezultati su izraženi preko kalibracijske krivulje galne kiseline u g galne kiseline/L uzorka.

3.3.6. Određivanje ukupnih flavonoida

Koncentracija ukupnih flavonoida u crnim vinima i koncentratima određena je spektrofotometrijski s primjenom $AlCl_3$ kao reagensa (Kim i sur., 2003). U epruvetu je otpipetirano 0,5 mL uzorka, 4 mL destilirane vode i 0,3 mL $NaNO_2$ (5%). Nakon 5 minuta, u epruvetu je dodano 1,5 mL $AlCl_3$ (2%), a nakon još 5 minuta 2 mL NaOH (1 mol/L) i 1,7 mL vode. Apsorbancija je mjerena odmah na 510 nm. Kao slijepa proba se koristila destilirana voda. Rezultati su izraženi preko kalibracijske krivulje katehina u g katehina/L uzorka, i to kao srednja vrijednost tri mjerenja.

3.3.7. Određivanje monomernih antocijana

Koncentracija monomernih antocijana u crnim vinima i koncentratima određena je pH-diferencijalnom metodom (Giusti i Wrolstad, 2001) koja se zasniva na transformaciji strukture kromofora antocijana prilikom promjene pH vrijednosti. Ta promjena se manifestira kao promjena spektra apsorbancije. Za svaki uzorak je pripremljeno po dvije epruvete. U obje epruvete je otpipetirano 0,2 mL uzorka. U jednu epruvetu dodano je 2,8 mL pufera pH 1 (0,025 mol/L KCl, pH podešen s koncentriranom HCl), a u drugu 2,8 mL pufera pH 4,5 (0,4 mol/L CH_3CO_2Na x $3H_2O$, pH podešen s koncentriranom HCl). Nakon 15 minuta, apsorbancija je mjerena na spektrofotometru pri 512 (A_{512}) i 700 (A_{700}) nm. Apsorbancija uzorka se zatim računa prema jednadžbi **(9)**:

$$A = (A_{512} - A_{700})_{pH\ 1,0} - (A_{512} - A_{700})_{pH\ 4,5} \quad \textbf{(9)}$$

Koncentracija monomernih antocijana se računa prema jednadžbi **(10)**:

$$monomerni\ antocijani\ \left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{A \times MW \times FR \times 1000}{\varepsilon \times l} \quad \textbf{(10)}$$

gdje je: A – apsorbancija uzorka;
MW – relativna molekulska masa cijanidin 3-glukozina (449,2 g/mol);
FR – faktor razrjeđenja **(11)**:

$$FR = \frac{V_{ukupni}}{V_{uzorka}} \quad \textbf{(11)}$$

ε – molarni ekstincijski koeficijent cijanidin 3-glukozida (26900 L/mol cm);
l – duljina kivete (1 cm).

Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost tri mjerenje u mg cijanidin 3-glukozida/L uzorka.

3.3.8. Određivanje polimerne boje

Određivanje polimerne boje, odnosno degradacija antocijana, u crnim vinima i koncentratima određena je prema metodi (Giusti i Wrolstad, 2001) koja se temelji na stvaranju bezbojnog

kompleksa reakcijom antocijana s bisulfitom. S druge strane, boja koja je nastala polimerizacijom antocijana (kompleks antocijani/tanini) otporna je na djelovanje bisulfita.

U dvije epruvete otpipetirano je po 0,2 mL uzorka, a zatim je u jednu dodano 3,0 mL vode, a u drugu 2,8 mL vode i 0,2 mL otopine kalijevog bisulfita (1:5). Nakon 15 min stajanja, apsorbancija je mjerena na 420 nm (stupanj posmeđivanja; A_{420}), 512 nm (degradacija antocijana, tj. smanjenje intenziteta crvene boje; A_{512}) i 700 nm (A_{700}). Udio boje nastao polimerizacijom računa se prema jednadžbama **(12)**:

$$polimerna\ boja\ (\%) = \frac{boja\ nastala\ polimerizacijom}{gustoća\ boje} \times 100 \qquad \textbf{(12)}$$

gdje je: boja nastala polimerizacijom (uzorak tretiran bisulfitom) **(13)**:

$$boja\ nastala\ polimerizacijom = [(A_{420} - A_{700}) + (A_{512} - A_{700})] \times FR \qquad \textbf{(13)}$$

gustoća boje (kontrolni uzorak tretiran vodom) **(14)**:

$$boja\ nastala\ polimerizacijom = [(A_{420} - A_{700}) + (A_{512} - A_{700})] \times FR \qquad \textbf{(14)}$$

Za svaki uzorak provedena su tri mjerenja i rezultati su izraženi kao srednja vrijednost.

3.3.9. Određivanje pojedinačnih fenolnih spojeva (HPLC)

Koncentracija pojedinačnih fenolnih spojeva u crnim vinima i koncentratima određena je pomoću tekućinske kromatografije visoke djelotvornost (HPLC). HPLC sustav (**Slika 33**) 1260 Infinity II (Agilent Technologies, Santa Clara, SAD) opremljen je kolonom Poroshell 120 EC-C18 (4,6 x 100 mm, 2,7 µm), kvarternom pumpom i detektorom s nizom dioda (DAD). Kao mobilna faza A korištena je fosforna kiselina (0,1% H_3PO_4), a kao mobilna faza B metanol (100% CH_3OH). Uzorci su prije analize na HPLC sustavu profiltrirani kroz filter Chromafil Xtra (PTFE; 0,45 µm, 25 mm). Primijenjene su dvije HPLC metode:

- za određivanje pojedinačnih fenolnih kiselina, flavan-3-ola i flavonoida – volumen injektiranja uzorka je bio 10 µL, protok 1 mL/min, gradijent mobilnih faza: 0 min 5% B, 3 min 30% B, 15 min 35% B, 22 min 37% B, 30 min 41% B, 32 min 45% B, 40 min 49% B, 45 min 80% B, 48 min 80% B, 50 min 5% B, 53 min 5% B (Ivić i sur., 2021a);
- za određivanje antocijana – volumen injektiranja je bio 20 µL, protok 1 mL/min, gradijent mobilnih faza: 0 – 38 min 3–65% B, 38–45 min 65% B (Lončarić i sur., 2016).

Za obje metode praćen je UV/Vis spektar između valnih duljina od 190 do 600 nm. Rezultati su izraženi preko kalibracijskih krivulja pojedinog standarda: 25 – 500 mg/L za galnu kiselinu (r^2 = 0,9986), (+)-katehin (r^2 = 0,9997) i (−)-epikatehin (r^2 = 0,9984); 5 – 300 mg/L za kaftarnu kiselinu (r^2 = 0,9997); 0,25 – 10 mg/L za kafeinsku kiselinu (r^2 = 0,9989), rutin (r^2 = 0,9989) i kvercetin (r^2 = 0,9995); 1 – 150 mg/L za malvidin 3-glukozid (r^2 = 0,9994). Derivati kvercetina

1 i 2 te derivat malvidin 3-glukozida određeni su identificirani su na osnovu spektra i literaturnih podataka, a kvantificirani preko kalibracijskih krivulja kvercetina, odnosno malvidin 3-glukozida. Za svaki uzorak odrađena su dva mjerenja.



Slika 33 HPLC analitički sustav

3.3.10. Određivanje antioksidacijske aktivnosti

Antioksidacijska aktivnost crnih vina i koncentrata određena je spektrofotometrijski prema četiri različite metode (DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC) kako bi se što bolje prikazao cjelokupni antioksidacijski kapacitet analiziranih uzoraka. Ne postoji univerzalna metoda za određivanje antioksidacijske aktivnosti, budući da postoji velik broj spojeva različite strukture koji djeluju kao antioksidansi. Svaka metoda temelji se na različitim reakcijskim mehanizmima koji podrazumijevaju prijenos, odnosno donaciju atoma vodika – HAT mehanizam (eng. *hydrogen atom transfer*), donaciju elektrona – SET mehanizam (eng. *single electron transfer*) ili vezanje lipida na antioksidans i formiranje lipid-antioksidans kompleksa (Jakobek, 2007).

3.3.10.1 DPPH

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) metoda temelji se na primjeni DPPH reagensa (ljubičasto obojeni i stabilni dušikov radikal) koji se reducira u prisutnosti antioksidansa koji je elektron donor te ljubičasto obojenje prelazi u žuto (Popović, 2019). Prednost ove metode je što DPPH reagens može reagirati s cjelokupnim uzorkom kroz određeno vrijeme, čak i s hidrofilnim i lipofilnim antioksidansima, a reagira i sa slabim antioksidansima (Kedare i Singh, 2011). DPPH metoda podrazumijevala je sljedeći postupak (Brand-Williams i sur., 1995): u epruvetu je otpipetirano 0,2 mL uzorka (crnog vina ili koncentrata) i 3,0 mL DPPH otopine (A_{517}=1,0). Nakon 15 minuta stajanja apsorbancija se mjeri na 517 nm, a kao slijepa proba se koristi destilirana voda umjesto uzorka. Rezultat je izražen preko kalibracijske krivulje Troloxa u µmol TE/100 mL. Za svaki uzorak su napravljena tri mjerenja.

3.3.10.2 ABTS

ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin sulfonska kiselina)) metoda se temelji na primjeni ABTS reagensa koji se prije upotrebe miješa s kalijevim persulfatom pri čemu nastaje oksidirani zeleno obojeni ABTS radikal. Reakcijom s antioksidansom zeleno obojenje se gubi, a radikal se reducira u bezbojan oblik (Gupta, 2015). ABTS radikal je reaktivan prema velikom broju antioksidanasa, među kojima su i fenolne kiseline i flavonoidi. Metoda je primjenjiva pri različitim pH vrijednostima, ali traje duže od DPPH metode, dok sama priprema ABTS radikala traje minimalno 12 h. U svrhu provedbe metode (Re i sur., 1999) bilo je potrebno 0,2 mL uzorka optipetirati u epruvetu te dodati 3,2 mL ABTS reagensa pripremljenog dan prije (7,4 mmol/L otopina ABTS pomiješana je s 2,45 mmol/L otopinom kalijevog persulfata). Nakon 95 minuta stajanja u mraku, apsorbancija se mjeri na 734 nm. Destilirana voda se koristila umjesto uzorka kao slijepa proba. Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost tri mjerenja, i to preko kalibracijske krivulje Troloxa u μmol TE/100 mL.

3.3.10.3 FRAP

FRAP (eng. *ferric reducing/antioxidant power assay*) metoda se temelji na redukciji kompleksa trovalentnog željeza s piridil triazinom u dvovalentno željezo pomoću antioksidanasa prisutnih u uzorku, pri pH 3,6. Pri tome dolazi do pojave plavog obojenja. Ova metoda je brza i jednostavna, ali nije izrazito selektivna (postoji mogućnost reakcije željeza s drugim komponentama koje nisu antioksidansi, ali imaju sposobnost redukcije željeza). FRAP reagens je u svrhu analize crnih vina i koncentrata pripremljen miješanjem 300 mmol/L otopine natrijevog acetata (pH 3,6), 10 mmol/L otopine TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazin otopljen u 40 mmol/L otopini HCl) i 20 mmol/L otopine $FeCl_3$ x $6H_2O$ u omjeru 10:1:1 (Benzie i Strain, 1999). Zatim, u epruvetu je otpipetirano 0,2 mL uzorka (ili destilirane vode za slijepu probu) i 3,0 mL FRAP reagensa zagrijanog na 37 °C. Intenzitet plavog obojenja se mjerio na 593 nm nakon 15 minuta stajanja. Rezultati su izraženi preko kalibracijske krivulje Troloxa (μmol TE/100 mL) te kao srednja vrijednost tri mjerenja.

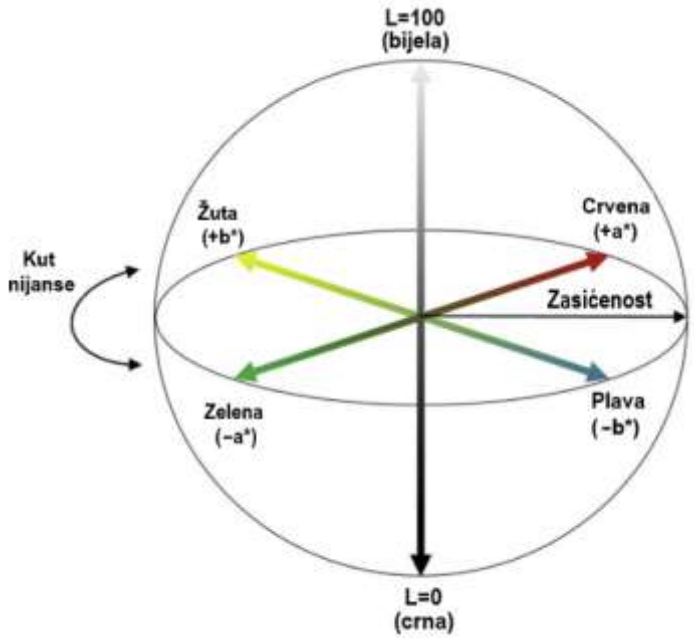
3.3.10.4 CUPRAC

CUPRAC (eng. *cupric reducing antioxidant capacity*) metoda se temelji na redoks reakciji CUPRAC reagensa s antioksidansima iz uzorka pri čemu dolazi do pojave žutog obojenja. Prednost ove metode u odnosu na gore navedene je to što je primjenjiva za lipofilne i hidrofilne antioksidanse, ali selektivno djeluje na antioksidativne spojeve bez utjecaja na šećere i limunsku kiselinu (obično prisutni u namirnicama, a mogu utjecati na rezultate pojedine metode). CUPRAC metoda je primjenjiva za određivanje antioksidacijske aktivnosti flavonoida, tiola, fenolnih kiselina (Gupta, 2015). Za provedbu CUPRAC metode potrebna su tri reagensa (Özyürek i sur., 2011): 10 mmol/L otopina $CuCl_2$ x $2H_2O$; 7,5 mmol/L otopina neokuproina (Nc) i 1 mol/L otopine amonij acetata, pH 7,0. U epruvetu je otpipetirano po 1,0 mL svakog

reagensa, zatim 0,2 mL uzorka (ili destilirane vode za slijepu probu) te 0,9 mL destilirane vode. Intenzitet žutog obojenja mjerio se nakon 30 minuta na 450 nm. Rezultati su izraženi preko kalibracijske krivulje Troloxa (μmol TE/100 mL) kao srednja vrijednost tri mjerenja.

3.3.11. Određivanje boje u CIELab sustavu

CIELab sustav (**Slika 34**) je trodimenzionalni (x,y,z) prostor boja napravljen na osnovu percepcije boja od strane standardnog promatrača. Koordinatne osi ovog sustava odgovaraju teoriji suprotnih boja (parova) označenih s parametrima L*, a* i b*. Parametar L* označava svjetlinu boje čija se vrijednost kreće od 0 (crna boja) do 100 (bijela boja) po vertikalnoj osi. Parametar a* predstavlja os na kojoj su nijanse boja od crvene (+a*) do zelene (−a*), dok parametar b* predstavlja os na kojoj su nijanse boja od žute (+b*) do plave (−b*) boje (Ivić i sur., 2021d; Vukoja i sur., 2019).



Slika 34 CIELab sustav boja (Ly i sur., 2020)

Boje koje su smještene bliže ishodištu karakterizirane su manjom kromatičnošću odnosno zasićenosti boje (C*), i obrnuto, a ta se udaljenost računa pomoću izraza **(15)** (Hill i sur., 1997):

$$C^* = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})} \quad \textbf{(15)}$$

Ton boje ili kut nijanse (°h) računa se prema izrazu **(16)**:

$$^{\circ}h_{ab} = tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad \textbf{(16)}$$

Ukupna razlika u boji određena pomoću CIELab sustava može se izračunati izrazom **(17)**:

$$\Delta E_{ab} = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}} \quad \textbf{(17)}$$

U ovom istraživanju, mjerenje parametara boje u CIELab sustavu u crnim vinima i koncentratima provedeno je na kromametru CR-400 (Konica Minolta, Inc., Osaka, Japan) prikazanom na **Slici 35**. Određeni su parametri L*, a*, b*, C*, °h i ΔE*. Za svaki uzorak provedena su tri mjerenja, a rezultati su izraženi kao njihova srednja vrijednost.



Slika 35 Kromametar CR-400

3.3.12. Statistička obrada podataka

Analizama dobiveni rezultati izraženi su kao srednja vrijednost ponovljenih mjerenja ± standardna devijacija. U računalnom programu Statistica 13.1 (StatSoft Inc., Tulsa, SAD) rezultati su obrađeni pomoću metode analize varijance (ANOVA) i Fisher-ovog LSD testa (testa najmanje značajne razlike; $P < 0,05$) te metode analize glavnih komponenata (PCA, eng. *principal component analysis*). Računalni program MS Excel (Microsoft Office Professional, 2016) korišten je za izračun koeficijenta korelacije između pojedinih rezultata.

4. REZULTATI

4.1. REVERZNA OSMOZA

4.1.1. Procesni parametri tijekom koncentriranja crnog vina

Tablica 7 Procesni parametri tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom pri tlaku od 25 bara s primjenom hlađenja

Vrijeme t (min)	Volumen permeata Vp (mL)	Protok permeata J (L/m^2h)	Volumni udio permeata Y (%)	Volumni odnos retentata F	Temperatura retentata (°C)
0	0	0	0	1,00	15,0
4	0,06	5,19	2,00	1,02	20,0
8	0,11	4,76	3,67	1,04	21,0
12	0,15	4,33	5,00	1,05	21,5
16	0,19	4,11	6,33	1,07	22,0
20	0,23	3,98	7,67	1,08	23,0
24	0,27	3,89	9,00	1,10	23,0
28	0,31	3,83	10,33	1,12	23,0
32	0,35	3,78	11,67	1,13	23,0
36	0,39	3,75	13,00	1,15	23,5
40	0,43	3,72	14,33	1,17	24,0
44	0,47	3,70	15,67	1,19	24,5
48	0,51	3,68	17,00	1,20	24,5
52	0,55	3,66	18,33	1,22	25,0
56	0,59	3,65	19,67	1,24	25,0
60	0,62	3,58	20,67	1,26	25,0
64	0,65	3,51	21,67	1,28	25,5
68	0,68	3,46	22,67	1,29	25,5
72	0,71	3,41	23,67	1,31	26,0
76	0,74	3,37	24,67	1,33	26,0
80	0,77	3,33	25,67	1,35	26,0
84	0,80	3,30	26,67	1,36	26,5
88	0,83	3,26	27,67	1,38	27,0
92	0,86	3,23	28,67	1,40	27,0
96	0,89	3,21	29,67	1,42	27,0
100	0,92	3,18	30,67	1,44	27,5
104	0,95	3,16	31,67	1,46	28,0
108	0,98	3,14	32,67	1,49	28,0
112	1,01	3,12	33,67	1,51	28,0
116	1,04	3,10	34,67	1,53	28,5
120	1,07	3,09	35,67	1,55	29,0
124	1,10	3,07	36,67	1,58	29,0
128	1,13	3,05	37,67	1,60	29,5
132	1,16	3,04	38,67	1,63	30,0
136	1,19	3,03	39,67	1,66	30,5
140	1,22	3,02	40,67	1,69	30,5
144	1,25	3,00	41,67	1,71	31,0
148	1,28	2,99	42,67	1,74	31,0
152	1,31	2,98	43,67	1,78	31,0
156	1,34	2,97	44,67	1,81	31,0
160	1,37	2,96	45,67	1,84	31,0
164	1,40	2,95	46,67	1,88	31,0
168	1,43	2,95	47,67	1,91	31,0
172	1,46	2,94	48,67	1,95	31,0
176	1,49	2,93	49,67	1,99	31,5
180	1,52	2,92	50,67	2,03	32,0
184	1,55	2,91	51,67	2,07	32,0
188	1,58	2,91	52,67	2,11	32,5
192	1,61	2,90	53,67	2,16	33,0
196	1,64	2,90	54,67	2,21	34,0
200	1,67	2,89	55,67	2,26	35,0
204	1,70	2,88	56,67	2,31	36,0

Tablica 8 Procesni parametri tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom pri tlaku od 35 bara s primjenom hlađenja

Vrijeme t (min)	Volumen permeata Vp (mL)	Protok permeata J (L/m²h)	Volumni udio permeata Y (%)	Volumni odnos retentata F	Temperatura retentata (°C)
0	0	0	0	1,00	15,0
4	0,08	6,92	2,67	1,03	22,0
8	0,16	6,92	5,33	1,06	23,0
12	0,24	6,92	8,00	1,09	24,0
16	0,32	6,92	10,67	1,12	25,0
20	0,39	6,75	13,00	1,15	25,5
24	0,46	6,63	15,33	1,18	26,0
28	0,53	6,55	17,67	1,21	26,5
32	0,58	6,27	19,33	1,24	26,5
36	0,64	6,10	21,17	1,27	27,0
40	0,69	5,97	23,00	1,30	27,0
44	0,75	5,86	24,83	1,33	27,5
48	0,80	5,77	26,67	1,36	27,5
52	0,85	5,66	28,33	1,40	27,5
56	0,90	5,56	30,00	1,43	28,0
60	0,95	5,48	31,67	1,46	28,5
64	1,00	5,41	33,33	1,50	29,0
68	1,05	5,34	35,00	1,54	29,0
72	1,10	5,29	36,67	1,58	29,5
76	1,15	5,24	38,33	1,62	30,0
80	1,20	5,19	40,00	1,67	30,5
84	1,25	5,15	41,67	1,71	31,0
88	1,30	5,11	43,33	1,76	31,5
92	1,35	5,08	45,00	1,82	32,0
96	1,40	5,05	46,67	1,88	33,0
100	1,45	5,02	48,33	1,94	34,0
104	1,50	4,99	50,00	2,00	35,0
108	1,55	4,97	51,67	2,07	36,0
112	1,60	4,94	53,33	2,14	37,0
116	1,65	4,92	55,00	2,22	37,5
120	1,70	4,90	56,67	2,31	38,0

Tablica 9 Procesni parametri tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom pri tlaku od 45 bara s primjenom hlađenja

Vrijeme t (min)	Volumen permeata Vp (mL)	Protok permeata J (L/m²h)	Volumni udio permeata Y (%)	Volumni odnos retentata F	Temperatura retentata (°C)
0	0	0	0	1,00	15,0
4	0,13	11,25	4,33	1,05	24,0
8	0,25	10,81	8,33	1,09	26,0
12	0,36	10,38	12,00	1,14	26,5
16	0,47	10,16	15,67	1,19	27,0
20	0,57	9,86	19,00	1,23	27,5
24	0,67	9,66	22,33	1,29	28,0
28	0,76	9,39	25,33	1,34	29,0
32	0,85	9,19	28,33	1,40	30,0
36	0,94	9,03	31,33	1,46	30,5
40	1,03	8,91	34,33	1,52	31,0
44	1,12	8,81	37,33	1,60	32,0
48	1,21	8,72	40,33	1,68	33,0
52	1,30	8,65	43,33	1,76	34,0
56	1,39	8,59	46,33	1,86	35,0
60	1,47	8,48	49,00	1,96	36,0
64	1,55	8,38	51,67	2,07	37,0
68	1,63	8,29	54,33	2,19	38,0
72	1,70	8,17	56,67	2,31	39,0

Tablica 10 Procesni parametri tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom pri tlaku od 55 bara s primjenom hlađenja

Vrijeme t (min)	Volumen permeata Vp (mL)	Protok permeata J (L/m²h)	Volumni udio permeata Y (%)	Volumni odnos retentata F	Temperatura retentata (°C)
0	0	0	0	1,00	15,0
4	0,16	13,84	5,33	1,06	25,0
8	0,31	13,41	10,33	1,12	27,0
12	0,44	12,69	14,67	1,17	29,0
16	0,57	12,33	19,00	1,23	31,0
20	0,70	12,11	23,33	1,30	32,0
24	0,82	11,82	27,33	1,38	33,0
28	0,94	11,62	31,33	1,46	34,0
32	1,05	11,35	35,00	1,54	35,0
36	1,16	11,15	38,67	1,63	36,0
40	1,27	10,99	42,33	1,73	37,0
44	1,38	10,85	46,00	1,85	38,0
48	1,48	10,67	49,33	1,97	39,0
52	1,58	10,51	52,67	2,11	40,0
56	1,68	10,38	56,00	2,27	41,0
60	1,70	9,80	56,67	2,31	42,0

Tablica 11 Procesni parametri tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom pri tlaku od 25 bara bez primjene hlađenja

Vrijeme t (min)	Volumen permeata Vp (mL)	Protok permeata J (L/m²h)	Volumni udio permeata Y (%)	Volumni odnos retentata F	Temperatura retentata (°C)
0	0	0	0	1,00	15,0
4	0,07	6,06	2,33	1,03	22,0
8	0,14	6,06	4,67	1,06	23,0
12	0,21	6,06	7,00	1,09	24,0
16	0,28	6,06	9,33	1,12	25,0
20	0,34	5,88	11,33	1,15	25,5
24	0,40	5,77	13,33	1,18	26,0
28	0,46	5,68	15,33	1,21	26,5
32	0,52	5,62	17,33	1,24	26,5
36	0,58	5,57	19,33	1,27	27,0
40	0,64	5,54	21,33	1,30	27,0
44	0,70	5,50	23,33	1,33	27,5
48	0,76	5,48	25,33	1,36	27,5
52	0,82	5,46	27,33	1,40	27,5
56	0,88	5,44	29,33	1,43	28,0
60	0,94	5,42	31,33	1,46	28,5
64	1,00	5,41	33,33	1,50	29,0
68	1,05	5,34	35,00	1,54	29,0
72	1,10	5,29	36,67	1,58	29,5
76	1,15	5,24	38,33	1,62	30,0
80	1,20	5,19	40,00	1,67	30,5
84	1,25	5,15	41,67	1,71	31,0
88	1,30	5,11	43,33	1,76	31,5
92	1,35	5,08	45,00	1,82	32,0
96	1,40	5,05	46,67	1,88	33,0
100	1,45	5,02	48,33	1,94	34,0
104	1,50	4,99	50,00	2,00	35,0
108	1,55	4,97	51,67	2,07	36,0
112	1,60	4,94	53,33	2,14	37,0
116	1,65	4,92	55,00	2,22	37,5
120	1,70	4,90	56,67	2,31	38,0

Tablica 12 Procesni parametri tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom pri tlaku od 35 bara bez primjene hlađenja

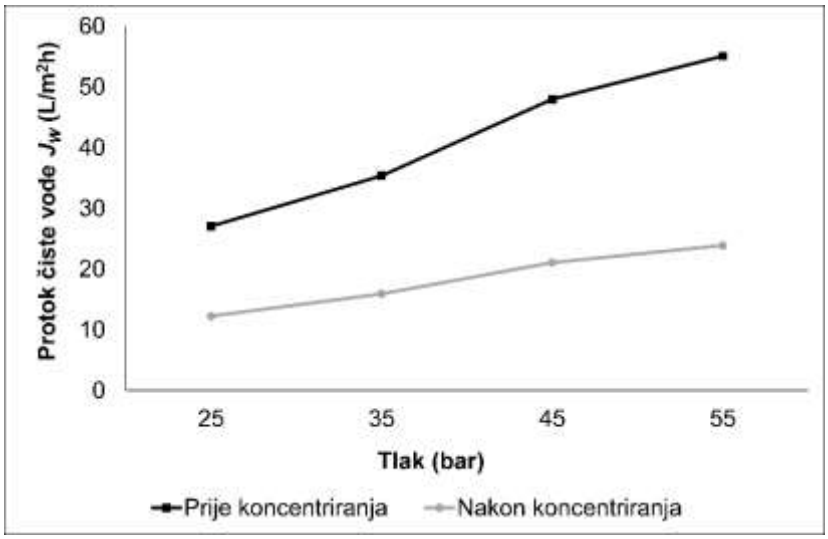
Vrijeme t (min)	Volumen permeata Vp (mL)	Protok permeata J (L/m²h)	Volumni udio permeata Y (%)	Volumni odnos retentata F	Temperatura retentata (°C)
0	0	0	0	1,00	15,0
4	0,11	9,52	3,67	1,04	20,0
8	0,22	9,52	7,33	1,08	22,0
12	0,32	9,23	10,67	1,12	24,0
16	0,42	9,08	14,00	1,16	26,0
20	0,52	9,00	17,33	1,21	28,0
24	0,62	8,94	20,67	1,26	30,0
28	0,72	8,90	24,00	1,32	32,0
32	0,82	8,87	27,33	1,38	34,0
36	0,91	8,75	30,33	1,44	36,0
40	1,00	8,65	33,33	1,50	38,0
44	1,09	8,57	36,33	1,57	40,0
48	1,18	8,51	39,33	1,65	42,0
52	1,27	8,45	42,33	1,73	44,0
56	1,36	8,40	45,33	1,83	46,0
60	1,45	8,36	48,33	1,94	48,0
64	1,54	8,33	51,33	2,05	50,0
68	1,62	8,24	54,00	2,17	52,0
72	1,70	8,17	56,67	2,31	53,0

Tablica 13 Procesni parametri tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom pri tlaku od 45 bara bez primjene hlađenja

Vrijeme t (min)	Volumen permeata Vp (mL)	Protok permeata J (L/m²h)	Volumni udio permeata Y (%)	Volumni odnos retentata F	Temperatura retentata (°C)
0	0	0	0	1,00	15,0
4	0,15	12,98	5,00	1,05	26,0
8	0,30	12,98	10,00	1,11	30,0
12	0,45	12,98	15,00	1,18	33,0
16	0,60	12,98	20,00	1,25	36,0
20	0,75	12,98	25,00	1,33	39,0
24	0,89	12,83	29,67	1,42	42,0
28	1,03	12,73	34,33	1,52	45,0
32	1,16	12,54	38,67	1,63	47,0
36	1,29	12,40	43,00	1,75	49,0
40	1,42	12,28	47,33	1,90	51,0
44	1,56	12,27	52,00	2,08	53,0
48	1,70	12,25	56,67	2,31	55,0

Tablica 14 Procesni parametri tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom pri tlaku od 55 bara bez primjene hlađenja

Vrijeme t (min)	Volumen permeata Vp (mL)	Protok permeata J (L/m²h)	Volumni udio permeata Y (%)	Volumni odnos retentata F	Temperatura retentata (°C)
0	0	0	0	1,00	15,0
4	0,18	15,57	6,00	1,06	30,0
8	0,36	15,57	12,00	1,14	33,0
12	0,54	15,57	18,00	1,22	36,0
16	0,71	15,35	23,67	1,31	39,0
20	0,87	15,05	29,00	1,41	42,0
24	1,03	14,85	34,33	1,52	45,0
28	1,18	14,58	39,33	1,65	48,0
32	1,33	14,38	44,33	1,80	51,0
36	1,48	14,23	49,33	1,97	54,0
40	1,63	14,10	54,33	2,19	56,0
44	1,70	13,37	56,67	2,31	57,0



Slika 36 Protok čiste vode J_w (L/m^{2}h) izmjeren prije i nakon koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara i temperaturi od 25 °C

Tablica 15 Indeks začepljenja membrana (FI) nakon koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara

Tlak (bar)	FI (%)
25	54,68
35	54,95
45	56,05
55	56,61

4.1.2. Utjecaj procesnih parametara na kemijski sastav, sadržaj kiselina i elemenata u tragovima

Tablica 16 Kemijski sastav početnog konvencionalnog Cabernet Sauvignon crnog vina i koncentrata (retentata) dobivenih reverznom osmozom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	Etanol (vol.%)	Glicerol (g/L)	Gustoća (g/L)	Slobodni SO_2 (mg/L)	Ukupni SO_2 (mg/L)	Reducirajući šećeri (g/L)	CO_2 (g/L)
KV	13,74 ± 0,01^{g}	9,7 ± 0,1^{f}	0,9946 ± 0,0003^{a}	12,80 ± 0,01^{c}	43,52 ± 0,01^{d}	4,1 ± 0,1^{b}	232,61 ± 0,12^{h}
1KR	5,55 ± 0,09^{b}	7,4 ± 0,1^{b}	1,0042 ± 0,0002^{d}	12,80 ± 0,02^{c}	30,72 ± 0,02^{a}	3,1 ± 0,2^{a}	143,04 ± 0,13^{a}
2KR	6,19 ± 0,10^{d}	7,8 ± 0,1^{c}	1,0034 ± 0,0003^{c}	12,80 ± 0,02^{c}	35,84 ± 0,05^{b}	3,3 ± 0,1^{a}	143,90 ± 0,23^{a}
3KR	6,77 ± 0,15^{f}	8,3 ± 0,1^{d}	1,0033 ± 0,0003^{c}	12,80 ± 0,01^{c}	43,52 ± 0,03^{d}	3,0 ± 0,3^{a}	204,56 ± 0,14^{c}
4KR	6,51 ± 0,13^{f}	8,8 ± 0,1^{e}	1,0026 ± 0,0002^{b}	11,52 ± 0,02^{b}	43,52 ± 0,02^{d}	3,2 ± 0,1^{a}	211,73 ± 0,20^{d}
5KR	5,12 ± 0,02^{a}	6,7 ± 0,1^{a}	1,0040 ± 0,0002^{d}	11,52 ± 0,01^{b}	40,96 ± 0,02^{c}	3,1 ± 0,2^{a}	160,92 ± 0,07^{b}
6KR	5,81 ± 0,05^{c}	7,3 ± 0,1^{b}	1,0034 ± 0,0001^{c}	10,24 ± 0,01^{a}	40,96 ± 0,02^{c}	3,2 ± 0,1^{a}	214,00 ± 0,01^{e}
7KR	5,84 ± 0,04^{c}	7,4 ± 0,1^{b}	1,0034 ± 0,0001^{c}	10,24 ± 0,01^{a}	40,96 ± 0,02^{c}	3,2 ± 0,1^{a}	217,61 ± 0,11^{f}
8KR	6,33 ± 0,02^{e}	7,9 ± 0,1^{c}	1,0034 ± 0,0001^{c}	10,24 ± 0,01^{a}	43,52 ± 0,03^{d}	3,1 ± 0,2^{a}	219,57 ± 0,15^{g}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-h) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KR – koncentrat konvencionalnog vina dobiven reverznom osmozom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

Tablica 17 Kemijski sastav početnog ekološkog Cabernet Sauvignon crnog vina i koncentrata dobivenih reverznom osmozom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	Etanol (vol.%)	Glicerol (g/L)	Gustoća (g/L)	Slobodni SO_2 (mg/L)	Ukupni SO_2 (mg/L)	Reducirajući šećeri (g/L)	CO_2 (g/L)
EV	13,53 ± 0,02^{g}	9,3 ± 0,2^{f}	0,9946 ± 0,0002^{a}	12,80 ± 0,01^{c}	43,52 ± 0,01^{d}	4,1 ± 0,1^{a}	444,64 ± 0,22^{h}
1ER	5,34 ± 0,03^{b}	6,4 ± 0,1^{b}	1,0035 ± 0,0003^{c}	12,80 ± 0,01^{c}	35,56 ± 0,02^{b}	4,1 ± 0,2^{a}	164,06 ± 0,05^{g}
2ER	6,20 ± 0,10^{d}	7,6 ± 0,1^{d}	1,0036 ± 0,0003^{c}	11,52 ± 0,01^{b}	44,80 ± 0,01^{e}	4,0 ± 0,2^{a}	164,52 ± 0,13^{g}
3ER	6,96 ± 0,05^{f}	8,2 ± 0,1^{e}	1,0030 ± 0,0003^{bc}	11,52 ± 0,01^{b}	44,80 ± 0,01^{e}	3,9 ± 0,2^{a}	162,39 ± 0,05^{f}
4ER	6,98 ± 0,07^{f}	8,2 ± 0,1^{e}	1,0026 ± 0,0005^{b}	11,52 ± 0,01^{b}	44,80 ± 0,01^{e}	3,8 ± 0,3^{a}	152,18 ± 0,07^{c}
5ER	5,18 ± 0,07^{a}	6,2 ± 0,1^{ab}	1,0037 ± 0,0003^{c}	11,52 ± 0,01^{b}	32,00 ± 0,02^{a}	4,2 ± 0,2^{a}	158,41 ± 0,23^{e}
6ER	5,38 ± 0,05^{b}	6,0 ± 0,1^{a}	1,0030 ± 0,0002^{bc}	10,24 ± 0,01^{a}	32,00 ± 0,02^{a}	4,0 ± 0,2^{a}	153,45 ± 0,17^{d}
7ER	5,99 ± 0,06^{c}	6,9 ± 0,1^{c}	1,0030 ± 0,0003^{bc}	10,24 ± 0,01^{a}	32,00 ± 0,02^{a}	4,0 ± 0,2^{a}	148,63 ± 0,16^{b}
8ER	6,52 ± 0,09^{e}	7,7 ± 0,1^{d}	1,0032 ± 0,0004^{bc}	10,24 ± 0,01^{a}	38,40 ± 0,03^{c}	4,0 ± 0,2^{a}	145,18 ± 0,09^{a}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-h) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: EV – početno ekološko vino; ER – koncentrat ekološkog vina dobiven reverznom osmozom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

Tablica 18 Sadržaj ukupnih i hlapivih kiselina, jabučne, mliječne, limunske, sorbinske i vinske kiseline u početnom konvencionalnom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih reverznom osmozom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	Ukupne kiseline (g/L)	Hlapive kiseline (g/L)	Jabučna kiselina (g/L)	Mliječna kiselina (g/L)	Limunska kiselina (g/L)	Sorbinska kiselina (mg/L)	Vinska kiselina (g/L)	pH
KV	4,9 ± 0,1^{d}	0,9 ± 0,1^{b}	0,8 ± 0,1^{b}	2,1 ± 0,1^{b}	0,29 ± 0,01^{b}	132,0 ± 0,1^{h}	0,7 ± 0,2^{a}	3,92 ± 0,02^{d}
1KR	3,9 ± 0,1^{ab}	0,4 ± 0,1^{a}	0,3 ± 0,1^{a}	1,5 ± 0,1^{a}	0,17 ± 0,01^{a}	43,0 ± 0,1^{c}	0,7 ± 0,1^{a}	3,73 ± 0,01^{ab}
2KR	4,1 ± 0,1^{bc}	0,5 ± 0,1^{a}	0,2 ± 0,1^{a}	1,6 ± 0,1^{a}	0,18 ± 0,01^{a}	45,0 ± 0,1^{e}	0,6 ± 0,1^{a}	3,75 ± 0,01^{b}
3KR	4,3 ± 0,1^{c}	0,5 ± 0,1^{a}	0,2 ± 0,1^{a}	1,8 ± 0,2^{a}	0,17 ± 0,03^{a}	50,0 ± 0,1^{f}	0,8 ± 0,1^{a}	3,78 ± 0,01^{c}
4KR	4,3 ± 0,1^{c}	0,5 ± 0,1^{a}	0,2 ± 0,1^{a}	1,6 ± 0,2^{a}	0,19 ± 0,01^{a}	62,0 ± 0,1^{g}	0,7 ± 0,1^{a}	3,75 ± 0,01^{b}
5KR	3,7 ± 0,1^{a}	0,4 ± 0,1^{a}	0,4 ± 0,1^{a}	1,4 ± 0,2^{a}	0,18 ± 0,01^{a}	19,0 ± 0,1^{a}	0,7 ± 0,1^{a}	3,70 ± 0,01^{a}
6KR	3,9 ± 0,1^{ab}	0,4 ± 0,1^{a}	0,3 ± 0,1^{a}	1,5 ± 0,1^{a}	0,21 ± 0,02^{a}	40,0 ± 0,1^{b}	0,6 ± 0,1^{a}	3,73 ± 0,01^{ab}
7KR	3,9 ± 0,1^{ab}	0,5 ± 0,1^{a}	0,3 ± 0,1^{a}	1,5 ± 0,1^{a}	0,21 ± 0,02^{a}	44,0 ± 0,1^{d}	0,6 ± 0,1^{a}	3,73 ± 0,01^{ab}
8KR	4,1 ± 0,1^{bc}	0,5 ± 0,1^{a}	0,2 ± 0,1^{a}	1,7 ± 0,1^{a}	0,18 ± 0,03^{a}	62,0 ± 0,1^{g}	0,6 ± 0,1^{a}	3,76 ± 0,01^{bc}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-h) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KR – koncentrat konvencionalnog vina dobiven reverznom osmozom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

Tablica 19 Sadržaj ukupnih i hlapivih kiselina te jabučne, mliječne, limunske, sorbinske i vinske kiseline u početnom ekološkom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih reverznom osmozom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	Ukupne kiseline (g/L)	Hlapive kiseline (g/L)	Jabučna kiselina (g/L)	Mliječna kiselina (g/L)	Limunska kiselina (g/L)	Sorbinska kiselina (mg/L)	Vinska kiselina (g/L)	pH
EV	5,1 ± 0,1^{d}	0,9 ± 0,1^{b}	0,6 ± 0,1^{b}	1,8 ± 0,1^{bc}	0,31 ± 0,01^{b}	47,0 ± 0,1^{c}	0,7 ± 0,1^{a}	3,75 ± 0,01^{d}
1ER	3,7 ± 0,1^{a}	0,4 ± 0,1^{a}	0,1 ± 0,1^{a}	1,1 ± 0,1^{a}	0,26 ± 0,04^{a}	-	0,6 ± 0,1^{a}	3,61 ± 0,01^{a}
2ER	4,3 ± 0,1^{c}	0,5 ± 0,1^{a}	0,1 ± 0,1^{a}	1,4 ± 0,1^{b}	0,22 ± 0,02^{a}	-	0,7 ± 0,1^{a}	3,66 ± 0,01^{bc}
3ER	4,5 ± 0,1^{c}	0,5 ± 0,1^{a}	0,1 ± 0,1^{a}	1,6 ± 0,2^{bc}	0,20 ± 0,04^{a}	-	0,6 ± 0,1^{a}	3,68 ± 0,01^{c}
4ER	4,5 ± 0,1^{c}	0,5 ± 0,1^{a}	0,1 ± 0,1^{a}	1,4 ± 0,1^{b}	0,20 ± 0,03^{a}	9,0 ± 0,1^{b}	0,7 ± 0,1^{a}	3,64 ± 0,01^{b}
5ER	3,7 ± 0,1^{a}	0,3 ± 0,1^{a}	0,2 ± 0,1^{a}	1,0 ± 0,1^{a}	0,26 ± 0,04^{a}	-	0,6 ± 0,1^{a}	3,61 ± 0,01^{a}
6ER	3,6 ± 0,1^{a}	0,4 ± 0,1^{a}	0,2 ± 0,1^{a}	1,0 ± 0,1^{a}	0,26 ± 0,04^{a}	-	0,5 ± 0,1^{a}	3,60 ± 0,01^{a}
7ER	4,0 ± 0,1^{b}	0,4 ± 0,1^{a}	0,1 ± 0,1^{a}	1,3 ± 0,1^{ab}	0,22± 0,02^{a}	-	0,6 ± 0,1^{a}	3,63 ± 0,01^{ab}
8ER	4,3 ± 0,1^{c}	0,5 ± 0,1^{a}	0,1 ± 0,1^{a}	1,5 ± 0,2^{b}	0,20 ± 0,02^{a}	6,0 ± 0,1^{a}	0,6 ± 0,1^{a}	3,66 ± 0,01^{bc}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-d) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: EV – početno ekološko vino; ER – koncentrat ekološkog vina dobiven reverznom osmozom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

Tablica 20 Sadržaj elemenata u tragovima u početnom konvencionalnom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih reverznom osmozom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Element	KV	1KR	2KR	3KR	4KR	5KR	6KR	7KR	8KR
K (mg/L)	597,7 ± 55,9^{a}	782,3 ± 10,6^{c}	892,3 ± 15,6^{d}	898,7 ± 18,1^{d}	872,2 ± 44,3^{d}	686,6 ± 68,9^{b}	866,9 ± 23,3^{d}	905,9 ± 13,2^{d}	884,5 ± 18,9^{d}
Ca (mg/L)	55,7 ± 3,2^{b}	42,1 ± 1,7^{a}	47,4 ± 6,0^{a}	48,0 ± 8,0^{a}	41,7 ± 1,3^{a}	43,3 ± 5,0^{a}	43,1 ± 7,1^{a}	40,7 ± 6,6^{a}	43,0 ± 7,4^{a}
Mn (µg/L)	1925,6 ± 33,8^{c}	726,8 ± 7,3^{a}	779,8 ± 9,1^{b}	764,5 ± 7,8^{b}	785,8 ± 12,9^{b}	725,4 ± 5,2^{a}	717,3 ± 9,9^{a}	763,2 ± 13,2^{b}	758,4 ± 15,6^{b}
Fe (µg/L)	1785,0 ± 38,6^{d}	759,7 ± 15,1^{a}	836,3 ± 9,4^{b}	867,2 ± 9,7^{c}	865,7 ± 12,9^{c}	838,1 ± 7,0^{b}	848,4 ± 11,3^{bc}	864,2 ± 7,9^{c}	863,4 ± 7,4^{c}
Cu (µg/L)	447,9 ± 21,4^{b}	67,8 ± 6,7^{a}	62,6 ± 5,8^{a}	67,8 ± 2,8^{a}	69,2 ± 4,3^{a}	64,4 ± 2,8^{a}	69,1 ± 4,8^{a}	66,2 ± 7,0^{a}	65,9 ± 6,7^{a}
Zn (µg/L)	1400,5 ± 14,8^{f}	773,3 ± 8,2^{e}	606,9 ± 5,1^{c}	577,4 ± 15,2^{b}	529,5 ± 21,3^{a}	766,2 ± 9,2^{e}	681,1 ± 14,4^{d}	702,8 ± 14,8^{d}	706,5 ± 15,3^{d}
Br (µg/L)	21,8 ± 1,1^{a}	45,9 ± 5,7^{b}	45,6 ± 1,5^{b}	41,0 ± 5,2^{b}	47,1 ± 1,5^{b}	59,2 ± 1,9^{c}	56,9 ± 1,8^{c}	69,9 ± 4,6^{d}	71,2 ± 5,1^{d}
Rb (µg/L)	1062,9 ± 48,4^{c}	534,5 ± 12,0^{b}	546,2 ± 12,1^{b}	542,2 ± 8,4^{b}	549,2 ± 7,6^{b}	513,3 ± 8,9^{a}	509,1 ± 5,8^{a}	512,9 ± 17,0^{ab}	514,1 ± 15,2^{a}
Sr (µg/L)	260,6 ± 9,9^{f}	161,4 ± 4,4^{bc}	177,0 ± 6,7^{d}	182,5 ± 5,2^{d}	233,3 ± 9,4^{e}	138,4 ± 9,2^{a}	155,9 ± 5,1^{b}	142,6 ± 5,0^{a}	151,1 ± 4,0^{ab}
Pb (µg/L)	20,7 ± 2,5^{d}	10,9 ± 1,7^{b}	14,2 ± 1,3^{bc}	11,7 ± 1,9^{b}	15,6 ± 1,5^{c}	6,4 ± 1,5^{a}	6,0 ± 1,7^{a}	6,7 ± 1,5^{a}	6,0 ± 0,2^{a}

Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima (a-f) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KR – koncentrat konvencionalnog vina dobiven reverznom osmozom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

Tablica 21 Sadržaj elemenata u tragovima u početnom ekološkom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih reverznom osmozom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Element	EV	1ER	2ER	3ER	4ER	5ER	6ER	7ER	8ER
K (mg/L)	748,7 ± 28,9^{e}	548,0 ± 5,0^{a}	561,8 ± 10,7^{a}	709,6 ± 11,5^{d}	716,8 ± 7,2^{d}	620,1 ± 4,7^{b}	637,7 ± 4,7^{b}	621,5 ± 11,5^{b}	680,9 ± 4,8^{c}
Ca (mg/L)	50,7 ± 0,1^{d}	39,2 ± 1,8^{b}	47,1 ± 3,7^{c}	47,5 ± 6,6^{c}	49,0 ± 6,0^{c}	30,9 ± 2,9^{a}	33,9 ± 1,0^{a}	33,5 ± 1,8^{a}	35,0 ± 4,0^{ab}
Mn (µg/L)	1838,2 ± 0,1^{d}	586,1 ± 9,7^{a}	700,8 ± 6,8^{c}	704,1 ± 14,1^{c}	698,7 ± 6,8^{c}	621,3 ± 10,4^{b}	624,5 ± 6,2^{b}	633,6 ± 7,5^{b}	691,5 ± 5,1^{c}
Fe (µg/L)	1317,8 ± 47,7^{e}	629,7 ± 8,5^{a}	655,5 ± 8,4^{b}	782,3 ± 9,2^{d}	802,6 ± 11,8^{d}	629,0 ± 8,9^{a}	673,2 ± 8,9^{b}	661,7 ± 7,7^{b}	757,8 ± 4,1^{c}
Cu (µg/L)	496,8 ± 24,6^{c}	59,5 ± 6,3^{ab}	73,3 ± 3,8^{b}	68,8 ± 5,5^{b}	72,8 ± 2,0^{b}	54,7 ± 3,1^{a}	56,7 ± 3,9^{a}	56,0 ± 6,3^{a}	55,0 ± 5,4^{a}
Zn (µg/L)	1212,9 ± 71,0^{d}	450,9 ± 22,6^{a}	513,0 ± 13,7^{b}	503,6 ± 13,4^{ab}	561,4 ± 5,6^{c}	461,5 ± 13,5^{a}	489,1 ± 16,9^{a}	489,7 ± 17,0^{a}	537,0 ± 14,0^{b}
Br (µg/L)	24,9 ± 2,3^{c}	58,9 ± 6,8^{a}	68,6 ± 10,9^{ab}	77,7 ± 6,5^{b}	75,2 ± 2,9^{b}	72,4 ± 8,5^{b}	78,9 ± 4,4^{b}	78,3 ± 3,8^{b}	77,4 ± 3,4^{b}
Rb (µg/L)	1663,1 ± 10,2^{g}	692,0 ± 21,1^{a}	1054,8 ± 22,6^{e}	1079,1 ± 18,6^{e}	1142,9 ± 16,9^{f}	855,6 ± 7,5^{b}	883,6 ± 12,9^{c}	883,5 ± 15,8^{c}	920,5 ± 9,4^{d}
Sr (µg/L)	520,6 ± 49,1^{f}	224,0 ± 7,0^{a}	349,8 ± 8,0^{e}	348,6 ± 6,8^{e}	349,2 ± 7,1^{e}	229,2 ± 4,0^{a}	244,9 ± 4,8^{b}	261,9 ± 8,8^{c}	289,2 ± 13,5^{d}
Pb (µg/L)	25,8 ± 1,1^{c}	14,0 ± 1,6^{a}	13,2 ± 1,6^{a}	16,0 ± 2,5^{ab}	17,1 ± 1,3^{b}	14,3 ± 1,8^{a}	13,0 ± 1,0^{a}	15,7 ± 0,9^{ab}	14,5 ± 1,3^{a}

Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima (a-g) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: EV – početno ekološko vino; ER – koncentrat ekološkog vina dobiven reverznom osmozom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

4.1.3. Utjecaj procesnih parametara na aromatski profil

Tablica 22 Aromatski spojevi identificirani u konvencionalnom i ekološkom crnom vinu Cabernet Sauvignon te njihovi retencijski indeksi, miris, *m/z* omjer, limit detekcije i kvantifikacije za primijenjenu GC-MS analizu

Spoj	RI[1]	Miris[2]	LOD[3]	LOQ[4]	*m/z*[5]	Spoj	RI[1]	Miris[2]	LOD[3]	LOQ[4]	*m/z*[5]
Kiseline			µg/L	µg/L		**Esteri**			µg/L	µg/L	
Octena kiselina	622	ocat	30,0	100,0	60	Etil-heksanoat	997	voće	1,2	4,0	115-144
Oktanska kiselina	1199	mast	0,9	3,0	101-115	Etil-4-hidroksibutanoat	1060	karamela	1,2	4,0	132
Dekanska kiselina	1376	mast	1,2	4,0	129-158	Dietil-sukcinat	1179	voće	50,7	169,0	129-174
Laurinska kiselina	1556	mast	0,3	1,0	157-200	Etil-oktanoat	1191	voće	9,6	32,0	127-172
Miristinska kiselina	1749	mast	0,3	1,0	185-228	Etil-sukcinat	1198	slab	8,7	29,0	128-146
Palmitinska kiselina	2004	mast	0,3	1,0	213-256	Fenetil-acetat	1248	cvijeće	2,7	9,0	104-164
Alkoholi						Etil-dekanoat	1391	voće	2,7	9,0	155-200
Izoamilni alkohol	734	voće	96,0	320,0	70-88	Etil-vanilat	1580	dim	0,6	2,0	151-196
Butan-2,3-dio	804	voće	27,6	92,0	45-90	Etil-laurat	1584	mast	0,9	3,0	183-228
Heksan-1-ol	868	zelenilo	1,8	6,0	84-102	Heksil-salicilat	1667	zelenilo	0,3	1,0	120-222
Metionol	981	sumpor	0,6	2,0	88-106	Etil-miristat	1778	mast	0,6	2,0	88-256
Benzilni alkohol	1037	voće	0,3	1,0	79-108	Diizobutil-ftalat	1859	slab	3,3	11,0	149-278
Oktan-1-ol	1071	zelenilo	0,3	1,0	112-130	Etil-pentadekanoat	1880	med	1,8	6,0	225-270
2-fenetiletanol	1103	cvijeće	87,3	291,0	91-122	Metil-palmitat	1907	mast	1,5	5,0	239-270
Dodekanol	1469	mast	0,3	1,0	168-186	Dibutil-ftalat	1953	slab	1,2	4,0	149-278
Karbonilni spojevi						Etil-palmitat	1978	mast	5,4	18,0	239-284
4-propilbenzaldehid	1261	slab	0,3	1,0	119-148	Etil-linoleat	2146	mast	0,3	1,0	263-308
Geranil aceton	1448	cvijeće	0,3	1,0	176-194	Etil-oleat	2152	mast	0,6	2,0	264-310
Lili aldehid	1517	cvijeće	0,3	1,0	189-204	Etil-stearat	2176	mast	1,5	5,0	267-312
Heksilcinamaldehid	1738	cvijeće	0,3	1,0	129-216	**Hlapivi fenoli**					
Terpeni						4-etilfenol	1166	dim	1,8	6,0	107-122
α-terpinolen	1092	citrusi	0,3	1,0	121-136	4-etilgvajakol	1268	dim	0,9	3,0	137-152
β-citronelol	1223	citrusi	0,6	2,0	138-156	2,4-di-*tert*-butylphenol	1501	slab	54,3	181,0	191-206
β-damascenon	1377	voće	0,3	1,0	175-190						
β-jonon	1476	voće	0,3	1,0	177-192						
Fenantren	1772	slab	0,3	1,0	178						

[1]Retencijski indeks; [2]Glavni miris ili aromatska nota kojom navedeni spoj doprinosi ukupnoj aromi vina; [3]Limit detekcije; [4]Limit kvantifikacije; [5]omjer mase i naboja na osnovu kojeg se neki spoj identificira na masenom spektru.

Tablica 23 Sadržaj aromatskih spojeva identificiranih u početnom konvencionalnom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih reverznom osmozom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Spoj	KV	1KR	2KR	3KR	4KR	5KR	6KR	7KR	8KR
∑Kiseline (µg/L)	984,1 ± 10,8^{h}	239,1 ± 1,4^{b}	276,4 ± 3,4^{d}	315,2 ± 5,5^{f}	478,1 ± 7,3^{g}	212,0 ± 1,9^{a}	246,8 ± 4,0^{c}	272,9 ± 3,4^{d}	291,0 ± 5,4^{e}
Octena kiselina (µg/L)	394,1 ± 3,2^{b}	-	-	-	103,7 ± 2,4^{a}	-	-	-	-
Oktanska kiselina (µg/L)	341,6 ± 5,3^{g}	68,4 ± 0,3^{a}	87,7 ± 1,9^{d}	117,7 ± 4,5^{e}	156,3 ± 2,3^{f}	68,0 ± 0,1^{a}	72,2 ± 0,8^{b}	82,6 ± 1,1^{c}	87,9 ± 1,8^{d}
Dekanska kiselina (µg/L)	172,4 ± 1,5^{g}	112,9 ± 0,8^{b}	122,0 ± 0,9^{c}	127,7 ± 0,1^{d}	143,9 ± 1,0^{f}	88,1 ± 0,5^{a}	111,3 ± 1,8^{b}	123,6 ± 1,6^{c}	136,0 ± 2,7^{e}
Laurinska kiselina (µg/L)	45,7 ± 0,1^{f}	35,9 ± 0,1^{a}	42,7 ± 0,1^{d}	44,1 ± 0,5^{e}	45,6 ± 1,2^{ef}	35,5 ± 1,1^{a}	39,5 ± 1,0^{b}	41,6 ± 0,4^{c}	40,2 ± 0,3^{b}
Miristinska kiselina (µg/L)	22,0 ± 0,7^{g}	16,8 ± 0,1^{b}	18,6 ± 0,4^{cd}	19,6 ± 0,4^{d}	21,5 ± 0,3^{f}	16,0 ± 0,1^{a}	18,5 ± 0,2^{c}	19,1 ± 0,2^{d}	20,5 ± 0,4^{e}
Palmitinska kiselina (µg/L)	8,3 ± 0,0^{e}	5,1 ± 0,1^{b}	5,4 ± 0,1^{b}	6,1 ± 0,1^{c}	6,9 ± 0,1^{d}	4,3 ± 0,2^{a}	5,2 ± 0,2^{b}	6,0 ± 0,1^{c}	6,3 ± 0,2^{c}
∑Alkoholi (mg/L)	13,21 ± 0,06^{g}	5,92 ± 0,04^{d}	6,63± 0,09^{e}	6,75 ± 0,04^{e}	7,26 ± 0,08^{f}	4,94 ± 0,07^{a}	5,30 ± 0,06^{b}	5,73 ± 0,03^{c}	6,61 ± 0,10^{e}
Izoamilni alkohol (mg/L)	7,15 ± 0,02^{g}	3,48 ± 0,03^{c}	4,00 ± 0,05^{de}	4,06 ± 0,02^{e}	4,23 ± 0,01^{f}	2,91 ± 0,05^{a}	3,16 ± 0,04^{b}	3,55 ± 0,01^{c}	3,92 ± 0,04^{d}
Butan-2,3-diol (µg/L)	507,2 ± 0,8^{f}	82,4 ± 1,7^{b}	95,8 ± 0,4^{c}	112,8 ± 0,4^{d}	137,8 ± 0,2^{e}	-	40,3 ± 0,6^{a}	40,1 ± 0,4^{a}	41,6 ± 1,1^{a}
Heksan-1-ol (µg/L)	868,4 ± 8,0^{g}	60,6 ± 0,4^{d}	72,3 ± 0,2^{e}	75,1 ± 0,8^{f}	74,6 ± 0,2^{f}	29,2 ± 0,3^{a}	42,2 ± 0,6^{b}	41,2 ± 0,6^{b}	43,9 ± 0,5^{c}
Metionol (µg/L)	45,9 ± 1,2^{e}	31,6 ± 0,3^{d}	22,8 ± 0,5^{c}	20,6 ± 0,3^{b}	16,8 ± 0,5^{a}	-	-	-	-
Benzilni alkohol (µg/L)	48,6 ± 0,0^{i}	22,6 ± 0,3^{d}	23,9 ± 0,2^{e}	29,8 ± 1,2^{f}	36,5 ± 0,7^{h}	16,6 ± 0,2^{a}	18,7 ± 0,1^{b}	19,0 ± 0,2^{c}	33,0 ± 0,2^{g}
Oktan-1-ol (µg/L)	57,0 ± 0,1^{g}	45,1 ± 0,4^{c}	45,0 ± 0,1^{c}	52,3 ± 0,5^{e}	54,1 ± 0,4^{f}	42,3 ± 0,5^{a}	43,5 ± 0,1^{b}	42,7 ± 0,2^{a}	47,8 ± 0,7^{d}
2-feniletanol (mg/L)	4,42 ± 0,03^{f}	2,12 ± 0,01^{b}	2,26 ± 0,04^{c}	2,28 ± 0,02^{c}	2,61 ± 0,07^{e}	1,88 ± 0,02^{a}	1,92 ± 0,02^{a}	1,95 ± 0,02^{a}	2,43 ± 0,06^{d}
Dodekanol (µg/L)	113,8 ± 1,7^{e}	73,9 ± 1,8^{c}	109,1 ± 3,4^{e}	112,9 ± 1,6^{e}	113,3 ± 2,1^{e}	55,9 ± 0,1^{a}	69,7 ± 1,3^{b}	89,7 ± 0,4^{d}	89,6 ± 0,5^{d}
∑Karbonilni spojevi (µg/L)	81,3 ± 2,0^{h}	39,9 ± 1,1^{c}	43,5 ± 0,8^{d}	52,9 ± 0,7^{f}	54,4 ± 0,4^{g}	28,7 ± 0,4^{a}	34,8 ± 0,9^{b}	45,6 ± 1,0^{de}	46,6 ± 0,6^{e}
4-propilbenzaldehid (µg/L)	21,2 ± 0,6^{e}	12,7 ± 0,5^{cd}	12,5 ± 0,1^{c}	12,9 ± 0,1^{d}	12,7 ± 0,1^{d}	7,2 ± 0,2^{a}	7,5 ± 0,1^{a}	8,3 ± 0,1^{b}	8,0 ± 0,2^{b}
Geranil aceton (µg/L)	24,4 ± 0,2^{f}	7,7 ± 0,1^{a}	10,5 ± 0,3^{b}	19,4 ± 0,4^{d}	20,5 ± 0,2^{e}	7,6 ± 0,1^{a}	10,5 ± 0,4^{b}	17,0 ± 0,4^{c}	17,2 ± 0,3^{c}
Lili aldehid (µg/L)	19,9 ± 1,1^{d}	10,2 ± 0,4^{c}	10,6 ± 0,1^{c}	10,6 ± 0,1^{c}	10,5 ± 0,1^{c}	6,5 ± 0,1^{a}	7,5 ± 0,3^{b}	10,7 ± 0,2^{c}	10,6 ± 0,1^{c}
Heksilcinamaldehid (µg/L)	15,8 ± 0,1^{e}	9,4 ± 0,1^{b}	9,8 ± 0,3^{bc}	10,0 ± 0,1^{c}	10,7 ± 0,1^{d}	7,3 ± 0,1^{a}	9,4 ± 0,2^{b}	9,6 ± 0,2^{b}	10,7 ± 0,1^{d}
∑Terpeni (µg/L)	194,4 ± 5,0^{h}	68,0 ± 1,2^{c}	72,3 ± 0,9^{d}	81,4 ± 1,3^{f}	90,2 ± 0,9^{g}	56,1 ± 1,1^{a}	62,2 ± 1,0^{b}	67,9 ± 0,9^{c}	76,3 ± 1,1^{e}
α-terpinolen (µg/L)	87,3 ± 2,9^{g}	36,4 ± 0,1^{c}	36,8 ± 0,2^{c}	39,7 ± 0,5^{e}	45,7 ± 0,3^{f}	30,5 ± 0,4^{a}	31,0 ± 0,2^{a}	34,3 ± 0,2^{b}	37,9 ± 0,2^{d}
β-citronelol (µg/L)	20,6 ± 0,2^{c}	6,8 ± 0,2^{a}	7,6 ± 0,2^{b}	7,5 ± 0,1^{b}	7,4 ± 0,1^{b}	6,4 ± 0,2^{a}	7,2 ± 0,2^{b}	7,5 ± 0,2^{b}	7,5 ± 0,3^{b}
β-damascenon (µg/L)	48,0 ± 0,8^{g}	11,7 ± 0,3^{b}	13,4 ± 0,1^{c}	17,1 ± 0,6^{e}	19,8 ± 0,3^{f}	10,3 ± 0,1^{a}	11,4 ± 0,3^{b}	11,7 ± 0,1^{b}	14,3 ± 0,1^{d}
β-jonon (µg/L)	31,7 ± 1,1^{e}	8,6 ± 0,4^{bc}	9,4 ± 0,4^{c}	10,6 ± 0,2^{d}	10,9 ± 0,1^{d}	5,1 ± 0,2^{a}	8,1 ± 0,1^{b}	9,2 ± 0,3^{c}	10,1 ± 0,3^{d}
Fenantren (µg/L)	6,8 ± 0,1^{d}	4,2 ± 0,2^{a}	5,2 ± 0,1^{b}	6,4 ± 0,1^{c}	6,4 ± 0,2^{c}	3,9 ± 0,2^{a}	4,2 ± 0,1^{a}	5,1 ± 0,1^{b}	6,4 ± 0,1^{c}

Tablica 23 Nastavak

Spoj	KV	1KR	2KR	3KR	4KR	5KR	6KR	7KR	8KR
∑Esteri (mg/L)	4,08 ± 0,05^{f}	2,77 ± 0,07^{bc}	2,89 ± 0,09^{c}	2,88 ± 0,04^{c}	3,13 ± 0,03^{e}	2,32 ± 0,07^{a}	2,65 ± 0,09^{b}	2,71 ± 0,06^{b}	3,02 ± 0,03^{d}
Etil-heksanoat (µg/L)	156,8 ± 1,5^{f}	19,6 ± 0,5^{a}	22,5 ± 0,2^{c}	43,7 ± 0,6^{e}	44,6 ± 1,1^{e}	-	21,7 ± 0,3^{b}	21,7 ± 0,1^{b}	31,7 ± 0,4^{d}
Etil-4-hidroksibutanoat (µg/L)	53,5 ± 0,1^{g}	26,5 ± 0,3^{f}	24,7 ± 0,1^{e}	22,3 ± 0,1^{d}	16,4 ± 0,4^{a}	21,4 ± 0,3^{c}	21,4 ± 0,5^{c}	19,8 ± 0,6^{b}	16,8 ± 0,2^{a}
Dietil-sukcinat (mg/L)	2,84 ± 0,04^{d}	2,17 ± 0,07^{b}	2,21 ± 0,08^{b}	2,12 ± 0,04^{b}	2,33 ± 0,02^{c}	1,90 ± 0,07^{a}	2,14 ± 0,08^{b}	2,12 ± 0,05^{b}	2,37 ± 0,03^{c}
Etil-oktanoat (µg/L)	346,7 ± 1,6^{i}	205,8 ± 0,1^{d}	264,1 ± 5,5^{f}	279,4 ± 1,9^{g}	302,8 ± 5,3^{h}	125,0 ± 3,2^{a}	146,2 ± 2,5^{b}	184,8 ± 3,8^{c}	210,2 ± 1,8^{e}
Etil–sukcinat (µg/L)	282,3 ± 8,7^{h}	182,6 ± 0,7^{d}	174,2 ± 1,1^{c}	198,8 ± 1,3^{f}	202,3 ± 2,2^{g}	138,0 ± 0,1^{a}	162,6 ± 0,6^{b}	172,8 ± 2,2^{c}	186,2 ± 0,8^{e}
Fenetil-acetat (µg/L)	64,2 ± 2,5^{f}	36,8 ± 0,4^{b}	56,4 ± 0,7^{d}	62,7 ± 0,7^{f}	63,2 ± 0,4^{f}	26,4 ± 0,2^{a}	43,8 ± 1,5^{c}	59,1 ± 0,1^{e}	59,5 ± 0,4^{e}
Etil-dekanoat (µg/L)	26,1 ± 1,4^{e}	11,7 ± 0,2^{b}	13,8 ± 0,3^{c}	14,9 ± 0,2^{d}	15,3 ± 0,2^{d}	7,5 ± 0,3^{a}	11,9 ± 0,1^{b}	13,7 ± 0,2^{c}	14,0 ± 0,3^{c}
Etil-vanilat (µg/L)	10,7 ± 0,3^{d}	8,4 ± 0,1^{b}	10,5 ± 0,5^{d}	11,5 ± 0,1^{e}	15,2 ± 0,3^{g}	7,5 ± 0,4^{a}	8,3 ± 0,1^{b}	9,5 ± 0,2^{c}	13,6 ± 0,1^{f}
Etil-laurat (µg/L)	23,3 ± 1,2^{f}	14,0 ± 0,2^{b}	18,0 ± 0,1^{d}	20,0 ± 0,3^{e}	23,5 ± 0,4^{f}	13,1 ± 0,1^{a}	14,1 ± 0,1^{b}	16,6 ± 0,1^{c}	20,2 ± 0,1^{e}
Heksil-salicilat (µg/L)	18,5 ± 0,5^{f}	8,2 ± 0,1^{b}	10,0 ± 0,1^{cd}	10,3 ± 0,2^{d}	12,7 ± 0,1^{e}	6,6 ± 0,1^{a}	9,6 ± 0,3^{c}	10,2 ± 0,2^{d}	12,3 ± 0,3^{e}
Etil-miristat (µg/L)	16,8 ± 0,2^{f}	7,3 ± 0,2^{e}	5,6 ± 0,1^{c}	5,4 ± 0,1^{c}	5,5 ± 0,1^{c}	6,7 ± 0,1^{d}	5,0 ± 0,2^{bc}	4,7 ± 0,1^{b}	4,0 ± 0,1^{a}
Diizobutil-ftalat (µg/L)	34,4 ± 0,3^{e}	28,6 ± 0,1^{c}	31,4 ± 0,2^{d}	33,4 ± 1,1^{e}	34,1 ± 1,9^{e}	25,4 ± 0,1^{a}	27,0 ± 0,6^{b}	32,8 ± 1,5^{de}	30,9 ± 0,2^{d}
Etil-pentadekanoat (µg/L)	15,7 ± 0,1^{e}	7,9 ± 0,1^{bc}	7,3 ± 0,2^{b}	7,8 ± 0,3^{bc}	8,7 ± 0,2^{d}	6,7 ± 0,1^{a}	7,4 ± 0,1^{b}	7,6 ± 0,1^{b}	8,1 ± 0,1^{c}
Metil-palmitat (µg/L)	7,5 ± 0,2^{e}	5,4 ± 0,1^{d}	4,4 ± 0,2^{c}	4,5 ± 0,1^{c}	4,1 ± 0,2^{c}	3,8 ± 0,1^{bc}	3,6 ± 0,3^{a}	3,1 ± 0,1^{a}	3,3 ± 0,1^{a}
Dibutil-ftalat (µg/L)	33,3 ± 0,4^{f}	20,0 ± 0,1^{b}	22,6 ± 0,6^{c}	28,6 ± 0,3^{d}	32,5 ± 0,7^{e}	15,0 ± 0,2^{a}	20,0 ± 1,0^{b}	22,4 ± 1,0^{c}	28,7 ± 0,7^{d}
Etil-palmitat (µg/L)	104,3 ± 1,0^{h}	13,1 ± 0,7^{d}	15,4 ± 0,4^{f}	14,6 ± 0,1^{e}	17,5 ± 0,3^{g}	9,6 ± 0,1^{a}	10,2 ± 0,3^{b}	11,3 ± 0,3^{c}	13,8 ± 0,5^{d}
Etil-linoleat (µg/L)	18,6 ± 0,4^{c}	-	3,3 ± 0,1^{a}	3,2 ± 0,1^{a}	5,1 ± 0,1^{b}	-	-	-	-
Etil-oleat (µg/L)	10,0 ± 0,2^{a}	-	-	-	-	-	-	-	-
Etil-stearat (µg/L)	9,6 ± 0,4^{a}	-	-	-	-	-	-	-	-
∑Hlapivi fenoli (µg/L)	830,6 ± 10,6^{g}	404,9 ± 2,9^{b}	455,0 ± 5,2^{d}	482,5 ± 1,1^{f}	465,4 ± 7,6^{e}	319,9 ± 1,4^{a}	436,4 ± 2,7^{c}	464,1 ± 2,1^{e}	467,4 ± 4,5^{e}
4-etilfenol (µg/L)	111,0 ± 1,1^{f}	15,7 ± 00,4^{a}	17,8 ± 0,7^{b}	19,2 ± 0,1^{c}	22,5 ± 0,5^{e}	14,7 ± 0,4^{a}	15,1 ± 0,5^{a}	18,5 ± 0,3^{b}	21,7 ± 0,4^{d}
4-etilgvajakol (µg/L)	139,7 ± 1,5^{f}	6,8 ± 0,2^{b}	11,0 ± 0,1^{d}	12,2 ± 0,1^{e}	12,9 ± 0,1^{e}	5,4 ± 0,5^{a}	7,9 ± 0,1^{c}	10,2 ± 0,1^{d}	10,6 ± 0,3^{d}
2,4-di-*tert*-butilfenol (µg/L)	579,9 ± 8,1^{g}	382,3 ± 2,3^{b}	426,2 ± 4,5^{d}	451,1 ± 1,0^{f}	429,9 ± 7,1^{d}	299,7 ± 0,5^{a}	413,3 ± 2,1^{c}	435,4 ± 1,8^{e}	435,0 ± 3,8^{de}

Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima (a-i) su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KR – koncentrat konvencionalnog vina dobiven reverznom osmozom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

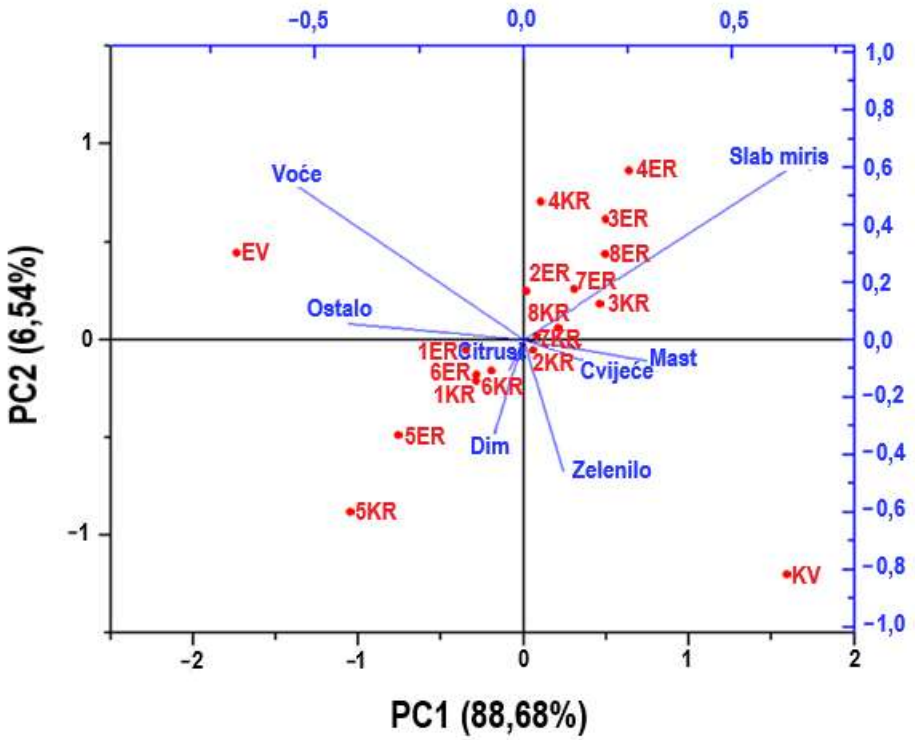
Tablica 24 Sadržaj aromatskih spojeva identificiranih u početnom ekološkom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih reverznom osmozom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Spoj	EV	1ER	2ER	3ER	4ER	5ER	6ER	7ER	8ER
∑Kiseline (µg/L)	1634,4 ± 10,7^{g}	199,2 ± 4,2^{b}	250,2 ± 3,2^{c}	298,6 ± 4,2^{e}	419,2 ± 2,2^{f}	161,2 ± 3,7^{a}	205,9 ± 3,9^{b}	249,4 ± 3,9^{c}	267,8 ± 4,6^{d}
Octena kiselina (µg/L)	1043,0 ± 9,5^{b}	-	-	-	99,4 ± 0,3^{a}	-	-	-	-
Oktanska kiselina (µg/L)	311,9 ± 0,6^{h}	31,4 ± 1,0^{b}	36,7 ± 0,1^{d}	48,5 ± 1,4^{f}	52,1 ± 0,5^{g}	25,0 ± 1,0^{a}	34,8 ± 0,7^{c}	44,2 ± 0,2^{e}	49,4 ± 0,2^{f}
Dekanska kiselina (µg/L)	165,1 ± 0,4^{h}	103,5 ± 2,3^{b}	132,2 ± 2,5^{d}	158,3 ± 1,3^{f}	162,8 ± 0,7^{g}	89,5 ± 1,0^{a}	116,6 ± 2,0^{c}	144,7 ± 2,6^{e}	143,7 ± 2,6^{e}
Laurinska kiselina (µg/L)	83,9 ± 0,0^{i}	49,5 ± 0,5^{d}	63,6 ± 0,2^{f}	71,7 ± 1,1^{g}	81,1 ± 0,4^{h}	35,4 ± 1,4^{a}	40,6 ± 0,9^{b}	44,9 ± 0,6^{c}	55,6 ± 1,3^{e}
Miristinska kiselina (µg/L)	22,6 ± 0,2^{g}	12,0 ± 0,3^{b}	14,5 ± 0,3^{c}	15,3 ± 0,2^{d}	18,6 ± 0,1^{f}	10,2 ± 0,2^{a}	12,7 ± 0,2^{b}	13,9 ± 0,3^{c}	16,6 ± 0,4^{e}
Palmitinska kiselina (µg/L)	8,0 ± 0,0^{f}	2,8 ± 0,1^{c}	3,3 ± 0,1^{d}	4,9 ± 0,2^{e}	5,3 ± 0,2^{e}	1,1 ± 0,1^{a}	1,2 ± 0,1^{a}	1,7 ± 0,1^{b}	2,6 ± 0,1^{c}
∑Alkoholi (mg/L)	38,25 ± 0,48^{h}	5,09 ± 0,11^{c}	6,93 ± 0,06^{e}	8,58 ± 0,09^{f}	10,55 ± 0,18^{g}	3,82 ± 0,19^{a}	4,39 ± 0,22^{b}	5,92 ± 0,11^{d}	6,98 ± 0,07^{e}
Izoamilni alkohol (mg/L)	31,79 ± 0,41^{i}	3,52 ± 0,08^{c}	4,88 ± 0,05^{f}	6,10 ± 0,07^{g}	7,34 ± 0,10^{h}	2,49 ± 0,15^{a}	2,87 ± 0,14^{b}	3,73 ± 0,08^{d}	4,43 ± 0,05^{e}
Butan-2,3-diol (µg/L)	512,7 ± 0,8^{i}	104,5 ± 1,2^{e}	172,2 ± 2,0^{f}	222,2 ± 2,1^{g}	249,3 ± 0,4^{h}	51,7 ± 0,7^{a}	74,4 ± 1,0^{b}	82,7 ± 1,3^{c}	100,2 ± 1,4^{d}
Heksan-1-ol (µg/L)	755,2 ± 6,8^{i}	86,7 ± 0,1^{c}	95,8 ± 1,0^{e}	126,1 ± 3,6^{g}	154,8 ± 1,6^{h}	69,1 ± 1,7^{a}	73,5 ± 1,7^{b}	90,5 ± 0,6^{d}	109,3 ± 0,8^{f}
Metionol (µg/L)	36,5 ± 0,5^{d}	36,4 ± 0,5^{d}	31,3 ± 0,6^{c}	23,5 ± 1,3^{b}	16,7 ± 0,2^{a}	-	-	-	-
Benzilni alkohol (µg/L)	43,6 ± 0,6^{h}	9,3 ± 0,2^{c}	21,5 ± 0,5^{f}	22,2 ± 0,9^{f}	36,3 ± 0,1^{g}	2,2 ± 0,2^{a}	4,8 ± 0,1^{b}	14,3 ± 0,3^{d}	18,1 ± 0,1^{e}
Oktan-1-ol (µg/L)	72,3 ± 0,3^{b}	23,3 ± 1,6^{a}	22,1 ± 0,5^{a}	22,2 ± 1,2^{a}	22,5 ± 0,9^{a}	21,3 ± 0,6^{a}	22,2 ± 1,7^{a}	21,3 ± 0,2^{a}	22,6 ± 0,8^{a}
2-feniletanol (mg/L)	4,93 ± 0,02^{g}	1,25 ± 0,02^{b}	1,63 ± 0,01^{c}	1,97 ± 0,02^{d}	2,63 ± 0,08^{f}	1,14 ± 0,03^{a}	1,28 ± 0,08^{b}	1,90 ± 0,03^{d}	2,21 ± 0,01^{e}
Dodekanol (µg/L)	101,3 ± 0,4^{g}	68,1 ± 0,1^{b}	83,9 ± 0,7^{d}	92,2 ± 2,0^{f}	100,3 ± 1,5^{g}	40,4 ± 0,1^{a}	69,4 ± 1,2^{b}	80,4 ± 0,6^{c}	88,4 ± 1,4^{e}
∑Karbonilni spojevi (µg/L)	89,4 ± 0,6^{g}	57,9 ± 1,1^{c}	62,6 ± 1,2^{d}	66,7 ± 0,9^{e}	71,5 ± 0,8^{f}	45,9 ± 1,0^{a}	49,8 ± 1,0^{b}	58,6 ± 1,4^{c}	60,0 ± 1,0^{cd}
4-propilbenzaldehid (µg/L)	25,0 ± 0,3^{d}	19,3 ± 0,1^{c}	18,7 ± 0,6^{c}	19,5 ± 0,3^{c}	19,0 ± 0,6^{c}	12,5 ± 0,5^{a}	12,7 ± 0,3^{a}	15,2 ± 0,6^{b}	15,7 ± 0,1^{b}
Geranil aceton (µg/L)	25,8 ± 0,1^{e}	15,7 ± 0,7^{a}	17,1 ± 0,2^{b}	18,4 ± 0,4^{c}	23,8 ± 0,1^{d}	14,7 ± 0,1^{a}	15,1 ± 0,3^{a}	17,5 ± 0,1^{b}	17,6 ± 0,1^{b}
Lili aldehid (µg/L)	18,3 ± 0,1^{g}	12,5 ± 0,1^{c}	14,3 ± 0,1^{e}	15,0 ± 0,1^{f}	14,8 ± 0,1^{f}	9,9 ± 0,4^{a}	11,5 ± 0,1^{b}	13,2 ± 0,3^{d}	13,1 ± 0,5^{d}
Heksilcinamaldehid (µg/L)	20,4 ± 0,1^{e}	10,4 ± 0,2^{b}	12,5 ± 0,2^{c}	13,8 ± 0,1^{d}	13,9 ± 0,1^{d}	8,9 ± 0,2^{a}	10,6 ± 0,3^{b}	12,6 ± 0,3^{c}	13,6 ± 0,3^{d}
∑Terpeni (µg/L)	210,9 ± 3,8^{h}	56,2 ± 1,6^{b}	66,9 ± 1,1^{c}	83,1 ± 0,4^{f}	91,9 ± 1,1^{g}	42,9 ± 0,8^{a}	57,2 ± 1,6^{b}	72,1 ± 0,9^{d}	79,5 ± 1,8^{e}
α-terpinolen (µg/L)	111,7 ± 1,8^{h}	25,5 ± 0,6^{c}	26,8 ± 0,6^{c}	33,1 ± 0,1^{f}	34,7 ± 0,7^{g}	17,9 ± 0,1^{a}	22,4 ± 0,3^{b}	28,1 ± 0,3^{d}	30,2 ± 0,9^{e}
β-citronelol (µg/L)	17,7 ± 0,2^{d}	7,5 ± 0,2^{a}	9,9 ± 0,2^{b}	12,6 ± 0,1^{c}	12,9 ± 0,2^{c}	7,5 ± 0,4^{a}	10,4 ± 0,6^{b}	12,6 ± 0,1^{c}	12,8 ± 0,3^{c}
β-damascenon (µg/L)	31,1 ± 0,6^{g}	9,3 ± 0,4^{b}	10,8 ± 0,1^{c}	12,3 ± 0,2^{d}	16,3 ± 0,1^{f}	5,9 ± 0,1^{a}	8,5 ± 0,3^{b}	11,3 ± 0,3^{c}	14,8 ± 0,2^{e}
β-jonon (µg/L)	43,4 ± 1,2^{i}	9,4 ± 0,1^{b}	14,5 ± 0,1^{d}	19,0 ± 0,1^{g}	21,9 ± 0,1^{h}	8,1 ± 0,1^{a}	11,5 ± 0,4^{c}	15,6 ± 0,1^{e}	16,2 ± 0,1^{f}
Fenantren (µg/L)	7,0 ± 0,0^{e}	4,5 ± 0,3^{b}	4,8 ± 0,1^{b}	6,1 ± 0,1^{d}	6,1 ± 0,1^{d}	3,4 ± 0,1^{a}	4,5 ± 0,1^{b}	4,5 ± 0,1^{b}	5,4 ± 0,3^{c}

Tablica 24 Nastavak

Spoj	EV	1ER	2ER	3ER	4ER	5ER	6ER	7ER	8ER
∑Esteri (mg/L)	4,12 ± 0,02^{g}	2,60 ± 0,05^{c}	2,88 ± 0,04^{d}	3,10 ± 0,08^{e}	3,41 ± 0,06^{f}	1,98 ± 0,02^{a}	2,19 ± 0,07^{b}	2,55 ± 0,04^{c}	2,88 ± 0,04^{d}
Etil-heksanoat (µg/L)	141,5 ± 0,9^{g}	49,9 ± 1,1^{c}	53,0 ± 0,3^{d}	84,7 ± 1,0^{e}	109,1 ± 0,1^{f}	-	31,3 ± 0,9^{a}	40,6 ± 0,2^{b}	50,0 ± 0,5^{c}
Etil-4-hidroksibutanoat (µg/L)	33,4 ± 0,3^{f}	15,8 ± 0,1^{c}	17,7 ± 0,5^{d}	18,2 ± 0,4^{d}	19,3 ± 0,5^{e}	12,6 ± 0,2^{a}	14,3 ± 0,5^{b}	15,3 ± 0,5^{c}	19,0 ± 0,2^{e}
Dietil-sukcinat (mg/L)	2,93 ± 0,01^{g}	2,15 ± 0,05^{c}	2,38 ± 0,03^{d}	2,50 ± 0,07^{e}	2,71 ± 0,05^{f}	1,65 ± 0,02^{a}	1,81 ± 0,07^{b}	2,07 ± 0,03^{c}	2,33 ± 0,04^{d}
Etil-oktanoat (µg/L)	367,8 ± 0,4^{g}	64,9 ± 0,3^{d}	67,6 ± 2,1^{de}	66,4 ± 0,06^{e}	78,5 ± 0,9^{f}	46,6 ± 0,8^{a}	51,3 ± 0,5^{b}	61,5 ± 1,3^{c}	65,5 ± 1,3^{de}
Etil–sukcinat (µg/L)	248,6 ± 0,3^{i}	145,1 ± 3,8^{c}	167,5 ± 0,5^{d}	195,6 ± 0,3^{f}	240,5 ± 1,5^{h}	128,3 ± 0,9^{a}	132,5 ± 0,9^{b}	191,3 ± 0,4^{e}	219,0 ± 3,6^{g}
Fenetil-acetat (µg/L)	69,6 ± 0,4^{e}	31,3 ± 0,2^{b}	32,9 ± 0,2^{c}	44,5 ± 0,2^{d}	44,3 ± 0,2^{d}	30,0 ± 0,4^{a}	31,1 ± 0,5^{b}	32,8 ± 0,7^{c}	33,5 ± 0,3^{c}
Etil-dekanoat (µg/L)	19,5 ± 0,3^{f}	11,2 ± 0,2^{b}	12,6 ± 0,1^{c}	14,7 ± 0,1^{d}	19,0 ± 0,3^{e}	10,5 ± 0,2^{a}	10,2 ± 0,1^{a}	12,3 ± 0,1^{c}	14,2 ± 0,1^{d}
Etil-vanilat (µg/L)	30,0 ± 0,2^{h}	16,3 ± 0,2^{d}	18,2 ± 0,1^{e}	24,0 ± 0,3^{f}	26,8 ± 0,3^{g}	10,5 ± 0,2^{a}	11,7 ± 0,3^{b}	14,3 ± 0,3^{c}	14,0 ± 0,1^{c}
Etil-laurat (µg/L)	40,3 ± 0,4^{g}	24,7 ± 0,3^{c}	26,8 ± 1,0^{d}	31,4 ± 0,2^{e}	36,6 ± 0,3^{f}	20,0 ± 0,5^{a}	22,1 ± 0,2^{b}	25,3 ± 0,7^{cd}	26,5 ± 0,3^{d}
Heksil-salicilat (µg/L)	15,4 ± 0,2^{f}	12,4 ± 0,1^{c}	13,7 ± 0,2^{d}	13,8 ± 0,2^{d}	14,3 ± 0,1^{e}	9,3 ± 0,1^{a}	10,1 ± 0,1^{b}	14,5 ± 0,1^{e}	14,2 ± 0,5^{de}
Etil-miristat (µg/L)	13,8 ± 0,2^{e}	8,5 ± 0,1^{d}	6,4 ± 0,1^{c}	6,1 ± 0,1^{c}	5,6 ± 0,1^{b}	5,6 ± 0,1^{b}	5,4 ± 0,1^{b}	4,7 ± 0,2^{a}	4,8 ± 0,1^{a}
Diizobutil-ftalat (µg/L)	46,5 ± 0,2^{i}	33,6 ± 0,3^{d}	35,6 ± 0,2^{e}	41,7 ± 1,1^{g}	44,5 ± 0,3^{h}	21,7 ± 1,2^{a}	26,4 ± 1,3^{b}	29,8 ± 0,5^{c}	37,2 ± 0,4^{f}
Etil-pentadekanoat (µg/L)	13,6 ± 0,2^{f}	6,5 ± 0,2^{b}	8,5 ± 0,2^{c}	11,2 ± 0,1^{d}	12,8 ± 0,2^{e}	4,7 ± 0,1^{a}	7,9 ± 0,3^{c}	10,7 ± 0,3^{d}	12,2 ± 0,1^{e}
Metil-palmitat (µg/L)	14,5 ± 0,1^{f}	7,9 ± 0,2^{e}	6,5 ± 0,1^{d}	6,6 ± 0,4^{d}	5,6 ± 0,1^{c}	6,2 ± 0,1^{d}	5,6 ± 0,1^{c}	4,2 ± 0,1^{b}	3,7 ± 0,1^{a}
Dibutil-ftalat (µg/L)	33,2 ± 0,2^{g}	17,0 ± 0,5^{c}	18,4 ± 0,2^{d}	21,0 ± 0,9^{e}	25,0 ± 0,3^{f}	10,4 ± 0,1^{a}	14,4 ± 0,1^{b}	17,2 ± 0,1^{c}	21,4 ± 0,3^{e}
Etil-palmitat (µg/L)	69,3 ± 1,1^{g}	7,0 ± 0,3^{b}	11,3 ± 0,5^{d}	15,5 ± 0,2^{e}	17,2 ± 0,1^{f}	6,3 ± 0,1^{a}	7,7 ± 0,3^{b}	8,6 ± 0,3^{c}	10,5 ± 0,2^{d}
Etil-linoleat (µg/L)	8,9 ± 0,0^{c}	-	3,4 ± 0,1^{a}	4,5 ± 0,2^{b}	4,6 ± 0,1^{b}	-	-	-	-
Etil-oleat (µg/L)	9,5 ± 0,2^{a}	-	-	-	-	-	-	-	-
Etil-stearat (µg/L)	9,5 ± 0,5^{a}	-	-	-	-	-	-	-	-
∑Hlapivi fenoli (µg/L)	811,8 ± 5,2^{g}	425,5 ± 0,2^{b}	469,8 ± 4,4^{d}	517,9 ± 6,4^{f}	524,7 ± 1,4^{f}	390,2 ± 7,9^{a}	447,8 ± 5,0^{c}	480,4 ± 3,7^{e}	475,0 ± 9,8^{de}
4-etilfenol (µg/L)	127,7 ± 0,9^{g}	-	9,8 ± 0,1^{e}	9,8 ± 0,1^{e}	15,2 ± 0,2^{f}	5,7 ± 0,1^{a}	6,6 ± 0,1^{b}	7,7 ± 0,3^{c}	8,4 ± 0,1^{d}
4-etilgvajakol (µg/L)	142,1 ± 0,2^{f}	6,9 ± 0,1^{b}	8,1 ± 0,2^{c}	9,6 ± 0,1^{d}	11,2 ± 0,1^{e}	5,7 ± 0,1^{a}	6,3 ± 0,2^{b}	7,7 ± 0,3^{c}	7,8 ± 0,1^{c}
2,4-di-*tert*-butilfenol (µg/L)	542,0 ± 4,1^{g}	418,6 ± 0,1^{b}	451,8 ± 4,1^{d}	498,5 ± 1,7^{f}	498,3 ± 1,1^{f}	378,8 ± 7,7^{a}	434,9 ± 4,7^{c}	465,0 ± 3,2^{e}	458,8 ± 9,6^{de}

Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima (a-i) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: EV – početno ekološko vino; ER – koncentrat ekološkog vina dobiven reverznom osmozom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.



Slika 37 PCA analiza aromatskog profila početnog konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon i njihovih koncentrata dobivenih koncentriranjem reverznom osmozom pri 25, 35, 45, 55 bara, s i bez primjene hlađenja. Aromatski spojevi su podijeljeni na osnovu glavnog mirisi kojim doprinose ukupnoj aromi na 8 skupina: miris na mast, zelenilo, cvijeće, citruse, voće, dim te slab miris i ostalo (ocat, karamela, sumpor i med). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KR – koncentrat konvencionalnog vina dobiven reverznom osmozom; EV – početno ekološko vino; ER – koncentrat ekološkog vina dobiven reverznom osmozom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

4.1.4. Utjecaj procesnih parametara na sastav fenolnih spojeva i antioksidacijsku aktivnost

Tablica 25 Sadržaj ukupnih polifenola, flavonoida i monomernih antocijana te udio polimerne boje u početnom konvencionalnom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih reverznom osmozom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	Polifenoli (g GAE/L)	Flavonoidi (g CE/L)	Antocijani (mg CGE/L)	Polimerna boja (%)
KV	3,19 ± 0,06^{e}	1,55 ± 0,04^{d}	151,41 ± 0,49^{e}	61,50 ± 0,22^{a}
1KR	2,36 ± 0,04^{a}	1,11 ± 0,01^{a}	79,39 ± 0,97^{b}	62,14 ± 0,32^{b}
2KR	2,57 ± 0,05^{bc}	1,17 ± 0,03^{b}	79,70 ± 0,85^{b}	62,11 ± 0,42^{b}
3KR	2,66 ± 0,09^{c}	1,27 ± 0,04^{c}	86,99 ± 0,65^{c}	62,22 ± 0,33^{b}
4KR	2,88 ± 0,08^{d}	1,26 ± 0,04^{c}	90,19 ± 0,72^{d}	62,12 ± 0,45^{b}
5KR	2,34 ± 0,03^{a}	1,13 ± 0,03^{ab}	72,35 ± 0,84^{a}	64,20 ± 0,21^{c}
6KR	2,48 ± 0,04^{b}	1,22 ± 0,03^{bc}	72,09 ± 0,43^{a}	64,01 ± 0,27^{c}
7KR	2,55 ± 0,03^{bc}	1,32 ± 0,04^{c}	79,50 ± 0,84^{b}	64,28 ± 0,30^{c}
8KR	2,83 ± 0,04^{d}	1,30 ± 0,04^{c}	80,14 ± 0,11^{b}	64,87 ± 0,24^{c}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-e) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KR – koncentrat konvencionalnog vina dobiven reverznom osmozom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja; GAE – ekvivalent galne kiseline; CE – ekvivalent katehina; CGE – ekvivalent cijanidin 3-glukozida.

Tablica 26 Sadržaj ukupnih polifenola, flavonoida i monomernih antocijana te udio polimerne boje u početnom ekološkom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih reverznom osmozom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	Polifenoli (g GAE/L)	Flavonoidi (g CE/L)	Antocijani (mg CGE/L)	Polimerna boja (%)
EV	3,34 ± 0,06^{e}	1,64 ± 0,02^{c}	103,83 ± 0,72^{f}	68,62 ± 0,97^{a}
1ER	2,81 ± 0,05^{b}	1,39 ± 0,01^{b}	65,55 ± 0,67^{b}	68,75 ± 0,21^{a}
2ER	2,90 ± 0,05^{bc}	1,43 ± 0,03^{b}	67,88 ± 0,70^{c}	68,49 ± 0,35^{a}
3ER	2,96 ± 0,07^{c}	1,60 ± 0,05^{c}	76,09 ± 0,83^{d}	68,10 ± 0,59^{a}
4ER	3,13 ± 0,06^{d}	1,53 ± 0,08^{bc}	79,53 ± 0,88^{e}	68,87 ± 0,12^{a}
5ER	2,47 ± 0,10^{a}	1,22 ± 0,02^{a}	63,91 ± 0,70^{a}	70,52 ± 0,41^{b}
6ER	2,54 ± 0,04^{a}	1,28 ± 0,04^{a}	66,56 ± 0,69^{bc}	70,45 ± 0,50^{b}
7ER	3,01 ± 0,04^{c}	1,44 ± 0,04^{b}	66,35 ± 0,73^{bc}	70,18 ± 0,33^{b}
8ER	3,05 ± 0,08^{cd}	1,39 ± 0,06^{b}	77,30 ± 0,84^{d}	70,44 ± 0,27^{b}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-f) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: EV – početno ekološko vino; ER – koncentrat ekološkog vina dobiven reverznom osmozom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja; GAE – ekvivalent galne kiseline; CE – ekvivalent katehina; CGE – ekvivalent cijanidin 3-glukozida.

Tablica 27 Koncentracija (mg/L) pojedinih fenolnih spojeva u početnom konvencionalnom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih reverznom osmozom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

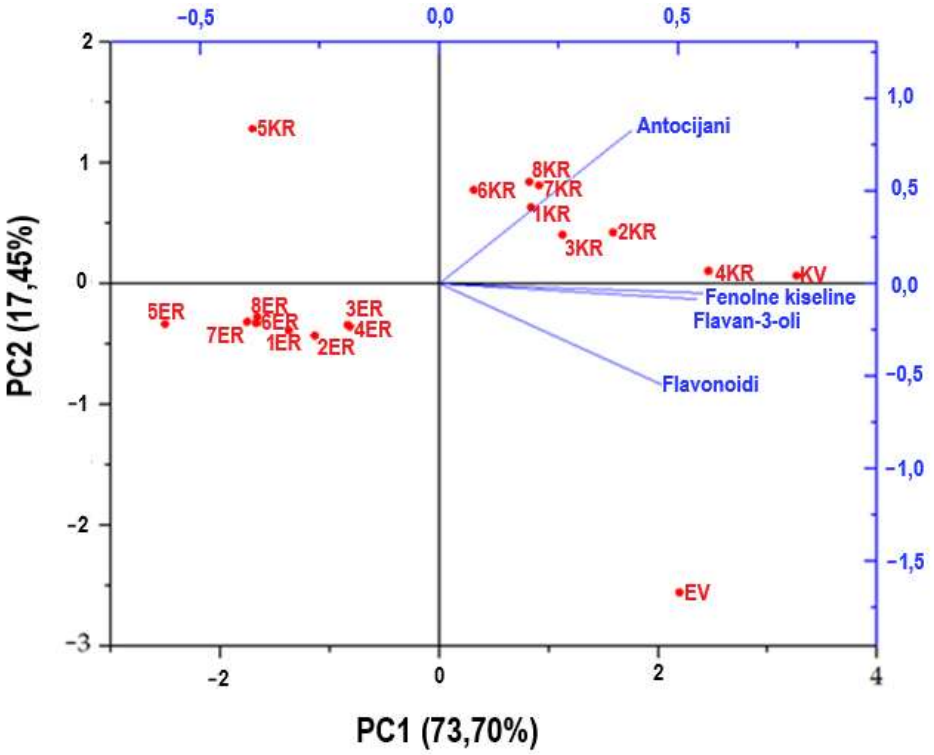
Uzorak	KV	1KR	2KR	3KR	4KR	5KR	6KR	7KR	8KR
Galna kiselina	42,22 ± 0,65^{g}	37,37 ± 0,18^{d}	38,96 ± 0,08^{e}	37,55 ± 0,25^{d}	41,34 ± 0,05^{f}	28,99 ± 0,11^{a}	34,45 ± 0,11^{b}	37,16 ± 0,19^{d}	36,33 ± 0,09^{c}
Kafeinska kiselina	2,71 ± 0,01^{f}	2,24 ± 0,01^{b}	2,39 ± 0,01^{d}	2,34 ± 0,01^{c}	2,53 ± 0,01^{e}	1,73 ± 0,01^{a}	2,35 ± 0,04^{cd}	2,28 ± 0,05^{bc}	2,25 ± 0,02^{b}
Kaftarna kiselina	11,18 ± 0,11^{e}	9,47 ± 0,02^{c}	9,94 ± 0,01^{d}	9,92 ± 0,12^{d}	9,98 ± 0,03^{d}	7,08 ± 0,03^{a}	8,87 ± 0,01^{b}	9,52 ± 0,11^{c}	10,07 ± 0,19^{d}
(+)-katehin	88,71 ± 0,60^{g}	73,06 ± 0,80^{d}	76,70 ± 0,61^{e}	70,14 ± 0,25^{c}	82,95 ± 0,69^{f}	53,50 ± 0,28^{a}	66,25 ± 0,05^{b}	74,20 ± 0,49^{d}	74,38 ± 0,43^{d}
(−)-epikatehin	34,63 ± 0,16^{d}	28,88 ± 0,14^{b}	30,53 ± 0,09^{c}	30,33 ± 0,36^{c}	30,60 ± 0,10^{c}	27,36 ± 0,23^{a}	32,51 ± 0,04^{b}	30,23 ± 0,15^{c}	30,62 ± 0,15^{c}
Rutin	0,95 ± 0,02^{b}	0,90 ± 0,09^{b}	1,07 ± 0,02^{c}	1,17 ± 0,01^{d}	1,20 ± 0,01^{e}	0,85 ± 0,01^{a}	1,05 ± 0,01^{c}	0,99 ± 0,02^{b}	1,03 ± 0,06^{b}
Kvercetin	1,18 ± 0,01^{f}	0,83 ± 0,01^{d}	1,19 ± 0,01^{f}	0,92 ± 0,04^{e}	1,18 ± 0,01^{f}	0,49 ± 0,01^{a}	0,60 ± 0,03^{c}	0,66 ± 0,02^{c}	0,54 ± 0,02^{b}
DKv1	2,02 ± 0,04^{g}	1,26 ± 0,02^{c}	1,25 ± 0,01^{c}	1,48 ± 0,02^{e}	1,57 ± 0,01^{f}	1,00 ± 0,01^{a}	1,32 ± 0,01^{d}	1,16 ± 0,02^{b}	1,21 ± 0,03^{c}
DKv2	1,11 ± 0,01^{e}	0,88 ± 0,01^{b}	0,92 ± 0,01^{c}	0,96 ± 0,03^{c}	1,02 ± 0,01^{d}	0,68 ± 0,01^{a}	0,85 ± 0,01^{b}	0,85 ± 0,03^{b}	0,86 ± 0,01^{b}
Malvidin 3-glukozid	38,57 ± 0,01^{g}	35,28 ± 0,05^{b}	36,23 ± 0,07^{d}	36,35 ± 0,05^{d}	36,65 ± 0,11^{ef}	34,99 ± 0,03^{a}	36,00 ± 0,02^{c}	36,66 ± 0,01^{e}	36,84 ± 0,08^{f}
DM3-g	8,27 ± 0,01^{e}	7,35 ± 0,08^{ab}	7,41 ± 0,03^{b}	7,36 ± 0,06^{ab}	7,64 ± 0,03^{d}	7,26 ± 0,04^{a}	7,40 ± 0,07^{bc}	7,60 ± 0,09^{cd}	7,50 ± 0,03^{c}

Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima (a-h) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KR – koncentrat konvencionalnog vina dobiven reverznom osmozom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja; DKv1 – derivat kvercetina 1; DKv2 – derivat kvercetina 2; DM3-g – derivat malvidin 3-glukozida.

Tablica 28 Koncentracija (mg/L) pojedinih fenolnih spojeva u početnom ekološkom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih reverznom osmozom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	EV	1ER	2ER	3ER	4ER	5ER	6ER	7ER	8ER
Galna kiselina	43,95 ± 0,60^{f}	39,60 ± 0,10^{c}	40,65 ± 0,02^{d}	41,86 ± 0,31^{e}	41,45 ± 0,23^{e}	34,29 ± 0,57^{a}	37,28 ± 0,67^{b}	37,11 ± 0,29^{b}	37,35 ± 0,52^{b}
Kafeinska kiselina	2,10 ± 0,01^{e}	1,78 ± 0,01^{b}	1,83 ± 0,03^{bc}	1,90 ± 0,01^{d}	1,93 ± 0,03^{d}	1,56 ± 0,03^{a}	1,87 ± 0,01^{c}	1,80 ± 0,07^{bc}	1,77 ± 0,03^{b}
Kaftarna kiselina	4,05 ± 0,01^{f}	3,59 ± 0,01^{d}	3,75 ± 0,05^{e}	3,74 ± 0,02^{e}	3,79 ± 0,01^{e}	3,06 ± 0,03^{a}	3,28 ± 0,02^{b}	3,45 ± 0,05^{c}	3,48 ± 0,02^{c}
(+)-katehin	42,18 ± 0,34^{g}	38,61 ± 0,14^{d}	39,89 ± 0,03^{e}	39,94 ± 0,15^{e}	41,29 ± 0,12^{f}	33,07 ± 0,95^{a}	36,31 ± 0,10^{c}	35,03 ± 0,08^{b}	35,99 ± 0,57^{c}
(−)-epikatehin	69,80 ± 1,61^{e}	49,40 ± 0,07^{b}	50,37 ± 0,49^{c}	52,49 ± 0,08^{d}	52,44 ± 0,10^{d}	46,15 ± 0,06^{a}	50,70 ± 0,40^{c}	50,93 ± 0,51^{c}	50,87 ± 0,43^{c}
Rutin	1,59 ± 0,01^{e}	1,30 ± 0,01^{c}	1,33 ± 0,04^{cd}	1,38 ± 0,04^{d}	1,34 ± 0,01^{d}	1,14 ± 0,02^{a}	1,35 ± 0,04^{cd}	1,32 ± 0,01^{c}	1,26 ± 0,01^{b}
Kvercetin	3,57 ± 0,04^{e}	1,63 ± 0,03^{b}	2,07 ± 0,01^{c}	2,42 ± 0,01^{d}	2,43 ± 0,01^{d}	-	-	-	0,39 ± 0,01^{a}
DKv1	1,43 ± 0,01^{e}	0,80 ± 0,01^{a}	1,06 ± 0,06^{d}	1,02 ± 0,01^{d}	1,01 ± 0,03^{d}	0,83 ± 0,01^{a}	0,93 ± 0,01^{b}	0,98 ± 0,01^{c}	0,97 ± 0,01^{c}
DKv2	1,20 ± 0,01^{d}	0,98 ± 0,03^{b}	1,06 ± 0,01^{c}	1,04 ± 0,05^{c}	1,02 ± 0,04^{c}	0,84 ± 0,01^{a}	0,98 ± 0,01^{b}	0,99 ± 0,01^{b}	0,93 ± 0,05^{b}
Malvidin 3-glukozid	16,12 ± 0,10^{g}	14,42 ± 0,09^{c}	14,21 ± 0,03^{b}	15,53 ± 0,09^{g}	15,26 ± 0,01^{f}	13,08 ± 0,12^{a}	14,62 ± 0,09^{d}	14,60 ± 0,03^{d}	14,79 ± 0,01^{e}
DM3-g	3,07 ± 0,01^{d}	2,43 ± 0,01^{b}	2,41 ± 0,03^{c}	3,08 ± 0,03^{d}	3,12 ± 0,04^{d}	2,21 ± 0,02^{a}	2,46 ± 0,01^{c}	2,48 ± 0,01^{c}	3,10 ± 0,06^{d}

Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima (a-g) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: EV – početno ekološko vino; ER – koncentrat ekološkog vina dobiven reverznom osmozom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja; DKv1 – derivat kvercetina 1; DKv2 – derivat kvercetina 2; DM3-g – derivat malvidin 3-glukozida.



Slika 38 PCA analiza fenolnog profila početnog konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon i njihovih koncentrata dobivenih koncentriranjem reverznom osmozom pri 25, 35, 45, 55 bara, s i bez primjene hlađenja. Fenolni spojevi su podijeljeni na četiri glavne skupine: fenolne kiseline (galna, kafeinska i kaftarna kiselina), flavan-3-oli (katehin i epikatehin), flavonoidi (rutin, kvercetin i njegova dva derivata) te antocijani (malvidin 3-glukozid i njegov derivat). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KR – koncentrat konvencionalnog vina dobiven reverznom osmozom; EV – početno ekološko vino; ER – koncentrat ekološkog vina dobiven reverznom osmozom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

Tablica 29 Antioksidacijska aktivnost (μmol TE/100 mL) određena DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metodom u početnom konvencionalnom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih reverznom osmozom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	DPPH	ABTS	FRAP	CUPRAC
KV	14,92 ± 0,97^{f}	35,18 ± 0,15^{h}	3,04 ± 0,15^{e}	174,77 ± 1,07^{f}
1KR	5,23 ± 0,42^{b}	20,47 ± 0,19^{c}	2,37 ± 0,03^{b}	159,56 ± 1,94^{c}
2KR	7,49 ± 0,41^{c}	25,14 ± 0,18^{e}	2,48 ± 0,03^{c}	164,34 ± 1,04^{d}
3KR	10,10 ± 0,13^{d}	25,80 ± 0,48^{e}	2,60 ± 0,03^{d}	166,27 ± 2,16^{d}
4KR	12,40 ± 0,38^{e}	31,20 ± 0,06^{g}	2,65 ± 0,02^{d}	171,20 ± 1,49^{e}
5KR	4,26 ± 0,46^{a}	16,46 ± 0,24^{a}	2,11 ± 0,08^{a}	112,65 ± 2,01^{a}
6KR	5,47 ± 0,42^{b}	18,93 ± 0,17^{b}	2,23 ± 0,04^{a}	134,94 ± 2,68^{b}
7KR	7,14 ± 0,27^{c}	21,37 ± 0,16^{d}	2,52 ± 0,05^{cd}	137,65 ± 2,91^{b}
8KR	7,37 ± 0,27^{c}	27,01 ± 0,32^{f}	2,56 ± 0,05^{cd}	164,88 ± 2,32^{d}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-h) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KR – koncentrat konvencionalnog vina dobiven reverznom osmozom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja; GAE – ekvivalent galne kiseline; TE – ekvivalent troloxa.

Tablica 30 Antioksidacijska aktivnost (μmol TE/100 mL) određena DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metodom u početnom ekološkom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih reverznom osmozom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	DPPH	ABTS	FRAP	CUPRAC
EV	14,77 ± 0,72^{g}	33,46 ± 0,59^{f}	3,10 ± 0,13^{e}	170,85 ± 1,53^{g}
1ER	6,12 ± 0,66^{cd}	27,76 ± 0,11^{b}	2,38 ± 0,07^{b}	128,08 ± 1,47^{d}
2ER	7,16 ± 0,65^{d}	28,54 ± 0,12^{c}	2,49 ± 0,08^{c}	139,88 ± 0,18^{e}
3ER	10,85 ± 0,37^{e}	32,09 ± 0,28^{e}	2,61 ± 0,07^{cd}	138,75 ± 1,28^{e}
4ER	13,16 ± 0,35^{f}	32,18 ± 0,41^{e}	2,66 ± 0,08^{d}	161,47 ± 1,85^{f}
5ER	3,32 ± 0,41^{a}	22,30 ± 0,11^{a}	2,16 ± 0,06^{a}	107,47 ± 2,10^{a}
6ER	4,58 ± 0,40^{b}	27,25 ± 0,22^{b}	2,24 ± 0,02^{a}	115,07 ± 0,40^{b}
7ER	5,73 ± 0,33^{c}	27,80 ± 0,12^{b}	2,55 ± 0,04^{cd}	123,05 ± 1,67^{c}
8ER	5,05 ± 0,36^{bc}	30,15 ± 0,19^{d}	2,60 ± 0,02^{cd}	140,10 ± 2,22^{e}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-g) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: EV – početno ekološko vino; ER – koncentrat ekološkog vina dobiven reverznom osmozom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja; TE – ekvivalent troloxa.

Tablica 31 Koeficijent korelacije (*r*) između ukupnih polifenola, flavonoida i monomernih antocijana te antioksidacijske aktivnosti dobivene DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metodom u početnom konvencionalnom i ekološkom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih reverznom osmozom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

	Konvencionalno vino			Ekološko vino		
	Polifenoli	**Flavonoidi**	**Antocijani**	**Polifenoli**	**Flavonoidi**	**Antocijani**
DPPH	0,924	0,806	0,842	0,790	0,913	0,825
ABTS	0,959	0,764	0,799	0,874	0,923	0,776
FRAP	0,927	0,869	0,871	0,953	0,893	0,941
CUPRAC	0,710	0,454	0,542	0,905	0,859	0,859

4.1.5. Utjecaj procesnih parametara na boju

Tablica 32 CIELab parametri boje početnog konvencionalnog Cabernet Sauvignon crnog vina i koncentrata dobivenih reverznom osmozom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	L*	a*	b*	°h	C*	ΔE*
KV	19,70 ± 0,01^{a}	1,98 ± 0,03^{b}	1,14 ± 0,03^{a}	35,80 ± 0,64^{c}	1,94 ± 0,02^{a}	-
1KR	19,91 ± 0,01^{b}	1,99 ± 0,05^{b}	1,17 ± 0,02^{a}	30,75± 0,61^{b}	2,32 ± 0,04^{b}	0,22 ± 0,01^{a}
2KR	19,92 ± 0,02^{b}	2,03 ± 0,02^{b}	1,13 ± 0,02^{a}	30,47± 0,35^{b}	2,33 ± 0,05^{b}	0,23 ± 0,01^{a}
3KR	19,91 ± 0,01^{b}	1,99 ± 0,03^{b}	1,14 ± 0,01^{a}	30,75± 0,29^{b}	2,38 ± 0,03^{b}	0,21 ± 0,02^{a}
4KR	19,91 ± 0,01^{b}	2,06 ± 0,05^{b}	1,15 ± 0,02^{a}	30,71± 0,25^{b}	2,39 ± 0,04^{b}	0,22 ± 0,01^{a}
5KR	20,04 ± 0,01^{c}	1,86 ± 0,01^{a}	1,16 ± 0,03^{a}	29,52± 0,18^{a}	2,52 ± 0,02^{c}	0,36 ± 0,01^{b}
6KR	20,07 ± 0,01^{c}	1,86 ± 0,01^{a}	1,13 ± 0,02^{a}	29,33± 0,26^{a}	2,48 ± 0,02^{c}	0,39 ± 0,03^{b}
7KR	20,00 ± 0,01^{c}	1,86 ± 0,01^{a}	1,17 ± 0,03^{a}	30,24± 0,12^{b}	2,57 ± 0,05^{c}	0,32 ± 0,04^{b}
8KR	20,01 ± 0,01^{c}	1,87 ± 0,02^{a}	1,12 ± 0,04^{a}	30,51± 0,31^{b}	2,63 ± 0,05^{c}	0,33 ± 0,03^{b}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-c) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KR – koncentrat konvencionalnog vina dobiven reverznom osmozom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja; GAE – ekvivalent galne kiseline.

Tablica 33 CIELab parametri boje početnog ekološkog Cabernet Sauvignon crnog vina i koncentrata dobivenih reverznom osmozom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	L*	a*	b*	°h	C*	ΔE*
EV	19,70 ± 0,01^{a}	2,15 ± 0,02^{b}	1,07 ± 0,01^{a}	33,54 ± 0,32^{d}	1,58 ± 0,03^{a}	-
1ER	20,25 ± 0,05^{b}	2,13 ± 0,02^{b}	1,08 ± 0,03^{a}	30,16 ± 0,28^{c}	2,74 ± 0,02^{e}	0,55 ± 0,01^{a}
2ER	20,30 ± 0,01^{b}	2,16 ± 0,01^{b}	1,04 ± 0,03^{a}	30,51 ± 0,52^{c}	2,50 ± 0,01^{b}	0,60 ± 0,01^{b}
3ER	20,35 ± 0,03^{b}	2,16 ± 0,01^{b}	1,04 ± 0,01^{a}	28,79 ± 0,28^{a}	2,57 ± 0,01^{c}	0,65 ± 0,04^{c}
4ER	20,31 ± 0,01^{b}	2,12 ± 0,03^{b}	1,05 ± 0,01^{a}	30,63 ± 0,21^{c}	3,24 ± 0,02^{f}	0,62 ± 0,02^{bc}
5ER	20,51 ± 0,02^{c}	2,04 ± 0,02^{a}	1,06 ± 0,01^{a}	29,16 ± 0,19^{a}	2,80 ± 0,03^{e}	0,82 ± 0,01^{d}
6ER	20,49 ± 0,01^{c}	2,06 ± 0,01^{a}	1,04 ± 0,03^{a}	29,75 ± 0,01^{b}	2,64 ± 0,02^{d}	0,80 ± 0,02^{d}
7ER	20,49 ± 0,02^{c}	2,02 ± 0,03^{a}	1,02 ± 0,01^{a}	29,15 ± 0,48^{a}	2,50 ± 0,02^{b}	0,80 ± 0,02^{d}
8ER	20,49 ± 0,02^{c}	2,04 ± 0,01^{a}	1,05 ± 0,02^{a}	28,91 ± 0,93^{a}	2,83 ± 0,04^{e}	0,79 ± 0,03^{d}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-d) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: EV – početno ekološko vino; ER – koncentrat ekološkog vina dobiven reverznom osmozom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

4.2. NANOFILTRACIJA

4.2.1. Procesni parametri tijekom koncentriranja crnog vina

Tablica 34 Procesni parametri tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon nanofiltracijom pri tlaku od 25 bara s primjenom hlađenja

Vrijeme t (min)	Volumen permeata Vp (mL)	Protok permeata J (L/m²h)	Volumni udio permeata Y (%)	Volumni odnos retentata F	Temperatura retentata (°C)
0	0	0	0	1,00	15,0
4	0,17	15,00	5,67	1,06	18,0
8	0,34	14,71	11,33	1,13	20,0
12	0,50	14,42	16,67	1,20	21,0
16	0,65	14,06	21,67	1,28	22,0
20	0,80	13,84	26,67	1,36	23,0
24	0,95	13,70	31,67	1,46	24,0
28	1,10	13,59	36,67	1,58	25,0
32	1,24	13,41	41,33	1,70	26,0
36	1,38	13,26	46,00	1,85	27,0
40	1,52	13,15	50,67	2,03	28,0
44	1,66	12,74	55,33	2,24	30,0
48	1,70	12,25	56,67	2,31	31,0

Tablica 35 Procesni parametri tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon nanofiltracijom pri tlaku od 35 bara s primjenom hlađenja

Vrijeme t (min)	Volumen permeata Vp (mL)	Protok permeata J (L/m²h)	Volumni udio permeata Y (%)	Volumni odnos retentata F	Temperatura retentata (°C)
0	0	0	0	1,00	15,0
4	0,20	18,50	6,67	1,07	23,0
8	0,40	18,10	13,33	1,15	25,0
12	0,60	17,90	20,00	1,25	27,0
16	0,80	17,80	26,67	1,36	28,0
20	1,00	17,60	33,33	1,50	29,0
24	1,19	17,36	39,67	1,66	30,0
28	1,38	17,05	46,00	1,85	31,0
32	1,56	16,87	52,00	2,08	32,0
36	1,70	16,24	56,67	2,31	33,0

Tablica 36 Procesni parametri tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon nanofiltracijom pri tlaku od 45 bara s primjenom hlađenja

Vrijeme t (min)	Volumen permeata Vp (mL)	Protok permeata J (L/m²h)	Volumni udio permeata Y (%)	Volumni odnos retentata F	Temperatura retentata (°C)
0	0	0	0	1,00	15,0
4	0,25	21,63	8,33	1,09	24,0
8	0,50	21,63	16,67	1,20	26,0
12	0,75	21,63	25,00	1,33	28,0
16	1,00	21,63	33,33	1,50	30,0
20	1,24	21,45	41,33	1,70	31,0
24	1,47	21,19	49,00	1,96	33,0
28	1,60	19,77	53,33	2,14	35,0
32	1,70	18,38	56,67	2,31	36,0

Tablica 37 Procesni parametri tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon nanofiltracijom pri tlaku od 55 bara s primjenom hlađenja

Vrijeme t (min)	Volumen permeata Vp (mL)	Protok permeata J (L/m²h)	Volumni udio permeata Y (%)	Volumni odnos retentata F	Temperatura retentata (°C)
0	0	0	0	1,00	15,0
4	0,32	27,68	10,67	1,12	26,0
8	0,62	26,82	20,67	1,26	29,0
12	0,91	26,24	30,33	1,44	31,0
16	1,20	25,95	40,00	1,67	33,0
20	1,48	25,61	49,33	1,97	35,0
24	1,65	23,79	55,00	2,22	37,0
28	1,70	23,01	56,67	2,31	38,0

Tablica 38 Procesni parametri tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon nanofiltracijom pri tlaku od 25 bara bez primjene hlađenja

Vrijeme t (min)	Volumen permeata Vp (mL)	Protok permeata J (L/m²h)	Volumni udio permeata Y (%)	Volumni odnos retentata F	Temperatura retentata (°C)
0	0	0	0	1,00	15,0
4	0,20	17,30	6,67	1,07	26,0
8	0,40	17,25	13,33	1,15	28,0
12	0,60	17,20	20,00	1,25	30,0
16	0,80	17,15	26,67	1,36	32,0
20	0,99	16,83	33,00	1,49	34,0
24	1,18	16,71	39,33	1,65	36,0
28	1,35	16,38	45,00	1,82	38,0
32	1,52	16,14	50,67	2,03	40,0
36	1,67	15,25	55,67	2,26	41,0
40	1,70	14,41	56,67	2,31	42,0

Tablica 39 Procesni parametri tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon nanofiltracijom pri tlaku od 35 bara bez primjene hlađenja

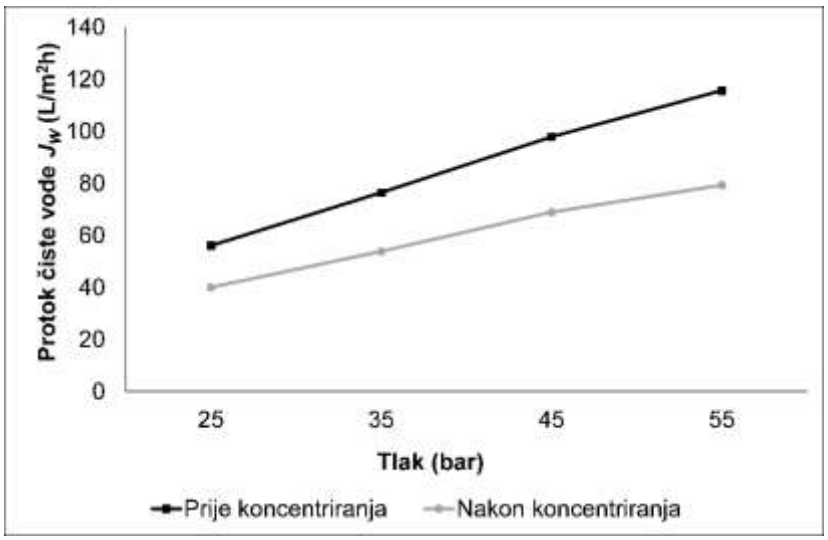
Vrijeme t (min)	Volumen permeata Vp (mL)	Protok permeata J (L/m²h)	Volumni udio permeata Y (%)	Volumni odnos retentata F	Temperatura retentata (°C)
0	0	0	0	1,00	15,0
4	0,23	20,10	7,67	1,08	25,0
8	0,46	19,90	15,33	1,18	29,0
12	0,69	19,90	23,00	1,30	32,0
16	0,91	19,68	30,33	1,44	35,0
20	1,12	19,38	37,33	1,60	37,0
24	1,32	19,03	44,00	1,79	39,0
28	1,52	18,78	50,67	2,03	41,0
32	1,70	16,84	56,67	2,31	44,0

Tablica 40 Procesni parametri tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon nanofiltracijom pri tlaku od 45 bara bez primjene hlađenja

Vrijeme t (min)	Volumen permeata Vp (mL)	Protok permeata J (L/m²h)	Volumni udio permeata Y (%)	Volumni odnos retentata F	Temperatura retentata (°C)
0	0	0	0	1,00	15,0
4	0,28	24,72	9,33	1,10	27,0
8	0,56	24,52	18,67	1,23	31,0
12	0,83	23,93	27,67	1,38	35,0
16	1,10	23,79	36,67	1,58	39,0
20	1,35	23,36	45,00	1,82	43,0
24	1,50	21,93	50,00	2,00	46,0
28	1,70	20,80	56,67	2,31	47,0

Tablica 41 Procesni parametri tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon nanofiltracijom pri tlaku od 55 bara bez primjene hlađenja

Vrijeme t (min)	Volumen permeata Vp (mL)	Protok permeata J (L/m²h)	Volumni udio permeata Y (%)	Volumni odnos retentata F	Temperatura retentata (°C)
0	0	0	0	1,00	15,0
4	0,36	31,94	12,00	1,14	30,0
8	0,72	31,14	24,00	1,32	35,0
12	1,07	30,85	35,67	1,55	40,0
16	1,42	30,41	47,33	1,90	45,0
20	1,70	29,41	56,67	2,31	48,0



Slika 39 Protok čiste vode J_w (L/m²h) mjeren prije i nakon koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara i temperaturi od 25 °C

Tablica 42 Indeks začepljenja membrana (FI) nakon koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara

Tlak (bar)	FI (%)
25	28,59
35	29,54
45	29,60
55	31,45

4.2.2. Utjecaj procesnih parametara na kemijski sastav, sadržaj kiselina i elemenata u tragovima

Tablica 43 Kemijski sastav početnog konvencionalnog Cabernet Sauvignon crnog vina i koncentrata (retentata) dobivenih nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	Etanol (vol.%)	Glicerol (g/L)	Gustoća (g/L)	Slobodni SO_2 (mg/L)	Ukupni SO_2 (mg/L)	Reducirajući šećeri (g/L)	CO_2 (g/L)
KV	13,74 ± 0,01^{e}	9,7 ± 0,1^{c}	0,9946 ± 0,0003^{a}	12,80 ± 0,1^{c}	43,52 ± 0,01^{b}	4,1 ± 0,1^{b}	232,61 ± 0,12^{g}
1KN	5,65 ± 0,01^{a}	4,8 ± 0,2^{a}	1,0024 ± 0,0003^{b}	11,52 ± 0,1^{b}	46,08 ± 0,02^{d}	3,0 ± 0,2^{a}	206,18 ± 0,11^{f}
2KN	5,87 ± 0,04^{b}	5,1 ± 0,1^{a}	1,0026 ± 0,0002^{b}	11,52 ± 0,1^{b}	48,64 ± 0,03^{e}	3,2 ± 0,1^{a}	195,23 ± 0,09^{e}
3KN	5,77 ± 0,06^{b}	5,1 ± 0,1^{a}	1,0026 ± 0,0001^{b}	10,24 ± 0,1^{a}	44,80 ± 0,03^{c}	3,2 ± 0,1^{a}	171,28 ± 0,21^{d}
4KN	6,16 ± 0,07^{d}	5,8 ± 0,1^{b}	1,0030 ± 0,0003^{b}	10,24 ± 0,1^{a}	44,80 ± 0,04^{c}	3,4 ± 0,3^{a}	148,59 ± 0,17^{c}
5KN	5,66 ± 0,02^{a}	4,9 ± 0,1^{a}	1,0027 ± 0,0002^{b}	11,52 ± 0,1^{b}	46,08 ± 0,02^{d}	3,3 ± 0,2^{a}	145,66 ± 0,24^{b}
6KN	5,81 ± 0,02^{b}	5,1 ± 0,1^{a}	1,0029 ± 0,0001^{b}	11,52 ± 0,1^{b}	46,08 ± 0,01^{d}	3,3 ± 0,1^{a}	145,89 ± 0,16^{b}
7KN	5,94 ± 0,01^{c}	5,1 ± 0,2^{a}	1,0030 ± 0,0003^{b}	10,24 ± 0,1^{a}	42,24 ± 0,01^{a}	3,4 ± 0,2^{a}	143,90 ± 0,35^{a}
8KN	6,30 ± 0,07^{d}	5,9 ± 0,1^{b}	1,0030 ± 0,0003^{b}	10,24 ± 0,1^{a}	42,24 ± 0,01^{a}	3,3 ± 0,2^{a}	143,25 ± 0,33^{a}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-g) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KN – koncentrat konvencionalnog vina dobiven nanofiltracijom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

Tablica 44 Kemijski sastav početnog ekološkog Cabernet Sauvignon crnog vina i koncentrata dobivenih nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	Etanol (vol.%)	Glicerol (g/L)	Gustoća (g/L)	Slobodni SO_2 (mg/L)	Ukupni SO_2 (mg/L)	Reducirajući šećeri (g/L)	CO_2 (g/L)
EV	13,53 ± 0,02^{e}	9,3 ± 0,2^{c}	0,9946 ± 0,0002^{a}	12,80 ± 0,1^{c}	43,52 ± 0,01^{a}	4,1 ± 0,1^{a}	444,64 ± 0,22^{f}
1EN	5,63 ± 0,01^{b}	4,7 ± 0,1^{b}	1,0028 ± 0,0001^{b}	11,52 ± 0,1^{b}	47,36 ± 0,02^{c}	3,9 ± 0,1^{a}	160,15 ± 0,13^{e}
2EN	5,89 ± 0,09^{c}	5,2 ± 0,1^{c}	1,0026 ± 0,0003^{b}	11,52 ± 0,1^{b}	49,92 ± 0,03^{d}	3,9 ± 0,2^{a}	148,59 ± 0,11^{d}
3EN	5,66 ± 0,14^{c}	5,0 ± 0,2^{c}	1,0026 ± 0,0003^{b}	11,52 ± 0,1^{a}	49,92 ± 0,03^{d}	3,8 ± 0,2^{a}	147,23 ± 0,22^{c}
4EN	5,95 ± 0,06^{d}	5,1 ± 0,3^{cd}	1,0030 ± 0,0003^{b}	10,24 ± 0,1^{a}	49,92 ± 0,04^{d}	3,8 ± 0,2^{a}	147,10 ± 0,25^{c}
5EN	5,11 ± 0,04^{a}	4,0 ± 0,3^{a}	1,0027 ± 0,0002^{b}	10,24 ± 0,1^{b}	46,08 ± 0,02^{b}	4,0 ± 0,1^{a}	144,06 ± 0,09^{b}
6EN	5,58 ± 0,05^{b}	4,7 ± 0,2^{b}	1,0026 ± 0,0002^{b}	10,24 ± 0,1^{b}	46,08 ± 0,01^{b}	3,8 ± 0,2^{a}	142,68 ± 0,13^{a}
7EN	5,76 ± 0,05^{c}	5,1 ± 0,1^{c}	1,0031 ± 0,0003^{b}	10,24 ± 0,1^{a}	46,08 ± 0,01^{b}	4,1 ± 0,1^{a}	142,68 ± 0,24^{a}
8EN	6,10 ± 0,08^{d}	5,6 ± 0,2^{d}	1,0030 ± 0,0002^{b}	10,24 ± 0,1^{a}	43,52 ± 0,01^{a}	4,0 ± 0,2^{a}	142,68 ± 0,17^{a}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-f) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: EV – početno ekološko vino; EN – koncentrat ekološkog vina dobiven nanofiltracijom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

Tablica 45 Sadržaj ukupnih i hlapivih kiselina, jabučne, mliječne, limunske, sorbinske i vinske kiseline u početnom konvencionalnom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	Ukupne kiseline (g/L)	Hlapive kiseline (g/L)	Jabučna kiselina (g/L)	Mliječna kiselina (g/L)	Limunska kiselina (g/L)	Sorbinska kiselina (mg/L)	Vinska kiselina (g/L)	pH
KV	4,9 ± 0,1^{b}	0,9 ± 0,1^{b}	0,8 ± 0,1^{b}	2,1 ± 0,1^{b}	0,29 ± 0,01^{b}	132,0 ± 0,1^{i}	0,7 ± 0,2^{a}	3,92 ± 0,02^{c}
1KN	3,1 ± 0,3^{a}	0,4 ± 0,1^{a}	0,4 ± 0,2^{a}	1,0 ± 0,2^{a}	0,19 ± 0,02^{a}	2,0 ± 0,1^{a}	0,7 ± 0,1^{a}	3,70 ± 0,01^{a}
2KN	3,4 ± 0,1^{a}	0,4 ± 0,1^{a}	0,3 ± 0,1^{a}	1,1 ± 0,1^{a}	0,17 ± 0,01^{a}	8,0 ± 0,1^{d}	0,8 ± 0,2^{a}	3,72 ± 0,01^{a}
3KN	3,4 ± 0,1^{a}	0,4 ± 0,1^{a}	0,3 ± 0,1^{a}	1,1 ± 0,1^{a}	0,18 ± 0,02^{a}	7,0 ± 0,1^{c}	0,8 ± 0,2^{a}	3,71 ± 0,01^{a}
4KN	3,6 ± 0,3^{a}	0,5 ± 0,1^{a}	0,3 ± 0,1^{a}	1,2 ± 0,2^{a}	0,15 ± 0,03^{a}	22,0 ± 0,1^{g}	0,9 ± 0,2^{a}	3,74 ± 0,01^{ab}
5KN	3,4 ± 0,1^{a}	0,4 ± 0,1^{a}	0,3 ± 0,2^{a}	1,0 ± 0,1^{a}	0,15 ± 0,02^{a}	17,0 ± 0,1^{f}	0,9 ± 0,2^{a}	3,71 ± 0,01^{a}
6KN	3,4 ± 0,1^{a}	0,4 ± 0,1^{a}	0,3 ± 0,2^{a}	1,1 ± 0,1^{a}	0,17 ± 0,01^{a}	14,0 ± 0,1^{e}	0,8 ± 0,1^{a}	3,72 ± 0,01^{a}
7KN	3,3 ± 0,2^{a}	0,4 ± 0,1^{a}	0,3 ± 0,1^{a}	1,0 ± 0,1^{a}	0,18 ± 0,01^{a}	6,0 ± 0,1^{b}	0,7 ± 0,2^{a}	3,72 ± 0,01^{a}
8KN	3,5 ± 0,3^{a}	0,5 ± 0,1^{a}	0,3 ± 0,1^{a}	1,3 ± 0,3^{a}	0,14 ± 0,03^{a}	32,0 ± 0,1^{h}	0,6 ± 0,2^{a}	3,76 ± 0,01^{b}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-i) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KN – koncentrat konvencionalnog vina dobiven nanofiltracijom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

Tablica 46 Sadržaj ukupnih i hlapivih kiselina te jabučne, mliječne, limunske, sorbinske i vinske kiseline u početnom ekološkom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	Ukupne kiseline (g/L)	Hlapive kiseline (g/L)	Jabučna kiselina (g/L)	Mliječna kiselina (g/L)	Limunska kiselina (g/L)	Sorbinska kiselina (mg/L)	Vinska kiselina (g/L)	pH
EV	5,1 ± 0,1^{b}	0,9 ± 0,1^{b}	0,6 ± 0,1^{b}	1,8 ± 0,1^{b}	0,31 ± 0,01^{b}	47,0± 0,1^{a}	0,7 ± 0,1^{a}	3,75 ± 0,01^{c}
1EN	3,3 ± 0,1^{a}	0,4 ± 0,1^{a}	0,2 ± 0,1^{a}	0,8 ± 0,1^{a}	0,22 ± 0,01^{a}	-	0,8 ± 0,2^{a}	3,65 ± 0,01^{b}
2EN	3,6 ± 0,3^{a}	0,4 ± 0,1^{a}	0,2 ± 0,1^{a}	0,9 ± 0,1^{a}	0,20 ± 0,02^{a}	-	0,8 ± 0,1^{a}	3,65 ± 0,01^{b}
3EN	3,4 ± 0,1^{a}	0,4 ± 0,1^{a}	0,2 ± 0,1^{a}	0,8 ± 0,1^{a}	0,23 ± 0,02^{a}	-	0,7 ± 0,2^{a}	3,63 ± 0,01^{b}
4EN	3,5 ± 0,2^{a}	0,4 ± 0,1^{a}	0,2 ± 0,1^{a}	0,9 ± 0,1^{a}	0,22 ± 0,01^{a}	-	0,8 ± 0,1^{a}	3,63 ± 0,01^{b}
5EN	3,1 ± 0,3^{a}	0,3 ± 0,1^{a}	0,3 ± 0,1^{a}	0,6 ± 0,3^{a}	0,24 ± 0,02^{a}	-	0,7 ± 0,2^{a}	3,60 ± 0,01^{a}
6EN	3,3 ± 0,1^{a}	0,4 ± 0,1^{a}	0,2 ± 0,1^{a}	0,7 ± 0,2^{a}	0,22 ± 0,01^{a}	-	0,7 ± 0,2^{a}	3,62 ± 0,01^{a}
7EN	3,5 ± 0,2^{a}	0,4 ± 0,1^{a}	0,2 ± 0,1^{a}	0,8 ± 0,2^{a}	0,20 ± 0,03^{a}	-	0,8 ± 0,1^{a}	3,64 ± 0,01^{ab}
8EN	3,6 ± 0,3^{a}	0,4 ± 0,1^{a}	0,1 ± 0,1^{a}	0,9 ± 0,1^{a}	0,19 ± 0,03^{a}	-	0,8 ± 0,1^{a}	3,66 ± 0,01^{b}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-b) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: EV – početno ekološko vino; EN – koncentrat ekološkog vina dobiven nanofiltracijom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

Tablica 47 Sadržaj elemenata u tragovima u početnom konvencionalnom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Element	KV	1KN	2KN	3KN	4KN	5KN	6KN	7KN	8KN
K (mg/L)	597,7 ± 55,9^{c}	509,0 ± 8,2^{a}	499,0 ± 6,8^{a}	627,4 ± 12,5^{c}	672,7 ± 19,3^{c}	505,3 ± 25,3^{ab}	548,2 ± 12,5^{b}	526,5 ± 29,3^{ab}	517,3 ± 27,1^{ab}
Ca (mg/L)	55,7 ± 3,2^{c}	40,6 ± 1,0^{a}	51,1 ± 2,2^{bc}	49,8 ± 1,4^{b}	54,0 ± 2,0^{c}	41,6 ± 2,0^{a}	51,8 ± 1,3^{bc}	52,9 ± 1,8^{bc}	51,9 ± 3,4^{bc}
Mn (µg/L)	1925,6 ± 33,8^{d}	1565,6 ± 15,0^{b}	1681,7 ± 43,9^{c}	1918,8 ± 69,3^{d}	1984,0 ± 50,5^{d}	1478,1 ± 37,7^{a}	1502,2± 15,6^{a}	1507,0 ± 36,8^{a}	1593,0 ± 15,4^{b}
Fe (µg/L)	1785,0± 38,6^{c}	1355,0 ± 45,9^{a}	1351,0 ± 40,4^{a}	1645,0 ± 23,0^{b}	1835,0 ± 57,0^{c}	1425,0 ± 31,4^{a}	1397,9 ± 20,1^{a}	1429,0 ± 36,2^{a}	1419,6 ± 59,5^{a}
Cu (µg/L)	447,9 ± 21,4^{b}	442,6 ± 34,1^{b}	452,0 ± 11,2^{b}	454,0 ± 12,4^{b}	465,8 ± 37,9^{b}	329,2 ± 36,6^{a}	355,5 ± 36,2^{a}	352,9 ± 32,5^{a}	331,5 ± 34,4^{a}
Zn (µg/L)	1400,5 ± 14,8^{d}	1409,2 ± 33,0^{d}	1268,8 ± 27,4^{c}	1230,4 ± 7,4^{c}	1195,0 ± 40,4^{bc}	1380,0 ± 27,0^{d}	1226,8 ± 24,8^{c}	1130,2 ± 20,4^{b}	986,6 ± 34,8^{a}
Br (µg/L)	21,8 ± 1,1^{e}	11,4 ± 0,4^{a}	13,3 ± 0,7^{b}	17,1 ± 0,6^{c}	18,4 ± 0,2^{d}	11,2 ± 0,6^{a}	10,9 ± 0,7^{a}	13,3 ± 1,9^{ab}	13,6 ± 0,8^{b}
Rb (µg/L)	1062,9 ± 48,4^{c}	801,3 ± 32,0^{a}	867,1 ± 63,0^{ab}	1042,9 ± 57,0^{c}	1015,7 ± 43,0^{c}	822,0 ± 24,6^{a}	903,3 ± 36,0^{b}	934,3 ± 35,0^{b}	912,0 ± 14,2^{b}
Sr (µg/L)	260,6 ± 9,9^{c}	208,4 ± 7,0^{a}	235,7 ± 9,7^{b}	264,1 ± 14,1^{c}	267,7 ± 19,0^{c}	216,5 ± 14,0^{ab}	233,8 ± 4,2^{b}	236,3 ± 2,0^{b}	220,7 ± 8,0^{b}
Pb (µg/L)	20,7 ± 2,5^{c}	11,5 ± 1,5^{a}	12,5 ± 2,9^{ab}	11,4 ± 1,6^{a}	13,6 ± 1,6^{ab}	14,0 ± 1,5^{ab}	13,3 ± 1,3^{ab}	14,5 ± 1,2^{b}	13,6 ± 1,6^{ab}

Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima (a-e) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KN – koncentrat konvencionalnog vina dobiven nanofiltracijom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

Tablica 48 Sadržaj elemenata u tragovima u početnom ekološkom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Element	EV	1EN	2EN	3EN	4EN	5EN	6EN	7EN	8EN
K (mg/L)	748,7 ± 28,9^{b}	435,8 ± 19,7^{a}	449,7 ± 21,2^{a}	447,6 ± 11,1^{a}	445,9 ± 15,8^{a}	446,5 ± 18,8^{a}	446,8 ± 18,2^{a}	426,7 ± 13,6^{a}	428,6 ± 17,6^{a}
Ca (mg/L)	50,7 ± 0,1^{b}	42,0 ± 3,9^{a}	42,5 ± 5,9^{a}	42,8 ± 3,5^{a}	40,7 ± 4,4^{a}	44,8 ± 1,6^{a}	41,2 ± 3,3^{a}	41,7 ± 1,9^{a}	37,1 ± 6,9^{a}
Mn (µg/L)	1838,2 ± 0,1^{d}	1309,8 ± 8,2^{a}	1438,4 ± 6,8^{c}	1469,2 ± 22,5^{c}	1426,5 ± 19,3^{c}	1425,3 ± 25,3^{c}	1365,4 ± 12,5^{b}	1421,2 ± 29,3^{c}	1294,9 ± 27,1^{a}
Fe (µg/L)	1317,8 ± 47,7^{d}	1180,5 ± 53,2^{a}	1210,8 ± 48,0^{ab}	1231,9 ± 12,7^{b}	1288,8 ± 17,4^{c}	1216,1 ± 22,6^{a}	1247,5 ± 14,0^{ab}	1215,7 ± 35,5^{a}	1180,3 ± 21,5^{a}
Cu (µg/L)	496,8 ± 24,6^{d}	286,2 ± 14,9^{bc}	296,4 ± 1,8^{b}	323,2 ± 19,2^{c}	324,2 ± 17,2^{c}	257,9 ± 20,6^{ab}	249,9 ± 1,3^{a}	286,9 ± 27,2^{bc}	313,3 ± 10,0^{c}
Zn (µg/L)	1212,9 ± 71,0^{e}	948,0 ± 20,7^{c}	888,8 ± 13,6^{b}	867,1 ± 19,3^{b}	824,0 ± 56,3^{ab}	1113,4 ± 58,9^{d}	917,5 ± 34,2^{bc}	853,7 ± 29,3^{ab}	815,5 ± 25,6^{a}
Br (µg/L)	24,9 ± 2,3^{d}	16,7 ± 2,2^{a}	20,4 ± 1,9^{ab}	25,7 ± 1,5^{c}	25,9 ± 1,8^{c}	17,7 ± 1,5^{a}	16,8 ± 1,9^{a}	23,4 ± 0,9^{bc}	19,5 ± 1,9^{a}
Rb (µg/L)	1663,1 ± 10,2^{c}	1178,4 ± 64,9^{a}	1255,1 ± 39,6^{a}	1412,2 ± 20,1^{b}	1361,4 ± 40,6^{b}	1278,4 ± 28,1^{a}	1224,9 ± 44,3^{a}	1269,5 ± 37,2^{a}	1234,7 ± 46,7^{a}
Sr (µg/L)	520,6 ± 49,1^{d}	365,1 ± 15,0^{ab}	386,3 ± 13,9^{b}	457,0 ± 30,3^{c}	386,9 ± 7,7^{b}	377,9 ± 17,4^{ab}	344,6 ± 18,2^{a}	420,8 ± 19,1^{c}	356,6 ± 17,8^{a}
Pb (µg/L)	25,8 ± 1,1^{c}	22,1 ± 1,1^{b}	27,4 ± 2,1^{c}	27,2 ± 2,1^{c}	25,3 ± 1,8^{c}	14,9 ± 2,0^{a}	15,3 ± 2,0^{a}	22,6 ± 1,5^{b}	23,4 ± 2,2^{bc}

Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima (a-e) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: EV – početno ekološko vino; EN – koncentrat ekološkog vina dobiven nanofiltracijom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

4.2.3. Utjecaj procesnih parametara na aromatski profil

Tablica 49 Sadržaj aromatskih spojeva identificiranih u početnom konvencionalnom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Spoj	KV	1KN	2KN	3KN	4KN	5KN	6KN	7KN	8KN
∑Kiseline (µg/L)	984,1 ± 10,8^{i}	252,5 ± 4,2^{b}	338,7 ± 5,5^{e}	371,9 ± 8,1^{g}	409,4 ± 4,8^{h}	225,0 ± 2,8^{a}	287,1 ± 4,2^{c}	320,1 ± 5,9^{d}	353,6 ± 5,9^{f}
Octena kiselina (µg/L)	394,1 ± 3,2^{a}	-	-	-	-	-	-	-	-
Oktanska kiselina (µg/L)	341,6 ± 5,3^{h}	136,9 ± 0,9^{b}	187,1 ± 2,5^{e}	205,5 ± 5,1^{f}	224,9 ± 2,3^{g}	106,8 ± 0,5^{a}	154,2 ± 2,3^{c}	167,1 ± 2,2^{d}	183,2 ± 2,2^{e}
Dekanska kiselina (µg/L)	172,4 ± 1,5^{f}	85,1 ± 2,3^{a}	104,8 ± 2,2^{c}	112,6 ± 1,7^{d}	124,5 ± 0,9^{e}	85,0 ± 2,1^{a}	99,8 ± 0,7^{b}	106,9 ± 3,1^{c}	114,3 ± 2,4^{d}
Laurinska kiselina (µg/L)	45,7 ± 0,1^{g}	16,5 ± 0,5^{a}	32,4 ± 0,4^{d}	35,8 ± 0,9^{e}	37,5 ± 0,9^{f}	21,1 ± 0,1^{b}	20,7 ± 1,0^{b}	30,9 ± 0,4^{c}	38,6 ± 1,2^{f}
Miristinska kiselina (µg/L)	22,0 ± 0,7^{f}	12,2 ± 0,5^{b}	12,0 ± 0,3^{b}	14,2 ± 0,2^{c}	18,1 ± 0,6^{d}	10,6 ± 0,2^{a}	10,6 ± 0,1^{a}	12,1 ± 0,1^{b}	14,1 ± 0,1^{c}
Palmitinska kiselina (µg/L)	8,3 ± 0,1^{g}	1,9 ± 0,1^{b}	2,5 ± 0,1^{c}	3,8 ± 0,2^{e}	4,3 ± 0,1^{f}	1,5 ± 0,1^{a}	1,9 ± 0,1^{b}	3,1 ± 0,1^{d}	3,5 ± 0,1^{e}
∑Alkoholi (mg/L)	13,21 ± 0,06^{h}	3,83 ± 0,09^{b}	4,08 ± 0,07^{d}	4,63 ± 0,05^{f}	5,32 ± 0,05^{g}	2,70 ± 0,05^{a}	3,97 ± 0,06^{c}	4,07 ± 0,07^{d}	4,36 ± 0,04^{e}
Izoamilni alkohol (mg/L)	7,15 ± 0,02^{h}	2,38 ± 0,06^{b}	2,74 ± 0,05^{d}	3,19 ± 0,04^{f}	3,77 ± 0,02^{g}	1,59 ± 0,01^{a}	2,61 ± 0,04^{c}	2,68 ± 0,05^{cd}	2,89 ± 0,01^{e}
Butan-2,3-diol (µg/L)	507,2 ± 0,8^{g}	12,1 ± 0,1^{b}	12,6 ± 0,5^{b}	29,6 ± 0,3^{d}	57,3 ± 0,1^{f}	-	11,5 ± 0,2^{a}	20,7 ± 0,2^{c}	42,7 ± 0,8^{e}
Heksan-1-ol (µg/L)	868,4 ± 8,0^{h}	52,4 ± 0,1^{c}	70,2 ± 0,4^{e}	77,8 ± 1,2^{f}	87,0 ± 1,3^{g}	44,9 ± 0,4^{a}	51,1 ± 0,9^{b}	51,6 ± 0,1^{b}	53,0 ± 0,4^{d}
Metionol (µg/L)	45,9 ± 1,2^{b}	24,0 ± 0,3^{a}	-	-	-	-	-	-	-
Benzilni alkohol (µg/L)	48,6 ± 0,1^{a}	-	-	-	-	-	-	-	-
Oktan-1-ol (µg/L)	57,0 ± 0,1^{g}	35,9 ± 0,5^{d}	36,2 ± 0,4^{d}	37,7 ± 0,3^{e}	42,1 ± 1,0^{f}	31,3 ± 0,2^{a}	32,8 ± 0,1^{c}	31,6 ± 0,3^{b}	35,8 ± 0,8^{d}
2-feniletanol (mg/L)	4,42 ± 0,03^{d}	1,15 ± 0,04^{b}	1,14 ± 0,03^{b}	1,20 ± 0,03^{bc}	1,26 ± 0,03^{c}	0,98 ± 0,03^{a}	1,18 ± 0,02^{b}	1,19 ± 0,02^{b}	1,25 ± 0,03^{c}
Dodekanol (µg/L)	113,8 ± 1,7^{f}	66,6 ± 0,6^{b}	89,3 ± 3,0^{d}	94,1 ± 1,2^{e}	111,6 ± 1,1^{f}	58,5 ± 0,8^{a}	74,9 ± 1,2^{c}	91,1 ± 1,0^{d}	93,4 ± 0,1^{e}
∑Karbonilni spojevi (µg/L)	81,3 ± 2,0^{h}	38,1 ± 1,1^{b}	46,2 ± 2,1^{de}	49,5 ± 0,6^{f}	57,4 ± 1,1^{g}	35,5 ± 0,8^{a}	40,7 ± 1,2^{c}	45,1 ± 1,0^{d}	48,5 ± 0,9^{ef}
4-propilbenzaldehid (µg/L)	21,2 ± 0,6^{h}	4,3 ± 0,1^{a}	12,4 ± 0,7^{de}	13,1 ± 0,2^{e}	17,7 ± 0,1^{g}	8,5 ± 0,1^{b}	10,5 ± 0,1^{c}	11,5 ± 0,5^{d}	15,3 ± 0,1^{f}
Geranil aceton (µg/L)	24,4 ± 0,2^{d}	13,7 ± 0,4^{a}	14,1 ± 0,6^{a}	15,2 ± 0,2^{b}	17,0 ± 0,3^{c}	13,3 ± 0,2^{a}	13,3 ± 0,4^{a}	15,2 ± 0,2^{b}	15,8 ± 0,4^{b}
Lili aldehid (µg/L)	19,9 ± 1,1^{e}	11,4 ± 0,6^{d}	10,3 ± 0,5^{d}	10,5 ± 0,2^{d}	11,0 ± 0,4^{d}	6,5 ± 0,4^{a}	8,3 ± 0,3^{b}	9,5 ± 0,1^{c}	8,7 ± 0,1^{b}
Heksilcinamaldehid (µg/L)	15,8 ± 0,1^{f}	8,6 ± 0,1^{b}	9,5 ± 0,3^{c}	10,6 ± 0,1^{d}	11,6 ± 0,3^{e}	7,2 ± 0,2^{a}	8,6 ± 0,4^{b}	9,0 ± 0,2^{c}	8,8 ± 0,3^{b}
∑Terpeni (µg/L)	194,4 ± 5,0^{f}	71,7 ± 1,6^{b}	75,3 ± 1,5^{c}	85,1 ± 2,3^{d}	92,3 ± 1,2^{e}	56,3 ± 1,4^{a}	70,7 ± 1,9^{b}	75,7 ± 1,1^{c}	83,6 ± 1,1^{d}
α-terpinolen (µg/L)	87,3 ± 2,9^{d}	32,2 ± 1,2^{b}	32,9 ± 1,1^{b}	37,3 ± 1,3^{c}	37,0 ± 0,4^{c}	26,7 ± 1,0^{a}	32,0 ± 0,8^{b}	32,3 ± 0,2^{b}	36,8 ± 0,2^{c}
β-citronelol (µg/L)	20,6 ± 0,2^{f}	11,5 ± 0,1^{c}	12,2 ± 0,1^{d}	12,7 ± 0,2^{e}	13,1 ± 0,2^{e}	9,1 ± 0,1^{a}	10,4 ± 0,4^{b}	10,4 ± 0,2^{b}	10,5 ± 0,1^{b}
β-damascenon (µg/L)	48,0 ± 0,8^{f}	15,6 ± 0,1^{d}	14,8 ± 0,1^{c}	15,0 ± 0,2^{c}	18,6 ± 0,1^{e}	9,9 ± 0,1^{a}	13,3 ± 0,3^{b}	13,2 ± 0,4^{b}	13,9 ± 0,5^{b}
β-jonon (µg/L)	31,7 ± 1,1^{f}	8,6 ± 0,1^{b}	11,4 ± 0,3^{c}	16,1 ± 0,5^{d}	18,0 ± 0,2^{e}	7,8 ± 0,3^{a}	11,5 ± 0,3^{c}	15,8 ± 0,1^{d}	17,6 ± 0,2^{e}
Fenantren (µg/L)	6,8 ± 0,1^{f}	3,7 ± 0,1^{b}	4,0 ± 0,1^{c}	4,1 ± 0,1^{c}	5,6 ± 0,3^{e}	2,7 ± 0,1^{a}	3,5 ± 0,1^{b}	3,9 ± 0,2^{bc}	4,8 ± 0,1^{d}

Tablica 49 Nastavak

Spoj	KV	1KN	2KN	3KN	4KN	5KN	6KN	7KN	8KN
∑Esteri (mg/L)	4,08 ± 0,05^{g}	1,79 ± 0,02^{c}	1,82 ± 0,06^{cd}	1,93 ± 0,04^{e}	2,13 ± 0,02^{f}	1,63 ± 0,03^{a}	1,75 ± 0,03^{bc}	1,71 ± 0,04^{b}	1,89 ± 0,01^{de}
Etil-heksanoat (µg/L)	156,8 ± 1,5^{e}	47,6 ± 0,7^{c}	47,8 ± 0,6^{c}	49,0 ± 1,0^{c}	55,2 ± 0,2^{d}	40,8 ± 0,9^{a}	45,6 ± 0,5^{b}	48,8 ± 1,1^{c}	49,5 ± 1,3^{c}
Etil-4-hidroksibutanoat (µg/L)	53,5 ± 0,1^{c}	12,2 ± 0,2^{a}	11,9 ± 0,7^{a}	12,8 ± 0,3^{a}	18,0 ± 0,1^{b}	12,7 ± 0,5^{a}	12,9 ± 0,3^{a}	12,7 ± 0,1^{a}	12,2 ± 0,2^{a}
Dietil-sukcinat (mg/L)	2,84 ± 0,04^{e}	1,51 ± 0,01^{b}	1,52 ± 0,05^{b}	1,52 ± 0,03^{b}	1,66 ± 0,01^{d}	1,38 ± 0,02^{a}	1,48 ± 0,02^{b}	1,44 ± 0,04^{ab}	1,60 ± 0,01^{c}
Etil-oktanoat (µg/L)	346,7 ± 1,6^{h}	85,2 ± 0,5^{d}	95,1 ± 0,6^{e}	99,3 ± 2,7^{f}	112,1 ± 5,9^{g}	62,0 ± 0,5^{a}	70,5 ± 0,1^{b}	71,0 ± 0,7^{bc}	71,9 ± 0,9^{c}
Etil–sukcinat (µg/L)	282,3 ± 8,7^{c}	-	-	79,0 ± 0,3^{a}	85,1 ± 0,8^{b}	-	-	-	-
Fenetil-acetat (µg/L)	64,2 ± 2,5^{f}	41,6 ± 1,3^{a}	42,0 ± 0,6^{a}	48,4 ± 0,1^{c}	56,0 ± 2,0^{e}	41,4 ± 0,4^{a}	42,3 ± 0,3^{a}	46,3 ± 0,1^{b}	52,7 ± 0,2^{d}
Etil-dekanoat (µg/L)	26,1 ± 1,4^{d}	8,6 ± 0,4^{b}	9,5 ± 0,5^{b}	9,4 ± 0,9^{b}	10,8 ± 0,2^{c}	5,2 ± 0,1^{a}	8,9 ± 0,2^{b}	9,4 ± 0,4^{b}	10,4 ± 0,1^{c}
Etil-vanilat (µg/L)	10,7 ± 0,3^{f}	4,7 ± 0,3^{a}	5,9 ± 0,6^{b}	7,4 ± 0,1^{d}	6,9 ± 0,1^{c}	5,9 ± 0,2^{b}	8,5 ± 0,1^{e}	8,4 ± 0,1^{e}	8,5 ± 0,1^{e}
Etil-laurat (µg/L)	23,3 ± 1,2^{f}	10,5 ± 0,1^{b}	10,9 ± 0,6^{b}	15,6 ± 0,4^{d}	19,9 ± 0,1^{e}	9,8 ± 0,3^{a}	9,4 ± 0,1^{a}	10,6 ± 0,2^{b}	12,0 ± 0,3^{c}
Heksil-salicilat (µg/L)	18,5 ± 0,5^{e}	10,1 ± 0,2^{b}	11,2 ± 0,2^{c}	13,5 ± 1,3^{d}	17,1 ± 0,9^{e}	7,4 ± 0,1^{a}	10,5 ± 0,1^{b}	10,6 ± 0,1^{b}	11,1 ± 0,1^{c}
Etil-miristat (µg/L)	16,8 ± 0,2^{g}	9,0 ± 0,1^{f}	6,1 ± 0,1^{d}	6,2 ± 0,3^{d}	6,2 ± 0,2^{d}	6,6 ± 0,1^{e}	5,0 ± 0,1^{c}	3,6 ± 0,1^{b}	2,5 ± 0,1^{a}
Diizobutil-ftalat (µg/L)	34,4 ± 0,3^{h}	18,0 ± 0,1^{b}	19,4 ± 0,1^{c}	20,5 ± 0,4^{d}	26,4 ± 0,1^{g}	17,4 ± 0,2^{a}	18,6 ± 0,2^{b}	21,9 ± 0,1^{e}	25,4 ± 0,2^{f}
Etil-pentadekanoat (µg/L)	15,7 ± 0,1^{g}	6,3 ± 0,1^{a}	7,0 ± 0,1^{b}	8,8 ± 0,1^{d}	13,6 ± 0,6^{f}	13,5 ± 0,3^{f}	10,4 ± 0,1^{e}	7,5 ± 0,2^{c}	7,5 ± 0,2^{c}
Metil-palmitat (µg/L)	7,5 ± 0,2^{e}	4,6 ± 0,2^{d}	3,1 ± 0,1^{b}	2,8 ± 0,2^{b}	2,2 ± 0,2^{a}	4,7 ± 0,7^{d}	3,9 ± 0,1^{c}	3,6 ± 0,3^{c}	3,0 ± 0,2^{b}
Dibutil-ftalat (µg/L)	33,3 ± 0,4^{g}	12,2 ± 0,1^{b}	13,1 ± 0,1^{c}	19,2 ± 0,5^{e}	25,2 ± 0,4^{f}	11,4 ± 0,3^{a}	11,6 ± 0,3^{a}	11,7 ± 0,1^{a}	16,5 ± 0,2^{d}
Etil-palmitat (µg/L)	104,3 ± 1,0^{f}	12,3 ± 0,3^{d}	13,7 ± 0,2^{e}	13,4 ± 0,1^{e}	13,5 ± 0,1^{e}	6,4 ± 0,1^{a}	8,9 ± 0,1^{b}	10,4 ± 0,2^{c}	10,7 ± 0,1^{c}
Etil-linoleat (µg/L)	18,6 ± 0,4^{b}	-	-	-	3,0 ± 0,1^{a}	-	-	-	-
Etil-oleat (µg/L)	10,0 ± 0,2^{a}	-	-	-	-	-	-	-	-
Etil-stearat (µg/L)	9,6 ± 0,4^{a}	-	-	-	-	-	-	-	-
∑Hlapivi fenoli (µg/L)	830,6 ± 10,6^{h}	324,5 ± 7,1^{a}	367,6 ± 1,8^{b}	385,1 ± 1,8^{d}	464,3 ± 6,3^{g}	330,2 ± 5,1^{a}	373,1 ± 0,4^{c}	399,8 ± 0,6^{e}	414,2 ± 5,4^{f}
4-etilfenol (µg/L)	111,0 ± 1,1^{e}	-	4,2 ± 0,1^{a}	4,5 ± 0,1^{b}	5,8 ± 0,4^{d}	4,0 ± 0,1^{a}	4,7 ± 0,1^{bc}	4,9 ± 0,2^{c}	4,8 ± 0,1^{c}
4-etilgvajakol (µg/L)	139,7 ± 1,5^{e}	5,1 ± 0,1^{a}	7,7 ± 0,1^{b}	7,6 ± 0,1^{b}	9,2 ± 0,2^{d}	5,1 ± 0,1^{a}	7,2 ± 0,1^{b}	7,5 ± 0,1^{b}	8,4 ± 0,3^{c}
2,4-di-*tert*-butilfenol (µg/L)	579,9 ± 8,1^{h}	319,4 ± 7,0^{a}	355,7 ± 1,6^{b}	373,1 ± 1,7^{d}	449,3 ± 5,8^{g}	321,0 ± 5,0^{a}	361,1 ± 0,2^{c}	387,4 ± 0,3^{e}	401,0 ± 5,0^{f}

Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima (a-i) su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KN – koncentrat konvencionalnog vina dobiven nanofiltracijom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

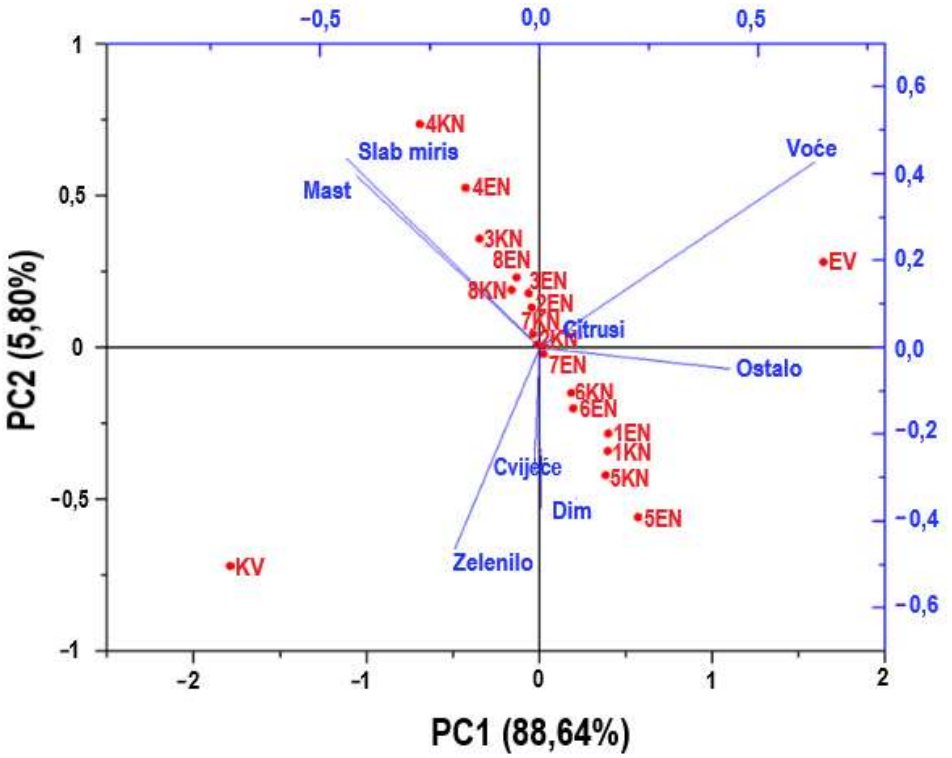
Tablica 50 Sadržaj aromatskih spojeva identificiranih u početnom ekološkom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Spoj	EV	1EN	2EN	3EN	4EN	5EN	6EN	7EN	8EN
∑Kiseline (µg/L)	1634,4 ± 10,7^{h}	189,5 ± 1,2^{b}	255,4 ± 0,8^{d}	270,0 ± 3,1^{e}	319,8 ± 2,4^{g}	177,1 ± 3,3^{a}	226,8 ± 3,8^{c}	253,7 ± 3,5^{d}	289,7 ± 1,7^{f}
Octena kiselina (µg/L)	1043,0 ± 9,5^{a}	-	-	-	-	-	-	-	-
Oktanska kiselina (µg/L)	311,9 ± 0,6^{g}	62,9 ± 0,1^{c}	67,9 ± 0,1^{d}	59,3 ± 0,8^{b}	75,4 ± 0,6^{f}	55,8 ± 2,2^{a}	55,0 ± 1,9^{a}	61,3 ± 1,3^{bc}	74,1 ± 0,3^{e}
Dekanska kiselina (µg/L)	165,1 ± 0,4^{h}	74,5 ± 0,4^{b}	109,5 ± 0,2^{d}	126,2 ± 1,2^{f}	152,2 ± 0,8^{g}	72,7 ± 0,3^{a}	98,6 ± 0,9^{c}	112,9 ± 0,9^{e}	128,3 ± 1,1^{f}
Laurinska kiselina (µg/L)	83,9 ± 0,1^{g}	38,3 ± 0,4^{b}	60,8 ± 0,1^{d}	64,7 ± 0,6^{e}	69,0 ± 0,8^{f}	36,8 ± 0,6^{a}	59,1 ± 0,7^{c}	63,3 ± 0,9^{e}	68,2 ± 0,1^{f}
Miristinska kiselina (µg/L)	22,6 ± 0,2^{g}	11,5 ± 0,2^{b}	14,9 ± 0,3^{d}	16,5 ± 0,4^{e}	19,3 ± 0,1^{f}	9,3 ± 0,2^{a}	11,5 ± 0,2^{b}	13,6 ± 0,3^{c}	16,7 ± 0,1^{e}
Palmitinska kiselina (µg/L)	8,0 ± 0,1^{c}	2,5 ± 0,1^{a}	2,3 ± 0,2^{a}	3,3 ± 0,1^{b}	3,9 ± 0,2^{b}	2,4 ± 0,1^{a}	2,5 ± 0,1^{a}	2,7 ± 0,1^{a}	2,4 ± 0,01^{a}
∑Alkoholi (mg/L)	38,25 ± 0,48^{h}	3,75 ± 0,03^{c}	4,24 ± 0,04^{d}	4,53 ± 0,02^{e}	4,92 ± 0,10^{g}	2,99 ± 0,02^{a}	3,24 ± 0,04^{b}	3,78 ± 0,03^{c}	4,76 ± 0,02^{f}
Izoamilni alkohol (mg/L)	31,79 ± 0,41^{i}	2,33 ± 0,01^{d}	2,71 ± 0,02^{e}	2,92 ± 0,01^{f}	3,21 ± 0,08^{h}	1,71 ± 0,01^{a}	1,81 ± 0,03^{b}	2,16 ± 0,01^{c}	3,07 ± 0,01^{g}
Butan-2,3-diol (µg/L)	512,7 ± 0,8^{f}	5,5 ± 0,3^{a}	6,6 ± 0,4^{b}	7,2 ± 0,1^{b}	11,5 ± 0,2^{e}	4,8 ± 0,4^{a}	7,4 ± 0,4^{b}	8,7 ± 0,1^{c}	9,0 ± 0,2^{d}
Heksan-1-ol (µg/L)	755,2 ± 6,8^{f}	54,5 ± 1,0^{bc}	56,8 ± 0,6^{d}	52,7 ± 1,1^{b}	64,2 ± 1,1^{e}	49,7 ± 1,1^{a}	55,1 ± 0,7^{c}	54,0 ± 0,4^{bc}	56,3 ± 0,5^{d}
Metionol (µg/L)	36,5 ± 0,5^{a}	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzilni alkohol (µg/L)	43,6 ± 0,6^{a}	-	-	-	-	-	-	-	-
Oktan-1-ol (µg/L)	72,3 ± 0,3^{i}	15,5 ± 0,2^{c}	19,3 ± 0,3^{e}	22,4 ± 0,3^{g}	24,6 ± 0,3^{h}	12,0 ± 0,1^{a}	13,5 ± 0,4^{b}	17,0 ± 0,1^{d}	21,1 ± 0,4^{f}
2-feniletanol (mg/L)	4,93 ± 0,02^{f}	1,29 ± 0,02^{b}	1,39 ± 0,01^{c}	1,45 ± 0,01^{d}	1,52 ± 0,02^{e}	1,17 ± 0,01^{a}	1,28 ± 0,01^{b}	1,47 ± 0,02^{d}	1,52 ± 0,01^{e}
Dodekanol (µg/L)	101,3 ± 0,4^{g}	55,0 ± 2,8^{b}	71,5 ± 0,1^{d}	71,2 ± 0,4^{d}	91,9 ± 1,6^{f}	43,7 ± 1,0^{a}	69,4 ± 0,2^{c}	69,0 ± 0,4^{c}	81,8 ± 0,6^{e}
∑Karbonilni spojevi (µg/L)	89,4 ± 0,5^{g}	47,7 ± 0,7^{b}	55,8 ± 1,2^{d}	59,4 ± 1,0^{e}	66,9 ± 1,0^{f}	40,8 ± 0,9^{a}	48,1 ± 0,9^{b}	52,2 ± 1,2^{c}	60,5 ± 0,9^{e}
4-propilbenzaldehid (µg/L)	25,0 ± 0,3^{h}	11,0 ± 0,1^{c}	11,8 ± 0,1^{d}	14,2 ± 0,1^{e}	16,4 ± 0,1^{g}	9,4 ± 0,1^{a}	9,8 ± 0,4^{ab}	10,6 ± 0,5^{bc}	15,1 ± 0,4^{f}
Geranil aceton (µg/L)	25,8 ± 0,1^{g}	14,9 ± 0,3^{c}	20,2 ± 0,6^{e}	19,8 ± 0,3^{e}	21,6 ± 0,3^{f}	10,5 ± 0,3^{a}	13,8 ± 0,1^{b}	16,2 ± 0,5^{d}	19,3 ± 0,2^{e}
Lili aldehid (µg/L)	18,3 ± 0,1^{e}	10,8 ± 0,2^{a}	11,5 ± 0,4^{b}	12,5 ± 0,3^{c}	13,6 ± 0,4^{d}	10,5 ± 0,2^{a}	12,1 ± 0,2^{b}	12,8 ± 0,1^{c}	12,7 ± 0,1^{c}
Heksilcinamaldehid (µg/L)	20,4 ± 0,1^{e}	11,0 ± 0,2^{a}	12,3 ± 0,1^{b}	12,9 ± 0,3^{bc}	15,3 ± 0,2^{d}	10,5 ± 0,3^{a}	12,5 ± 0,2^{b}	12,6 ± 0,2^{b}	13,3 ± 0,3^{c}
∑Terpeni (µg/L)	210,9 ± 3,8^{g}	73,1 ± 0,7^{c}	76,0 ± 1,6^{d}	81,7 ± 0,9^{e}	85,7 ± 1,5^{f}	57,4 ± 1,3^{a}	68,2 ± 0,9^{b}	74,6 ± 1,0^{cd}	80,1 ± 1,2^{e}
α-terpinolen (µg/L)	111,7 ± 1,8^{g}	46,7 ± 0,2^{e}	46,5 ± 0,5^{e}	48,2 ± 0,2^{f}	46,9 ± 0,5^{e}	35,0 ± 0,8^{a}	40,2 ± 0,1^{b}	42,7 ± 0,1^{c}	45,2 ± 0,5^{d}
β-citronelol (µg/L)	17,7 ± 0,2^{d}	5,3 ± 0,1^{a}	5,9 ± 0,5^{a}	8,3 ± 0,1^{b}	9,6 ± 0,1^{c}	5,2 ± 0,1^{a}	5,3 ± 0,3^{a}	8,6 ± 0,3^{b}	9,8 ± 0,1^{c}
β-damascenon (µg/L)	31,1 ± 0,6^{f}	12,2 ± 0,1^{c}	12,5 ± 0,2^{c}	13,1 ± 0,3^{d}	14,1 ± 0,3^{e}	8,6 ± 0,1^{a}	11,6 ± 0,3^{b}	11,2 ± 0,2^{b}	13,3 ± 0,3^{d}
β-jonon (µg/L)	43,4 ± 1,2^{e}	4,6 ± 0,3^{a}	6,7 ± 0,1^{b}	6,9 ± 0,3^{bc}	8,8 ± 0,3^{d}	4,1 ± 0,2^{a}	6,6 ± 0,1^{b}	6,5 ± 0,2^{b}	7,2 ± 0,1^{c}
Fenantren (µg/L)	7,0 ± 0,1^{d}	4,3 ± 0,2^{a}	4,4 ± 0,3^{a}	5,2 ± 0,1^{b}	6,3 ± 0,3^{c}	4,6 ± 0,1^{a}	4,6 ± 0,2^{a}	5,6 ± 0,2^{b}	4,5 ± 0,2^{a}

Tablica 50 Nastavak

Spoj	EV	1EN	2EN	3EN	4EN	5EN	6EN	7EN	8EN
∑Esteri (mg/L)	4,12 ± 0,02^{f}	2,24 ± 0,01^{b}	2,40 ± 0,02^{c}	2,60 ± 0,07^{d}	2,87 ± 0,03^{e}	1,93 ± 0,05^{a}	2,30 ± 0,05^{b}	2,43 ± 0,02^{cd}	2,53 ± 0,08^{d}
Etil-heksanoat (µg/L)	141,5 ± 0,9^{f}	41,0 ± 0,3^{b}	44,7 ± 1,0^{c}	50,9 ± 0,6^{d}	60,6 ± 0,1^{e}	37,8 ± 1,1^{a}	38,9 ± 0,2^{a}	43,8 ± 0,6^{c}	51,7 ± 0,7^{d}
Etil-4-hidroksibutanoat (µg/L)	33,4 ± 0,3^{f}	13,8 ± 0,1^{b}	15,7 ± 0,1^{c}	16,4 ± 0,1^{d}	17,2 ± 0,3^{e}	12,7 ± 0,1^{a}	14,3 ± 0,4^{b}	15,7 ± 0,3^{c}	15,7 ± 0,3^{c}
Dietil-sukcinat (mg/L)	2,93 ± 0,01^{f}	1,93 ± 0,01^{b}	2,03 ± 0,01^{c}	2,19 ± 0,06^{d}	2,34 ± 0,02^{e}	1,64 ± 0,04^{a}	1,95 ± 0,04^{b}	2,05 ± 0,01^{c}	2,11 ± 0,06^{cd}
Etil-oktanoat (µg/L)	367,8 ± 0,4^{h}	103,7 ± 2,8^{b}	125,9 ± 3,1^{de}	122,2 ± 0,6^{d}	155,2 ± 2,7^{g}	93,9 ± 0,1^{a}	119,6 ± 0,9^{c}	130,2 ± 1,9^{e}	145,9 ± 0,4^{f}
Etil–sukcinat (µg/L)	248,6 ± 0,3^{b}	-	-	-	43,5 ± 0,3^{a}	-	-	-	-
Fenetil-acetat (µg/L)	69,6 ± 0,4^{f}	26,5 ± 0,9^{a}	33,2 ± 0,5^{b}	57,0 ± 0,9^{e}	53,2 ± 2,0^{d}	28,2 ± 0,8^{a}	34,3 ± 0,7^{b}	40,8 ± 1,1^{c}	52,4 ± 0,5^{d}
Etil-dekanoat (µg/L)	19,5 ± 0,3^{g}	12,0 ± 0,4^{b}	16,6 ± 0,1^{c}	19,4 ± 0,4^{e}	25,0 ± 0,4^{f}	10,0 ± 0,1^{a}	16,3 ± 0,4^{c}	16,7 ± 0,3^{c}	18,1 ± 0,3^{d}
Etil-vanilat (µg/L)	30,0 ± 0,2^{g}	11,9 ± 0,3^{b}	14,9 ± 0,4^{cd}	17,5 ± 0,1^{e}	20,0 ± 0,3^{f}	10,1 ± 0,2^{a}	14,3 ± 0,2^{c}	15,3 ± 0,5^{d}	15,3 ± 0,1^{d}
Etil-laurat (µg/L)	40,3 ± 0,4^{g}	23,3 ± 0,3^{b}	28,9 ± 0,2^{e}	29,1 ± 0,1^{e}	35,3 ± 0,3^{f}	20,6 ± 0,6^{a}	25,1 ± 0,9^{c}	27,6 ± 0,3^{d}	28,7 ± 0,5^{e}
Heksil-salicilat (µg/L)	15,4 ± 0,2^{g}	6,6 ± 0,1^{b}	8,7 ± 0,2^{d}	9,3 ± 0,3^{e}	14,1 ± 0,3^{f}	5,0 ± 0,1^{a}	7,7 ± 0,2^{c}	9,3 ± 0,3^{e}	13,4 ± 0,4^{f}
Etil-miristat (µg/L)	13,8 ± 0,2^{f}	7,4 ± 0,1^{e}	6,2 ± 0,1^{d}	5,2 ± 0,1^{c}	5,7 ± 0,2^{c}	5,6 ± 0,4^{c}	4,5 ± 0,1^{b}	4,5 ± 0,2^{b}	3,8 ± 0,1^{a}
Diizobutil-ftalat (µg/L)	46,5 ± 0,2^{h}	30,2 ± 0,5^{b}	35,7 ± 0,4^{d}	38,2 ± 0,6^{e}	43,6 ± 1,2^{g}	22,9 ± 0,1^{a}	34,7 ± 0,4^{c}	36,1 ± 0,3^{d}	40,1 ± 0,7^{f}
Etil-pentadekanoat (µg/L)	13,6 ± 0,2^{e}	6,3 ± 0,1^{a}	7,5 ± 0,1^{b}	7,9 ± 0,5^{bc}	10,8 ± 0,1^{d}	7,2 ± 0,2^{b}	7,7 ± 0,3^{b}	7,7 ± 0,3^{b}	8,5 ± 0,1^{c}
Metil-palmitat (µg/L)	14,5 ± 0,1^{d}	11,2 ± 0,2^{c}	10,3 ± 0,1^{b}	8,8 ± 0,1^{a}	8,8 ± 0,2^{a}	11,6 ± 0,2^{c}	10,5 ± 0,2^{b}	9,4 ± 0,5^{a}	9,0 ± 0,1^{a}
Dibutil-ftalat (µg/L)	33,2 ± 0,2^{f}	12,3 ± 0,2^{b}	15,9 ± 0,1^{d}	17,6 ± 0,5^{e}	16,8 ± 0,3^{e}	11,2 ± 0,1^{a}	14,5 ± 0,1^{c}	14,6 ± 0,3^{c}	14,3 ± 0,1^{c}
Etil-palmitat (µg/L)	69,3 ± 1,1^{e}	7,8 ± 0,2^{a}	8,8 ± 0,2^{b}	9,5 ± 0,1^{c}	10,4 ± 0,1^{d}	8,9 ± 0,4^{b}	7,8 ± 0,2^{a}	7,5 ± 0,1^{a}	8,6 ± 0,3^{b}
Etil-linoleat (µg/L)	8,9 ± 0,1^{b}	-	-	-	2,8 ± 0,1^{a}	-	-	-	-
Etil-oleat (µg/L)	9,5 ± 0,2^{a}	-	-	-	-	-	-	-	-
Etil-stearat (µg/L)	9,5 ± 0,5^{a}	-	-	-	-	-	-	-	-
∑Hlapivi fenoli (µg/L)	811,8 ± 5,2^{g}	366,8 ± 3,1^{b}	467,5 ± 2,5^{e}	469,4 ± 1,4^{e}	495,2 ± 3,1^{f}	305,9 ± 4,1^{a}	380,0 ± 0,9^{c}	433,8 ± 1,6^{d}	471,4 ± 2,4^{e}
4-etilfenol (µg/L)	127,7 ± 0,9^{d}	-	5,1 ± 0,1^{c}	5,1 ± 0,1^{c}	5,2 ± 0,2^{c}	4,0 ± 0,1^{a}	4,8 ± 0,1^{b}	4,5 ± 0,3^{b}	4,8 ± 0,1^{b}
4-etilgvajakol (µg/L)	142,1 ± 0,2^{d}	4,8 ± 0,1^{a}	5,7 ± 0,1^{c}	5,7 ± 0,1^{c}	5,7 ± 0,1^{c}	4,6 ± 0,2^{a}	5,2 ± 0,1^{b}	5,7 ± 0,1^{c}	5,8 ± 0,1^{c}
2,4-di-*tert*-butilfenol (µg/L)	542,0 ± 4,1^{g}	361,9 ± 3,0^{b}	456,6 ± 2,3^{e}	458,6 ± 1,2^{e}	484,3 ± 2,8^{f}	297,3 ± 3,8^{a}	370,0 ± 0,7^{c}	423,5 ± 1,2^{d}	460,8 ± 2,3^{e}

Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima (a-i) su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: EV – početno ekološko vino; EN – koncentrat ekološkog vina dobiven nanofiltracijom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.



Slika 40 PCA analiza aromatskog profila početnog konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon i njihovih koncentrata dobivenih koncentriranjem nanofiltracijom pri 25, 35, 45, 55 bara, s i bez primjene hlađenja. Aromatski spojevi su podijeljeni na osnovu glavnog mirisi kojim doprinose ukupnoj aromi na 8 skupina: miris na mast, zelenilo, cvijeće, citruse, voće, dim te slab miris i ostalo (ocat, karamela, sumpor i med). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KN – koncentrat konvencionalnog vina dobiven nanofiltracijom; EV – početno ekološko vino; EN – koncentrat ekološkog vina dobiven nanofiltracijom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

4.2.4. Utjecaj procesnih parametara na sastav fenolnih spojeva i antioksidacijsku aktivnost

Tablica 51 Sadržaj ukupnih polifenola, flavonoida i monomernih antocijana te udio polimerne boje u početnom konvencionalnom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	Polifenoli (g GAE/L)	Flavonoidi (g CE/L)	Antocijani (mg CGE/L)	Polimerna boja (%)
KV	3,19 ± 0,06^{d}	1,55 ± 0,04^{d}	151,41 ± 0,49^{g}	61,50 ± 0,22^{a}
1KN	2,14 ± 0,03^{a}	1,18 ± 0,03^{a}	99,15 ± 0,36^{c}	61,76 ± 0,16^{a}
2KN	2,26 ± 0,06^{b}	1,17 ± 0,03^{a}	101,49 ± 0,87^{d}	61,94 ± 0,55^{a}
3KN	2,40 ± 0,04^{bc}	1,31 ± 0,03^{c}	108,79 ± 0,66^{e}	61,89 ± 0,21^{a}
4KN	2,49 ± 0,06^{c}	1,30 ± 0,02^{c}	124,12 ± 0,64^{f}	61,52 ± 0,38^{a}
5KN	2,08 ± 0,04^{a}	1,19 ± 0,03^{a}	78,28 ± 0,22^{a}	63,63 ± 0,29^{b}
6KN	2,32 ± 0,04^{b}	1,20 ± 0,01^{a}	96,80 ± 0,09^{b}	63,64 ± 0,11^{b}
7KN	2,42 ± 0,01^{c}	1,24 ± 0,01^{b}	99,95 ± 0,86^{c}	63,67 ± 0,14^{b}
8KN	2,46 ± 0,03^{c}	1,24 ± 0,01^{b}	109,99 ± 0,56^{e}	63,95 ± 0,32^{b}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-g) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KN – koncentrat konvencionalnog vina dobiven nanofiltracijom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja; GAE – ekvivalent galne kiseline; CE – ekvivalent katehina; CGE – ekvivalent cijanidin 3-glukozida.

Tablica 52 Sadržaj ukupnih polifenola, flavonoida i monomernih antocijana te udio polimerne boje u početnom ekološkom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	Polifenoli (g GAE/L)	Flavonoidi (g CE/L)	Antocijani (mg CGE/L)	Polimerna boja (%)
EV	3,34 ± 0,06^{e}	1,64 ± 0,02^{d}	103,83 ± 0,72^{f}	68,62 ± 0,97^{a}
1EN	2,35 ± 0,03^{a}	1,30 ± 0,01^{b}	84,95 ± 0,96^{b}	68,63 ± 0,35^{a}
2EN	2,45 ± 0,03^{b}	1,33 ± 0,02^{b}	87,54 ± 0,69^{c}	68,62 ± 0,36^{a}
3EN	2,62 ± 0,10^{c}	1,50 ± 0,02^{c}	88,62 ± 0,86^{c}	68,20 ± 0,43^{a}
4EN	2,84 ± 0,05^{d}	1,48 ± 0,02^{c}	99,24 ± 0,45^{e}	68,82 ± 0,31^{a}
5EN	2,28 ± 0,04^{a}	1,15 ± 0,02^{a}	78,16 ± 0,86^{a}	70,93 ± 0,13^{b}
6EN	2,45 ± 0,01^{b}	1,30 ± 0,02^{b}	85,11 ± 0,92^{b}	70,85 ± 0,18^{b}
7EN	2,62 ± 0,05^{c}	1,49 ± 0,03^{c}	84,60 ± 0,95^{b}	70,87 ± 0,24^{b}
8EN	2,74 ± 0,05^{d}	1,45 ± 0,05^{c}	91,39 ± 0,29^{d}	70,99 ± 0,38^{b}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-f) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: EV – početno ekološko vino; EN – koncentrat ekološkog vina dobiven nanofiltracijom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja; GAE – ekvivalent galne kiseline; CE – ekvivalent katehina; CGE – ekvivalent cijanidin 3-glukozida.

Tablica 53 Koncentracija (mg/L) pojedinih fenolnih spojeva u početnom konvencionalnom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

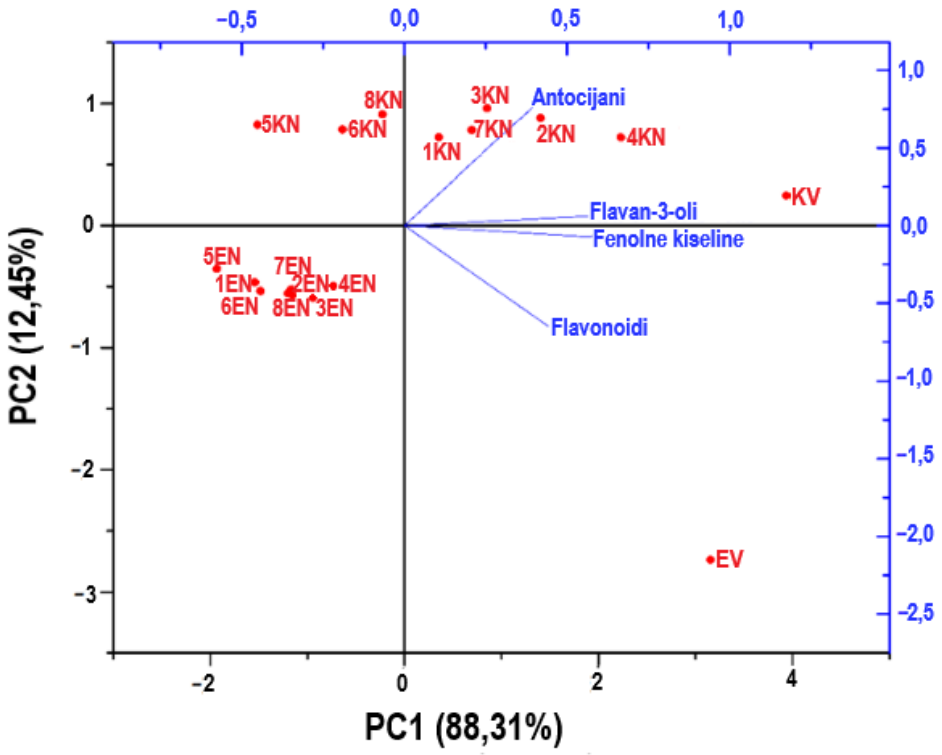
Uzorak	KV	1KN	2KN	3KN	4KN	5KN	6KN	7KN	8KN
Galna kiselina	42,22 ± 0,65^{g}	26,41 ± 0,13^{d}	29,18 ± 0,34^{e}	28,85 ± 0,07^{e}	32,16 ± 0,14^{f}	20,68 ± 0,08^{a}	22,88 ± 0,01^{b}	26,58 ± 0,09^{d}	24,85 ± 0,25^{c}
Kafeinska kiselina	2,71 ± 0,01^{f}	1,76 ± 0,01^{c}	1,93 ± 0,02^{d}	1,88 ± 0,05^{d}	2,15 ± 0,01^{e}	1,42 ± 0,03^{a}	1,67 ± 0,02^{b}	1,97 ± 0,03^{d}	1,78 ± 0,02^{c}
Kaftarna kiselina	11,18 ± 0,11^{f}	9,23 ± 0,06^{c}	9,95 ± 0,12^{d}	9,41 ± 0,22^{cd}	10,96 ± 0,09^{e}	7,46 ± 0,01^{a}	8,35 ± 0,02^{b}	10,12 ± 0,09^{d}	9,07 ± 0,04^{c}
(+)-katehin	88,71 ± 0,60^{i}	65,94 ± 0,09^{e}	76,79 ± 0,44^{g}	70,12 ± 0,34^{f}	79,33 ± 0,55^{h}	45,35 ± 0,14^{a}	51,43 ± 0,50^{b}	61,29 ± 0,10^{d}	56,27 ± 0,16^{c}
(−)-epikatehin	34,63 ± 0,16^{g}	31,52 ± 0,29^{d}	34,02 ± 0,08^{f}	33,02 ± 0,19^{e}	34,65 ± 0,19^{g}	26,03 ± 0,07^{a}	28,89 ± 0,15^{b}	33,32 ± 0,05^{e}	30,82 ± 0,09^{c}
Rutin	0,95 ± 0,02^{a}	1,06 ± 0,01^{b}	1,15 ± 0,02^{c}	1,03 ± 0,01^{b}	1,30 ± 0,01^{e}	0,91 ± 0,02^{a}	1,06 ± 0,02^{b}	1,21 ± 0,01^{d}	1,00 ± 0,03^{b}
Kvercetin	1,18 ± 0,01^{e}	0,18 ± 0,01^{c}	0,21 ± 0,01^{c}	0,17 ± 0,03^{c}	0,25 ± 0,01^{d}	0,08 ± 0,01^{a}	0,10 ± 0,02^{ab}	0,13 ± 0,01^{b}	0,09 ± 0,02^{ab}
DKv1	2,02 ± 0,04^{f}	0,96 ± 0,02^{b}	1,11 ± 0,02^{c}	0,95 ± 0,03^{b}	1,39 ± 0,01^{e}	0,77 ± 0,01^{a}	0,98 ± 0,01^{b}	1,22 ± 0,01^{d}	0,99 ± 0,01^{b}
DKv2	1,11 ± 0,01^{f}	0,86 ± 0,01^{b}	0,93 ± 0,02^{c}	0,85 ± 0,01^{b}	1,05 ± 0,01^{e}	0,72 ± 0,01^{a}	0,83 ± 0,01^{b}	0,98 ± 0,01^{d}	0,82 ± 0,01^{b}
Malvidin 3-glukozid	38,57 ± 0,01^{f}	28,23 ± 0,29^{b}	32,71 ± 0,07^{d}	31,18 ± 0,99^{d}	35,16 ± 0,52^{e}	25,86 ± 0,17^{a}	28,80 ± 0,13^{b}	32,86 ± 0,21^{d}	29,20 ± 0,02^{c}
DM3-g	8,27 ± 0,01^{f}	6,11 ± 0,02^{b}	6,86 ± 0,13^{c}	6,56 ± 0,15^{c}	7,51 ± 0,17^{e}	5,30 ± 0,02^{a}	6,03 ± 0,05^{b}	7,04 ± 0,05^{d}	6,12 ± 0,01^{b}

Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima (a-i) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KN – koncentrat konvencionalnog vina dobiven nanofiltracijom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja; DKv1 – derivat kvercetina 1; DKv2 – derivat kvercetina 2; DM3-g – derivat malvidin 3-glukozida.

Tablica 54 Koncentracija (mg/L) pojedinih fenolnih spojeva u početnom ekološkom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	EV	1EN	2EN	3EN	4EN	5EN	6EN	7EN	8EN
Galna kiselina	43,95 ± 0,60^{g}	26,08 ± 0,12^{bc}	28,02 ± 0,56^{d}	29,68 ± 0,03^{e}	30,00 ± 0,01^{f}	23,59 ± 0,04^{a}	25,56 ± 0,56^{b}	26,68 ± 0,48^{c}	27,17 ± 0,01^{c}
Kafeinska kiselina	2,10 ± 0,01^{e}	1,36 ± 0,01^{b}	1,46 ± 0,01^{c}	1,49 ± 0,02^{cd}	1,44 ± 0,03^{c}	1,25 ± 0,02^{a}	1,34 ± 0,01^{b}	1,52 ± 0,01^{d}	1,52 ± 0,01^{d}
Kaftarna kiselina	4,05 ± 0,01^{d}	3,42 ± 0,04^{b}	3,61 ± 0,01^{c}	3,63 ± 0,03^{c}	3,51 ± 0,12^{bc}	3,18 ± 0,01^{a}	3,37 ± 0,03^{b}	3,61 ± 0,05^{c}	3,59 ± 0,02^{c}
(+)-katehin	42,18 ± 0,34^{h}	30,01 ± 0,02^{c}	31,64 ± 0,12^{d}	32,00 ± 0,10^{e}	36,65 ± 0,06^{g}	28,47 ± 0,01^{a}	29,68 ± 0,06^{b}	32,22 ± 0,27^{e}	32,87 ± 0,05^{f}
(−)-epikatehin	69,80 ± 1,61^{f}	48,31 ± 0,19^{b}	51,36 ± 0,85^{d}	53,22 ± 0,24^{e}	53,26 ± 0,06^{e}	46,12 ± 0,88^{a}	47,82 ± 0,31^{b}	48,95 ± 0,29^{c}	49,28 ± 0,17^{c}
Rutin	1,59 ± 0,01^{d}	1,28 ± 0,02^{b}	1,30 ± 0,02^{b}	1,29 ± 0,01^{b}	1,29 ± 0,01^{b}	1,20 ± 0,01^{a}	1,33 ± 0,01^{c}	1,34 ± 0,01^{c}	1,33 ± 0,01^{c}
Kvercetin	3,57 ± 0,04^{a}	-	-	-	-	-	-	-	-
DKv1	1,43 ± 0,01^{d}	0,70 ± 0,01^{a}	0,74 ± 0,03^{a}	0,81 ± 0,01^{b}	0,82 ± 0,01^{b}	0,71 ± 0,01^{a}	0,90 ± 0,01^{c}	0,91 ± 0,01^{c}	0,90 ± 0,01^{c}
DKv2	1,20 ± 0,01^{c}	0,96 ± 0,02^{b}	0,99 ± 0,02^{b}	0,98 ± 0,02^{b}	0,96 ± 0,03^{b}	0,89 ± 0,01^{a}	0,99 ± 0,01^{b}	1,02 ± 0,02^{b}	1,01 ± 0,02^{b}
Malvidin 3-glukozid	16,12 ± 0,10^{e}	11,77 ± 0,07^{a}	11,68 ± 0,05^{a}	11,64 ± 0,09^{a}	12,39 ± 0,01^{c}	12,19 ± 0,03^{b}	12,92 ± 0,17^{d}	12,98 ± 0,10^{d}	12,51 ± 0,11^{c}
DM3-g	3,07 ± 0,01^{c}	1,83 ± 0,01^{a}	1,82 ± 0,02^{a}	1,83 ± 0,07^{a}	1,86 ± 0,06^{a}	1,82 ± 0,05^{a}	1,90 ± 0,11^{ab}	2,01 ± 0,04^{b}	2,01 ± 0,05^{b}

Vrijednosti u istom retku s različitim eksponentima (a-h) su statistički značajno različite (P < 0,05, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: EV – početno ekološko vino; EN – koncentrat ekološkog vina dobiven nanofiltracijom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja; DKv1 – derivat kvercetina 1; DKv2 – derivat kvercetina 2; DM3-g – derivat malvidin 3-glukozida.



Slika 41 PCA analiza fenolnog profila početnog konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon i njihovih koncentrata dobivenih koncentriranjem nanofiltracijom pri 25, 35, 45, 55 bara, s i bez primjene hlađenja. Fenolni spojevi su podijeljeni na četiri glavne skupine: fenolne kiseline (galna, kafeinska i kaftarna kiselina), flavan-3-oli (katehin i epikatehin), flavonoidi (rutin, kvercetin i njegova dva derivata) te antocijani (malvidin 3-glukozid i njegov derivat). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KN – koncentrat konvencionalnog vina dobiven nanofiltracijom; EV – početno ekološko vino; ER – koncentrat ekološkog vina dobiven nanofiltracijom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

Tablica 55 Antioksidacijska aktivnost (μmol TE/100 mL) određena DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metodom u početnom konvencionalnom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	DPPH	ABTS	FRAP	CUPRAC
KV	14,92 ± 0,97^{f}	35,18 ± 0,15^{g}	3,04 ± 0,15^{e}	174,77 ± 1,07^{f}
1KN	3,74 ± 0,29^{ab}	20,32 ± 0,26^{b}	2,28 ± 0,03^{b}	136,06 ± 1,32^{b}
2KN	3,77 ± 0,38^{ab}	24,65 ± 0,17^{e}	2,30 ± 0,03^{b}	149,85 ± 1,50^{d}
3KN	8,89 ± 0,47^{d}	25,68 ± 0,10^{f}	2,47 ± 0,05^{c}	151,76 ± 1,50^{d}
4KN	9,87 ± 0,16^{e}	25,77 ± 0,09^{f}	2,62 ± 0,04^{d}	158,23 ± 0,79^{e}
5KN	3,01 ± 0,44^{a}	16,43 ± 0,41^{a}	2,09 ± 0,07^{a}	116,44 ± 0,24^{a}
6KN	4,05 ± 0,16^{b}	22,15 ± 0,32^{c}	2,24 ± 0,03^{b}	117,31 ± 1,66^{a}
7KN	6,45 ± 0,32^{c}	23,13 ± 0,19^{d}	2,41 ± 0,06^{c}	133,35 ± 1,58^{b}
8KN	8,00 ± 0,41^{d}	24,87 ± 0,26^{e}	2,52 ± 0,07^{cd}	139,34 ± 0,70^{c}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-g) su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KN – koncentrat konvencionalnog vina dobiven nanofiltracijom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja; GAE – ekvivalent galne kiseline; TE – ekvivalent troloxa.

Tablica 56 Antioksidacijska aktivnost (μmol TE/100 mL) određena DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metodom u početnom ekološkom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	DPPH	ABTS	FRAP	CUPRAC
EV	14,77 ± 0,72^{e}	33,46 ± 0,59^{e}	3,10 ± 0,13^{e}	170,85 ± 1,53^{h}
1EN	5,80 ± 0,39^{a}	24,16 ± 0,16^{a}	2,22 ± 0,14^{b}	107,24 ± 0,45^{b}
2EN	6,45 ± 0,35^{a}	24,14 ± 0,23^{a}	2,34 ± 0,19^{bc}	112,96 ± 1,65^{c}
3EN	8,78 ± 0,34^{c}	31,35 ± 0,15^{d}	2,45 ± 0,05^{c}	138,51 ± 0,38^{f}
4EN	11,15 ± 0,03^{d}	31,50 ± 0,17^{d}	2,62 ± 0,01^{d}	149,84 ± 1,23^{g}
5EN	5,77 ± 0,38^{a}	24,28 ± 0,15^{a}	1,96 ± 0,02^{a}	101,44 ± 1,74^{a}
6EN	5,94 ± 0,49^{a}	25,58 ± 0,07^{b}	2,12 ± 0,03^{b}	127,67 ± 1,06^{d}
7EN	6,99 ± 0,05^{b}	27,96 ± 0,11^{c}	2,42 ± 0,09^{c}	133,87 ± 1,35^{e}
8EN	7,11 ± 0,11^{b}	31,58 ± 0,17^{d}	2,66 ± 0,06^{d}	136,37 ± 1,80^{ef}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-h) su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: EV – početno ekološko vino; EN – koncentrat ekološkog vina dobiven nanofiltracijom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja; TE – ekvivalent troloxa.

Tablica 57 Koeficijent korelacije (*r*) između ukupnih polifenola, flavonoida i monomernih antocijana te antioksidacijske aktivnosti dobivene DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metodom u početnom konvencionalnom i ekološkom Cabernet Sauvignon crnom vinu i koncentratima dobivenih nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

	Konvencionalno vino			Ekološko vino		
	Polifenoli	**Flavonoidi**	**Antocijani**	**Polifenoli**	**Flavonoidi**	**Antocijani**
DPPH	0,934	0,948	0,941	0,943	0,814	0,890
ABTS	0,949	0,887	0,961	0,869	0,869	0,787
FRAP	0,962	0,929	0,983	0,965	0,914	0,960
CUPRAC	0,769	0,759	0,901	0,954	0,924	0,882

4.2.5. Utjecaj procesnih parametara na boju

Tablica 58 CIELab parametri boje početnog konvencionalnog Cabernet Sauvignon crnog vina i koncentrata dobivenih nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	L*	a*	b*	°h	C*	ΔE*
KV	19,70 ± 0,01^{a}	1,98 ± 0,03^{b}	1,14 ± 0,03^{a}	35,80 ± 0,64^{c}	1,94 ± 0,02^{a}	-
1KN	19,96 ± 0,04^{b}	1,95 ± 0,03^{b}	1,16 ± 0,03^{a}	29,38 ± 0,28^{a}	2,25 ± 0,04^{b}	0,26 ± 0,02^{a}
2KN	19,96 ± 0,02^{b}	1,95 ± 0,02^{b}	1,12 ± 0,03^{a}	29,70 ± 0,22^{a}	2,24 ± 0,04^{b}	0,26 ± 0,02^{a}
3KN	19,98 ± 0,01^{b}	2,05 ± 0,04^{b}	1,15 ± 0,01^{a}	31,11 ± 0,39^{b}	2,28 ± 0,02^{b}	0,29 ± 0,02^{ab}
4KN	19,99 ± 0,01^{b}	2,02 ± 0,04^{b}	1,14 ± 0,02^{a}	31,17 ± 0,22^{b}	2,30 ± 0,02^{b}	0,30 ± 0,03^{b}
5KN	20,00 ± 0,03^{b}	1,86 ± 0,03^{a}	1,14 ± 0,02^{a}	29,24 ± 0,32^{a}	2,31 ± 0,03^{b}	0,32 ± 0,03^{b}
6KN	20,00 ± 0,01^{b}	1,87 ± 0,03^{a}	1,14 ± 0,03^{a}	29,60 ± 0,33^{a}	2,30 ± 0,03^{b}	0,32 ± 0,01^{b}
7KN	20,00 ± 0,02^{b}	1,86 ± 0,02^{a}	1,14 ± 0,02^{a}	30,60 ± 0,32^{b}	2,42 ± 0,01^{c}	0,32 ± 0,02^{b}
8KN	20,04 ± 0,04^{b}	1,83 ± 0,02^{a}	1,15 ± 0,01^{a}	30,71 ± 0,39^{b}	2,42 ± 0,02^{c}	0,37 ± 0,01^{c}

Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-c) su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: KV – početno konvencionalno vino; KN – koncentrat konvencionalnog vina dobiven nanofiltracijom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja; GAE – ekvivalent galne kiseline.

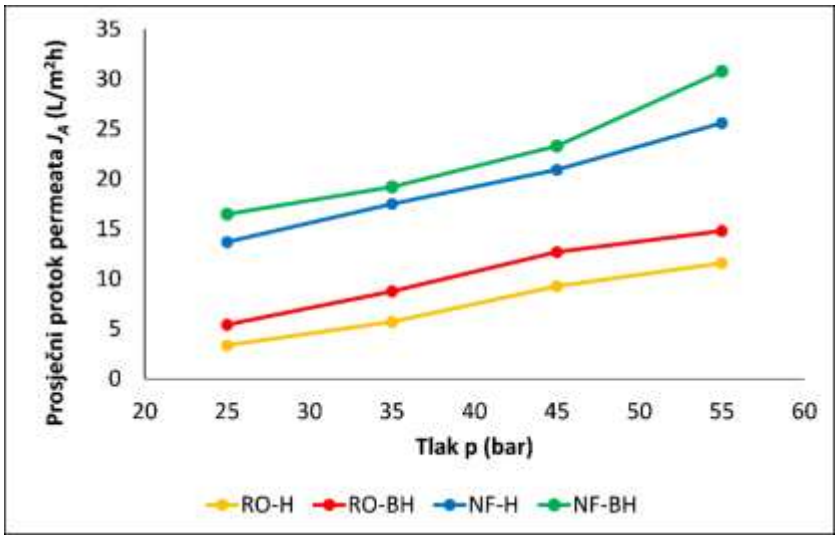
Tablica 59 CIELab parametri boje početnog ekološkog Cabernet Sauvignon crnog vina i koncentrata dobivenih nanofiltracijom pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez primjene hlađenja

Uzorak	L*	a*	b*	°h	C*	ΔE*
EV	19,70 ± 0,01^{a}	2,15 ± 0,02^{b}	1,07 ± 0,01^{a}	33,54 ± 0,32^{b}	1,58 ± 0,03^{a}	-
1EN	20,28 ± 0,02^{b}	2,12 ± 0,03^{b}	1,05 ± 0,04^{a}	30,51 ± 0,28^{a}	2,34 ± 0,04^{b}	0,58 ± 0,01^{a}
2EN	20,29 ± 0,01^{b}	2,17 ± 0,01^{b}	1,03 ± 0,01^{a}	29,98 ± 0,22^{a}	2,29 ± 0,02^{b}	0,59 ± 0,02^{a}
3EN	20,31 ± 0,01^{b}	2,14 ± 0,02^{b}	1,06 ± 0,04^{a}	30,31 ± 0,39^{a}	2,56 ± 0,02^{c}	0,61 ± 0,02^{ab}
4EN	20,33 ± 0,02^{b}	2,13 ± 0,01^{b}	1,07 ± 0,06^{a}	29,92 ± 0,22^{a}	2,56 ± 0,01^{c}	0,63 ± 0,02^{b}
5EN	20,29 ± 0,01^{b}	1,93 ± 0,03^{a}	1,05 ± 0,02^{a}	30,06 ± 0,32^{a}	2,27 ± 0,03^{b}	0,63 ± 0,03^{b}
6EN	20,32 ± 0,05^{b}	1,97 ± 0,02^{a}	1,04 ± 0,01^{a}	30,47 ± 0,33^{a}	2,27 ± 0,03^{b}	0,65 ± 0,03^{b}
7EN	20,31 ± 0,01^{b}	1,94 ± 0,03^{a}	1,07 ± 0,01^{a}	30,30 ± 0,32^{a}	2,51 ± 0,04^{c}	0,65 ± 0,02^{b}
8EN	20,32 ± 0,01^{b}	1,96 ± 0,03^{a}	1,05 ± 0,01^{a}	30,45 ± 0,39^{a}	2,55 ± 0,02^{c}	0,65 ± 0,02^{b}

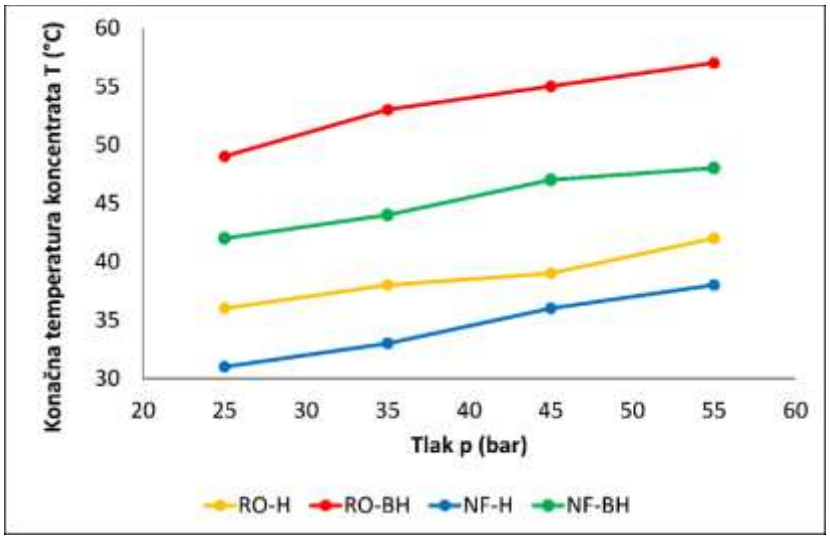
Vrijednosti u istom stupcu s različitim eksponentima (a-c) su statistički značajno različite ($P < 0,05$, ANOVA, Fisher-ov LSD test). Oznake: EV – početno ekološko vino; EN – koncentrat ekološkog vina dobiven nanofiltracijom; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja.

4.3. USPOREDBA PROCESA REVERZNE OSMOZE I NANOFILTRACIJE

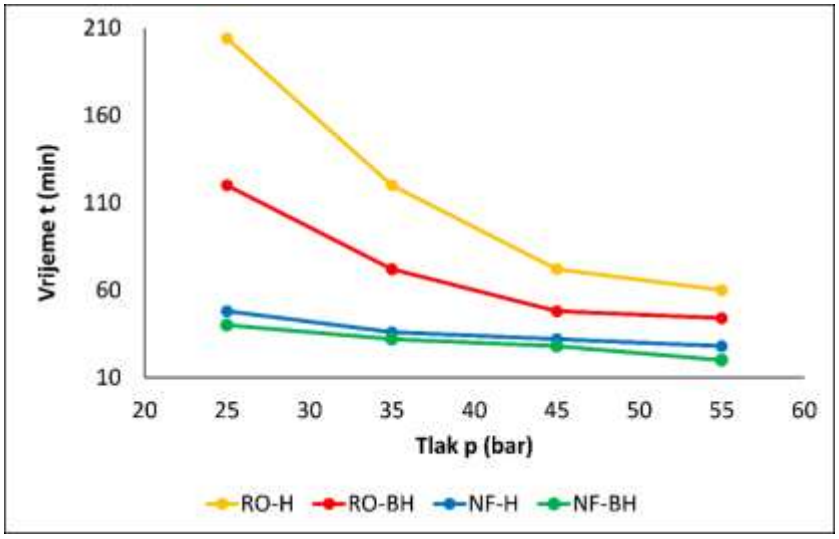
4.3.1. Usporedba procesnih parametara



Slika 42 Prosječni protok permeata J_A (L/m^{2}h) tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom (RO) i nanofiltracijom (NF) pri 25, 35, 45 i 55 bara s hlađenjem (H) i bez hlađenja (BH)

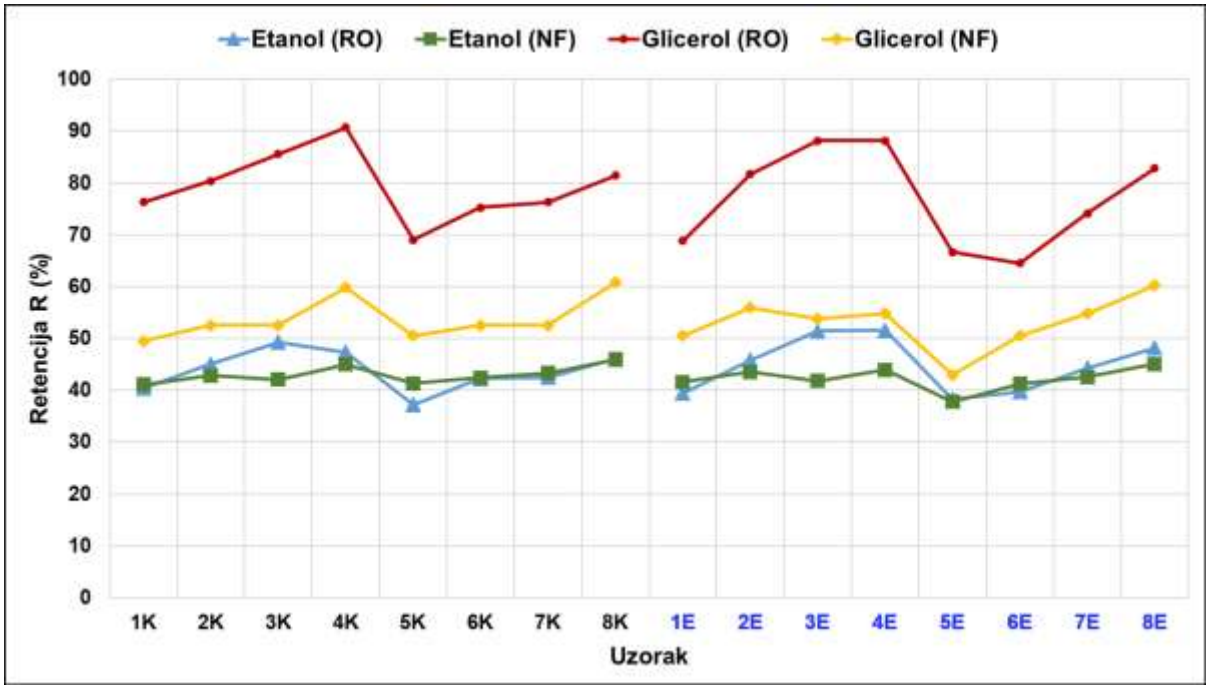


Slika 43 Konačna temperatura koncentrata nakon koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom (RO) i nanofiltracijom (NF) pri 25, 35, 45 i 55 bara s hlađenjem (H) i bez hlađenja (BH)

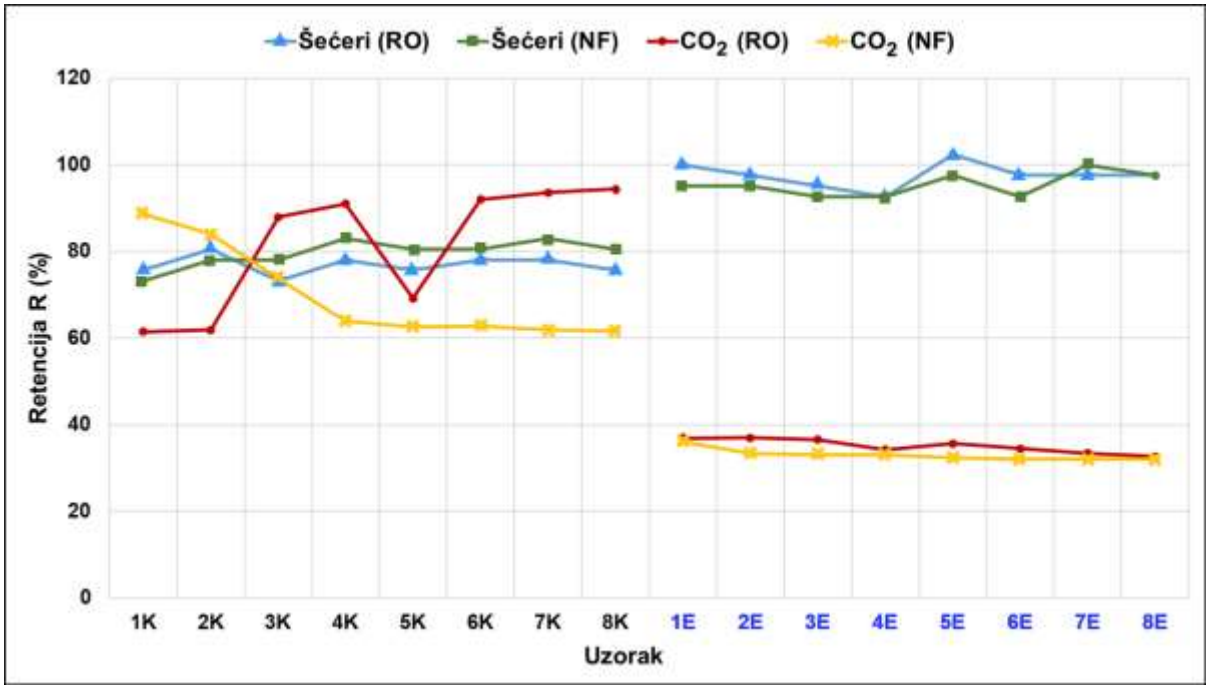


Slika 44 Vrijeme trajanja procesa koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom (RO) i nanofiltracijom (NF) pri 25, 35, 45 i 55 bara s hlađenjem (H) i bez hlađenja (BH)

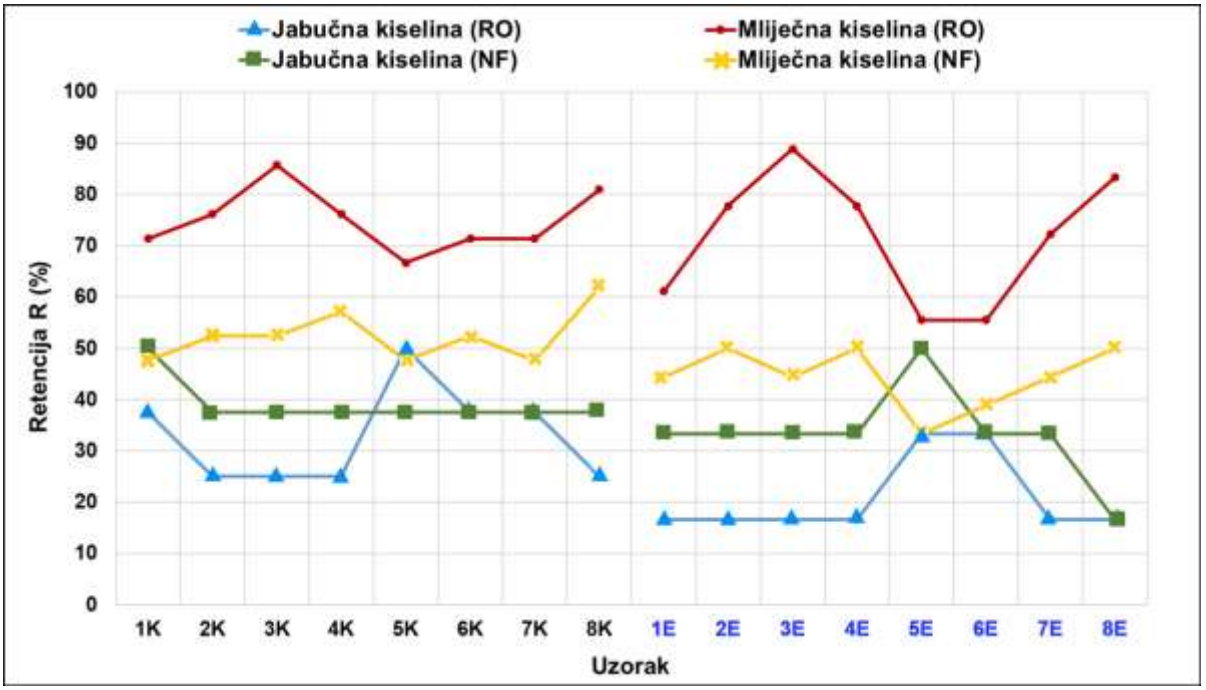
4.3.2. Usporedba kemijskog sastava, sadržaja kiselina i elemenata u tragovima u koncentratima vina



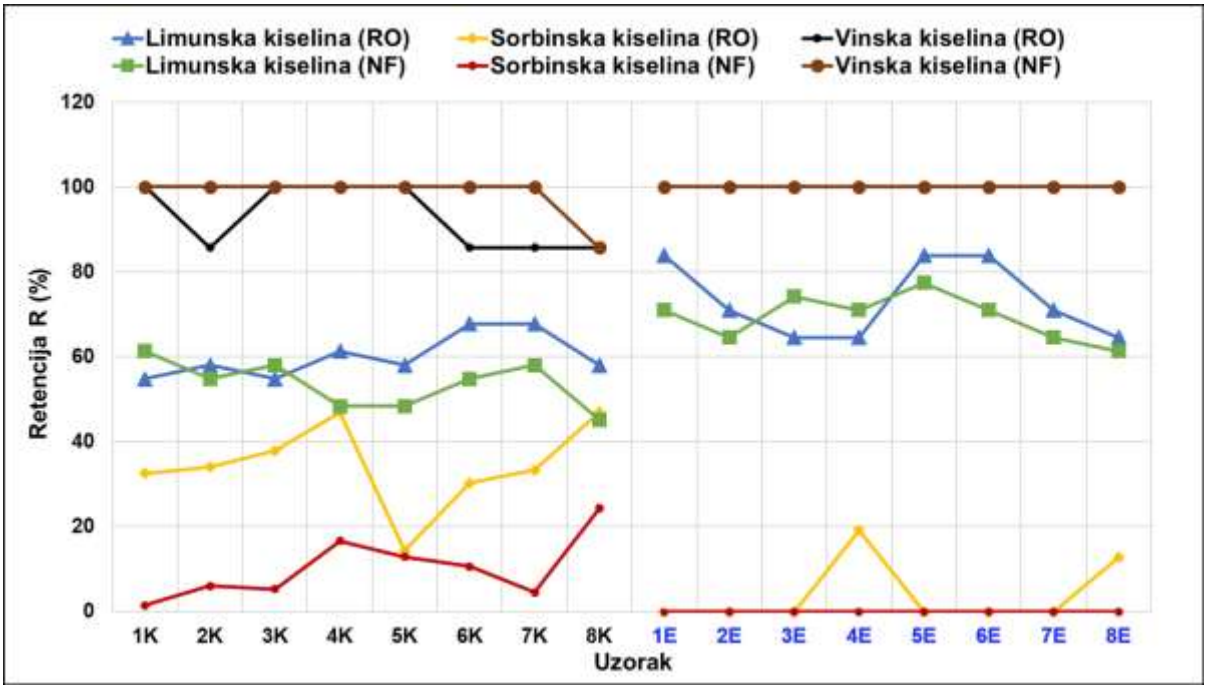
Slika 45 Usporedba zadržavanja etanola i glicerola tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom (RO) i nanofiltracijom (NF) pri različitim procesnim parametrima. Oznake: K – koncentrat konvencionalnog vina; E – koncentrat ekološkog vina; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja



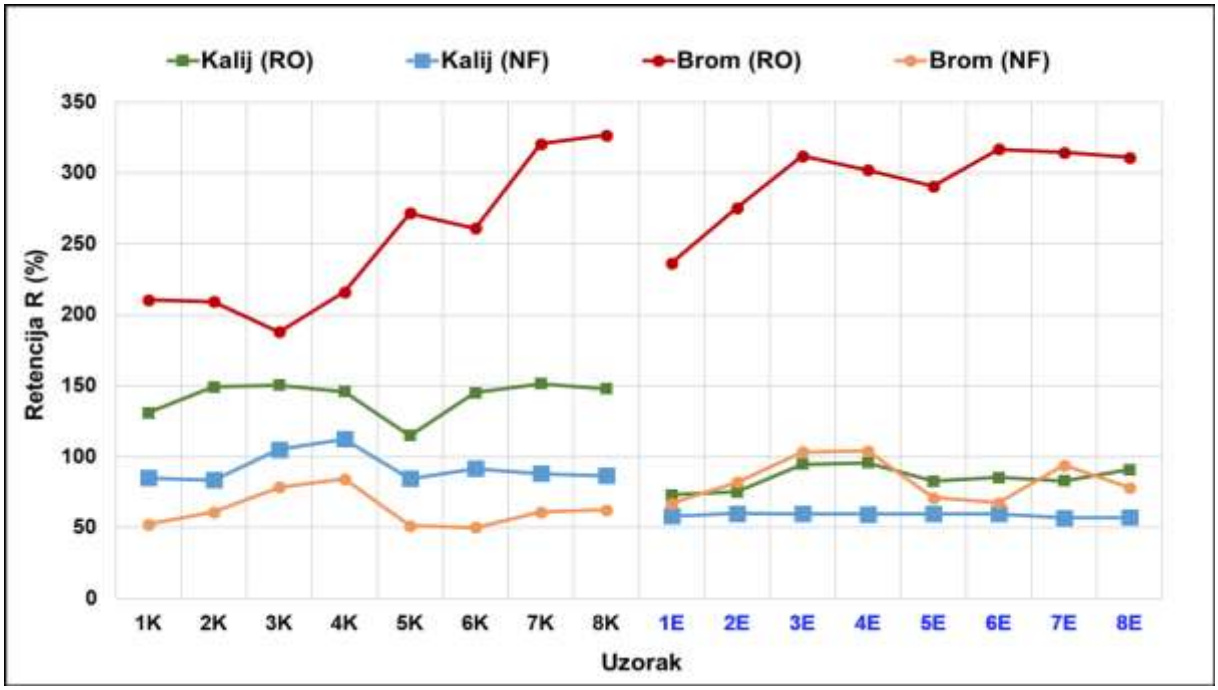
Slika 46 Usporedba zadržavanja šećera i CO_2 tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom (RO) i nanofiltracijom (NF) pri različitim procesnim parametrima. Oznake: K – koncentrat konvencionalnog vina; E – koncentrat ekološkog vina; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja



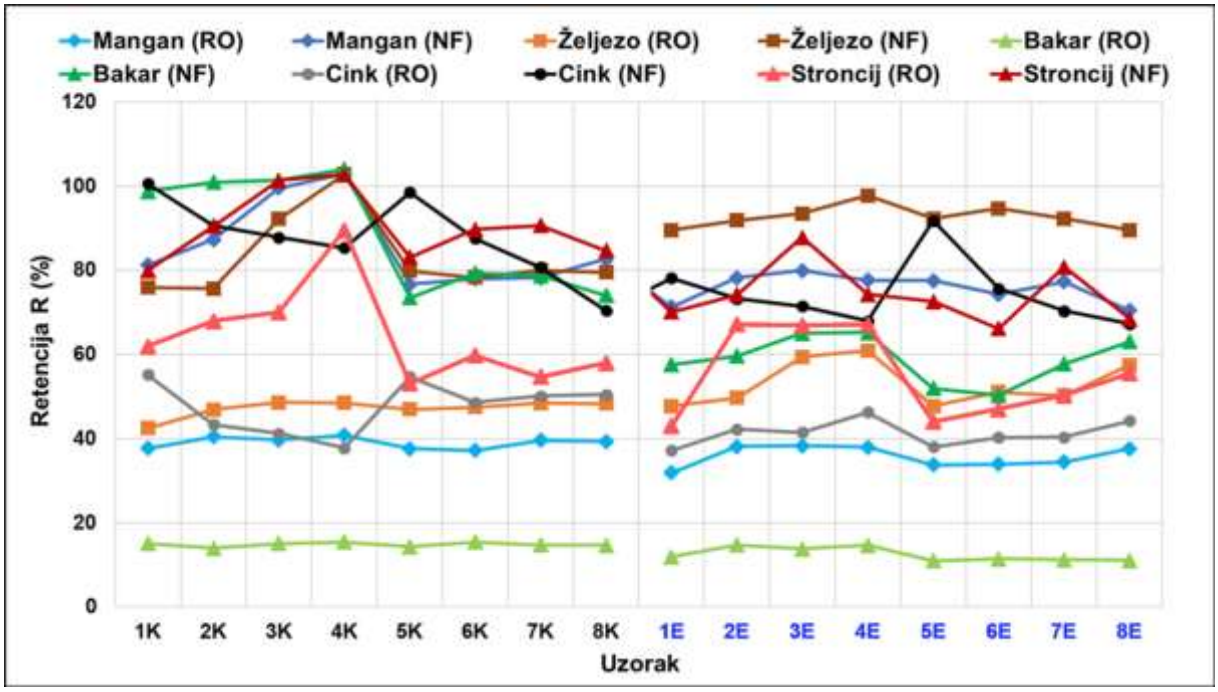
Slika 47 Usporedba zadržavanja jabučne i mliječne kiseline tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom (RO) i nanofiltracijom (NF) pri različitim procesnim parametrima. Oznake: K – koncentrat konvencionalnog vina; E – koncentrat ekološkog vina; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja



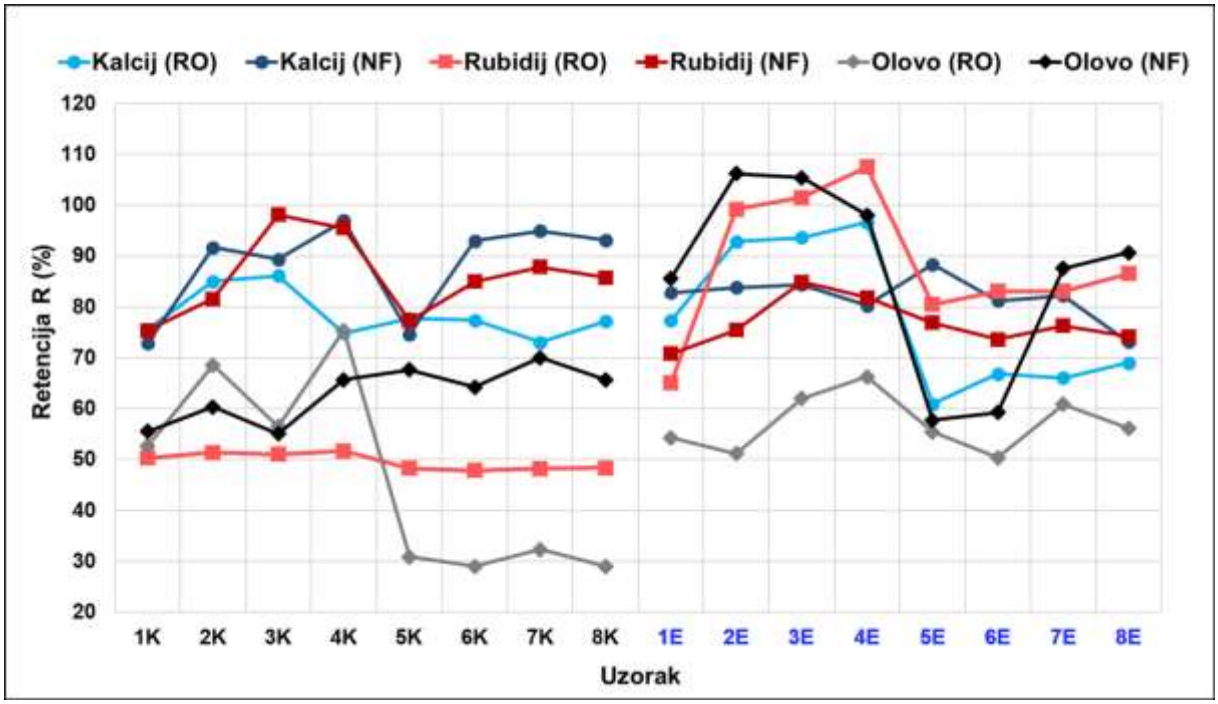
Slika 48 Usporedba zadržavanja limunske, sorbinske i vinske kiseline tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom (RO) i nanofiltracijom (NF) pri različitim procesnim parametrima. Oznake: K – koncentrat konvencionalnog vina; E – koncentrat ekološkog vina; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja



Slika 49 Usporedba zadržavanja kalija i broma tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom (RO) i nanofiltracijom (NF) pri različitim procesnim parametrima. Oznake: K – koncentrat konvencionalnog vina; E – koncentrat ekološkog vina; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja

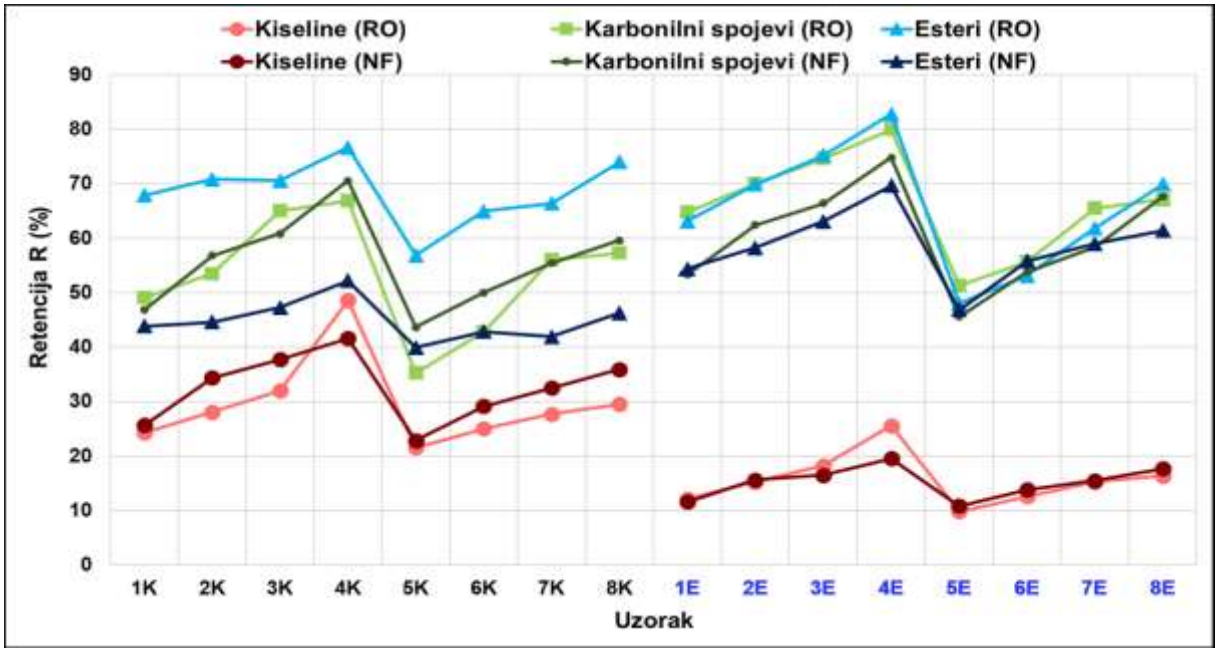


Slika 50 Usporedba zadržavanja mangana, željeza, bakra, cinka i stroncija tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom (RO) i nanofiltracijom (NF) pri različitim procesnim parametrima. Oznake: K – koncentrat konvencionalnog vina; E – koncentrat ekološkog vina; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja

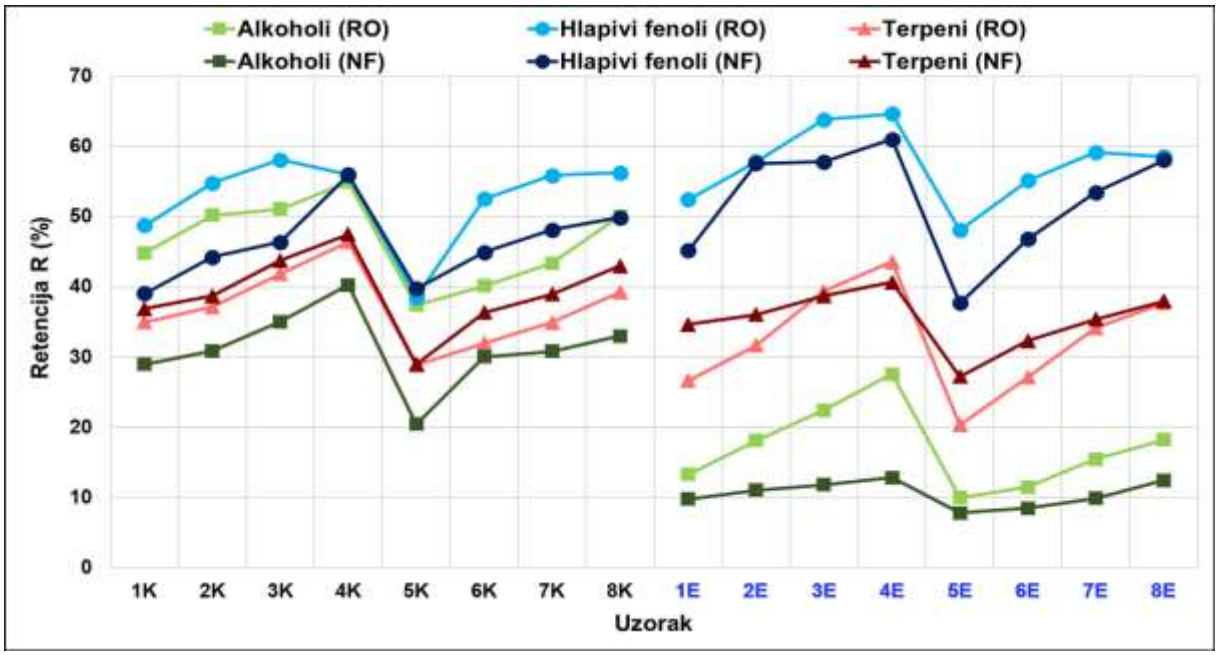


Slika 51 Usporedba zadržavanja kalcija, rubidija i olova tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom (RO) i nanofiltracijom (NF) pri različitim procesnim parametrima. Oznake: K – koncentrat konvencionalnog vina; E – koncentrat ekološkog vina; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja

4.3.3. Usporedba aromatskog profila koncentrata vina

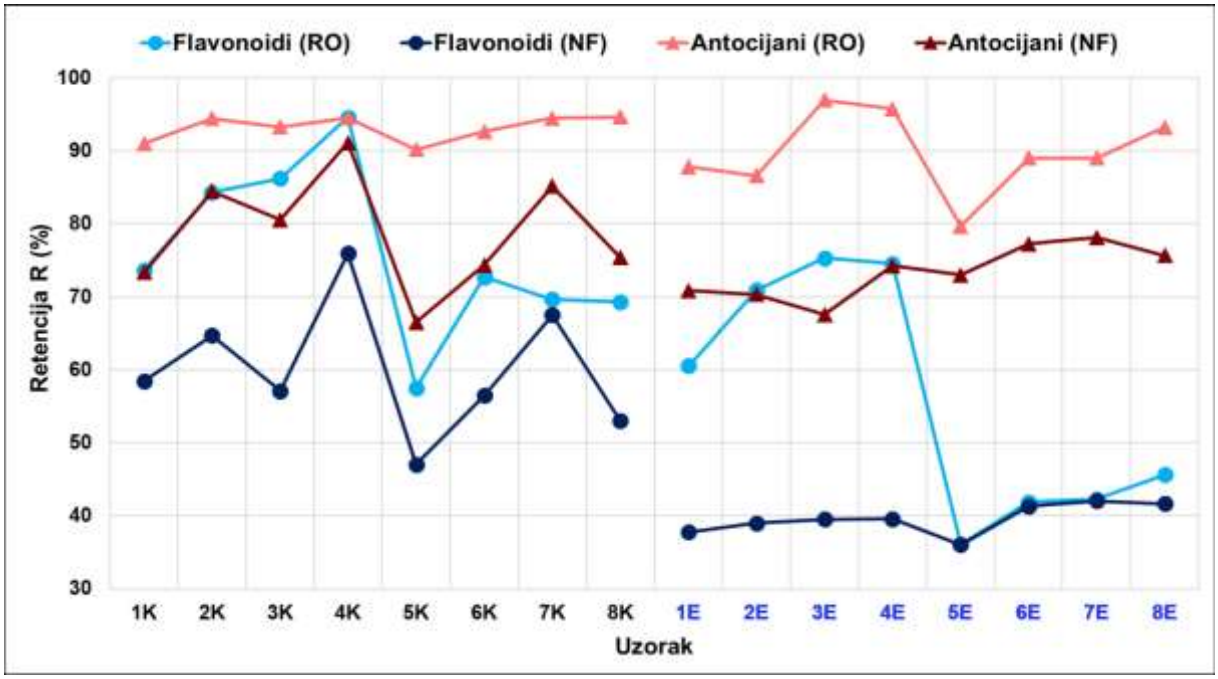


Slika 52 Usporedba zadržavanja ukupnih kiselina, karbonilnih spojeva i estera tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom (RO) i nanofiltracijom (NF) pri različitim procesnim parametrima. Oznake: K – koncentrat konvencionalnog vina; E – koncentrat ekološkog vina; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja

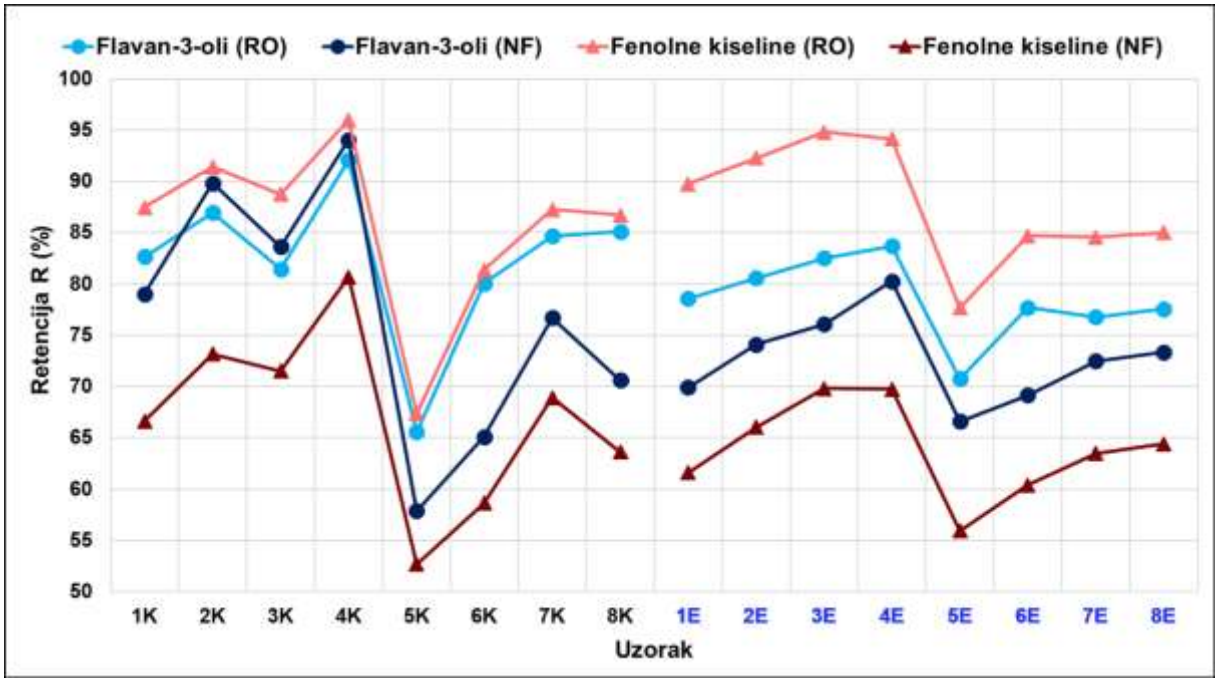


Slika 53 Usporedba zadržavanja ukupnih alkohola, terpena i hlapivih fenola tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom (RO) i nanofiltracijom (NF) pri različitim procesnim parametrima. Oznake: K – koncentrat konvencionalnog vina; E – koncentrat ekološkog vina; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja

4.3.4. Usporedba fenolnog profila koncentrata vina



Slika 54 Usporedba zadržavanja fenolnih skupina (flavonoida i antocijana) tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom (RO) i nanofiltracijom (NF) pri različitim procesnim parametrima. Oznake: K – koncentrat konvencionalnog vina; E – koncentrat ekološkog vina; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja



Slika 55 Usporedba zadržavanja fenolnih skupina (flavan-3-ola i fenolnih kiselina) tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom (RO) i nanofiltracijom (NF) pri različitim procesnim parametrima. Oznake: K – koncentrat konvencionalnog vina; E – koncentrat ekološkog vina; 1 – 25 bara s hlađenjem; 2 – 35 bara s hlađenjem; 3 – 45 bara s hlađenjem; 4 – 55 bara s hlađenjem; 5 – 25 bara bez hlađenja; 6 – 35 bara bez hlađenja; 7 – 45 bara bez hlađenja; 8 – 55 bara bez hlađenja

5. RASPRAVA

5.1. REVERZNA OSMOZA

5.1.1. Procesni parametri tijekom koncentriranja crnog vina

Utjecaj procesnih parametara (tlaka i temperature) na protok permeata, temperaturu retentata i začepljenje membrane tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom prikazan je u **Tablicama 7-15** te na **Slici 36**. Koncentriranje je provedeno pri 25, 35, 45 i 55 bara i dva temperaturna režima (s i bez hlađenja), a iste vrijednosti protoka permeata, temperature retentata i vremena trajanja procesa dobivene su tijekom koncentriranja oba vina reverznom osmozom.

Iz rezultata je vidljivo da je nakon svakog procesa reverzne osmoze dobiveno 1,7 L permeata (56,67% od ukupnih 3 L početnog vina), odnosno 1,3 L koncentrata. Na početku svakog procesa koncentriranja, temperatura vina bila je 15 °C, a rasla je tijekom reverzne osmoze ovisno o primijenjenom tlaku i temperaturnom režimu. Što je primijenjen viši radni tlak, to je bila viša konačna temperatura retentata, posebice ako hlađenje nije primijenjeno. Stoga, najviša konačna temperatura retentata postignuta je prilikom koncentriranja vina pri 55 bara bez hlađenja (57 °C). Niži tlakovi i hlađenje retentata rezultirali su nižom konačnom temperaturom retentata (36 °C pri 25 bara uz hlađenje). Procesi koncentriranja crnog vina reverznom osmozom uz hlađenje rezultirali su 13 do 16 °C nižim konačnim temperaturama retentata nego procesi bez hlađenja pri istim primijenjenim tlakovima. Povišenje radnog tlaka i temperature retentata rezultira i većim protokom permeata. Prijašnje istraživanje je pokazalo da tome pridonosi i manja viskoznost otopina pri višim temperaturama (Siddiqui i sur., 2016). Stoga, najveći protok permeata izmjeren je pri 55 bara bez hlađenja (od početnih 15,57 do 12,25 L/m^{2}h), a najmanji pri 25 bara uz hlađenje (od početnih 5,19 do 2,88 L/m^{2}h). Što je viši radni tlak, veći je i protok permeata. Ta pojava rezultat je interakcija između vode i hidrofilnih dijelova membrane što povećava protok vode kroz membranu više nego protok ostalih komponenti u retentatu (Jullok i Chie Hang, 2020). Gurak i sur. (2010) dobili su slične zaključke koristeći LabUnit M20 sustav za reverznu osmozu za koncentriranje soka od grožđa. Ustanovili su da povišenje radnog tlaka od 40 do 60 bara i temperature od 20 do 40 °C znatno povećava protok permeata.

U ovom radu, na kraju svakog procesa dobiven je volumni odnos retentata koji je iznosio 2,31. Budući da je pri nižim tlakovima i temperaturama protok permeata bio manji u odnosu na onaj ostvaren pri suprotnim procesnim parametrima, za postizanje ciljanog volumnog odnosa retentata je u tim slučajevima trebalo više vremena. Proces koncentriranja reverznom osmozom pri 25 bara uz hlađenje je trajao najduže (204 minute), dok je proces pri 55 bara bez hlađenja trajao najkraće (44 minute). Volumni odnos retentata tijekom koncentriranja raste kako se smanjuje volumen retentata. Što je manji volumen retentata, to je veća vrijednost

volumnog odnosa retentata, ali to je popraćeno smanjenjem protoka permeata. Smanjenje protoka permeata tijekom koncentriranja reverznom osmozom glavni je nedostatak ovog procesa, a rezultat je začepljenja membrane, povišenja osmotskog tlaka na površini membrane zbog zadržavanje malih molekula te polarizacije koncentracije (Ivić i sur., 2021a; Kim i Hoek, 2005; Peña i sur., 2013). Polifenoli, polisaharidi i proteini koji se zadržavaju u retentatu, mogu na površini membrane stvoriti sloj koji se naziva „pseudo membrana“, čime pospješuju zadržavanje ostalih komponenti, ali i smanjuju protok permeata (Salgado i sur., 2013). Kako bi se osigurao stalan protok permeata, potrebno je povisiti radni tlak, jer će u suprotnom doći do smanjenja protoka permeata (Koo i sur., 2012). Slične zaključke vezane za smanjenje protoka permeata kod reverzne osmoze dobiveni su i tijekom koncentriranja soka od aronije (Pozderovic i sur., 2016), soka od grožđa (Gurak i sur., 2010) te piva (Catarino i sur., 2007).

Začepljenje membrane rezultat je zatvaranja pora membrane malim molekulama ili stvaranja kolača na površini membrane (El Rayess i sur., 2012). U ovom istraživanju, u svrhu određivanja indeksa začepljenja membrana za reverznu osmozu tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog vina, izmjeren je protok čiste vode prije i nakon svakog procesa koncentriranja, a prosječne vrijednosti dobivene pri 25, 35, 45 i 55 bara na 25 °C prikazane su na **Slici 36**. Vidljivo je da je nakon koncentriranja protok čiste vode bio znatno manji u odnosu na onaj prije koncentriranja. Na osnovu toga izračunat je indeks začepljenja membrane pri 25, 35, 45 i 55 bara, koji je iznosio od 54,68% (pri 25 bara) do 56,61% (pri 55 bara). Osim o procesnim parametrima, začepljenje membrane ovisi o kemijskom sastavu uzorka koji se koncentrira, nakupljanju organskih molekula, soli i koloida na površini membrane (El Rayess i sur., 2012; Koo i sur., 2012) te adsorpciji pojedinih molekula na membranu. Adsorpcija molekula na membranu rezultat je hidrofobnih veza između njih (Arboleda Mejia i sur., 2020). Svaka molekula doprinosi začepljenju membrane, ovisno o kemijskoj strukturi molekule, njenoj molekulskoj masi i polarnosti (Cai i sur., 2017). Povećanje adsorpcije i hidrofobnih interakcija između membrane i molekula uzrokuje smanjenjem protoka permeata (Arsuaga i sur., 2010). S druge strane, začepljenje membrane na početku procesa je poželjno, budući da rezultira većim zadržavanjem bioaktivnih i drugih komponenti u vinu, ali s vremenom, protok permeata će se značajno smanjiti što usporava proces, povećava troškove procesa, oštećuje membranu, a može doći i do zaustavljanja procesa koncentriranja (Koo i sur., 2012). U tim slučajevima potrebno je čišćenje membrane ili zamjena membrane. U novije vrijeme, istraživanja se temelje na pronalasku i proizvodnji membrana čije je začepljenje svedeno na minimum kako bi se povećao procesni kapacitet, a smanjili troškovi procesa (Falath i sur., 2017; Jiang i sur., 2017; Piekutin, 2021; Stover, 2016).

5.1.2. Utjecaj procesnih parametara na kemijski sastav, sadržaj kiselina i elemenata u tragovima

Kemijski sastav, sadržaj kiselina i elemenata u tragovima u početnom konvencionalnom i ekološkom crnom vinu Cabernet Sauvignon te njihovim koncentratima dobivenim reverznom osmozom pri 25, 35, 45 i 55 bara, s i bez hlađenja, prikazan je u **Tablicama 16-21**. Iz **Tablica 16** i **17** vidljivo je da se početni udio etanola u konvencionalnom (13,74 vol.%) i ekološkom (13,53 vol.%) crnom vinu Cabernet Sauvignon nakon koncentriranja reverznom osmozom pri različitim tlakovima i temperaturnim režimima smanjio za više od 50%. Najmanje zadržavanje etanola zabilježeno je nakon koncentriranja oba vina reverznom osmozom pri 25 bara bez hlađenja te su udjeli u tim koncentratima bili 5,12 vol.% (konvencionalno vino) i 5,18 vol.% (ekološko vino). Povišenje radnog tlaka i hlađenje retentata rezultiralo je nešto većim zadržavanjem etanola u koncentratu, nego suprotni procesni parametri. Najveće udjele etanola među koncentratima konvencionalnog vina izmjerene su u koncentratu dobivenom pri 45 (6,77 vol.%) i 55 bara (6,51 vol.%) s hlađenjem. Udio etanola u koncentratima ekološkog vina pri istim procesnim parametrima iznosio je 6,96 i 6,98vol.%.

Prolazak etanola kroz membrane za reverznu osmozu uvjetovan je, pored procesnih parametara, i karakteristikama membrane, posebice veličinom pora i najmanjom molekulskom masom koju membrana zadržava (MWCO). Membrane za reverznu osmozu najčešće imaju vrijednost MWCO do 200 Da (Ivić i sur., 2021b), što znači da zadržavaju molekule čija je molekulska masa veća od 200 g/mol. Crno vino sadrži molekule manje molekulske mase od navedene (npr. voda, etanol, octena, mliječna, vinska kiselina i neki spojevi arome) i te molekule mogu proći kroz membranu. Međutim, u određenim uvjetima i te molekule mogu biti zadržane na membrani, što ovisi o kemijskim karakteristikama same molekule (strukturi, hidrofobnosti i polarnosti) te gustoći i polarnosti membrane, začepljenju membrane, interakcijama između membrane i molekula te interakcijama između tih molekula i ostalih sastojaka vina (Gurak i sur., 2010). Stvaranje kolača na membrani i njeno začepljenje rezultiraju smanjenjem propusnosti i zadržavanjem etanola u koncentratu. Međutim, budući da je udio etanola smanjen za više od 50%, reverzna osmoza se može koristiti za djelomičnu dealkoholizaciju vina ili za korekciju udjela etanola u vinu (Catarino i Mendes, 2011; Gil i sur., 2013; Ivić i sur., 2021b; Zamora, 2016).

Najveće zadržavanje glicerola među koncentratima konvencionalnog vina zabilježeno je u onome dobivenom pri 55 bara s hlađenjem (90,7% od početne koncentracije od 9,7 g/L). Tijekom koncentriranja ekološkog vina, najveće zadržavanje glicerola postignuto je pri 45 i 55 bara s hlađenjem (88,2% od početne koncentracije od 9,3 g/L). Temperaturni režim bez hlađenja i niži radni tlakovi tijekom koncentriranja oba vina reverznom osmozom rezultirali su većim gubitkom glicerola u koncentratima. Najveći gubitak glicerola zabilježen je nakon

koncentriranja konvencionalnog vina pri 25 bara bez hlađenja (koncentracija je bila 6,7 g/L) te nakon koncentriranja ekološkog vina pri 25 i 35 bara bez hlađenja (koncentracije su bile redom 6,2 i 6,0 g/L).

Gustoća konvencionalnog i ekološkog vina iznosila je 0,9946 g/L, a nakon koncentriranja reverznom osmozom pri različitim procesnim parametrima došlo je do blagog povećanja gustoće. Utjecaj procesnih parametara na povećanje gustoće bio je gotovo zanemariv, s tim da su najveće vrijednost izmjerene u koncentratima oba vina dobivenim pri 25 bara s i bez hlađenja. Gustoća koncentrata konvencionalnog vina iznosila je od 1,0033 do 1,0042 g/L, a gustoća koncentrata ekološkog vina od 1,0026 do 1,0037 g/L.

Koncentracija slobodnog SO_2 se nije značajno promijenila nakon koncentriranja konvencionalnog vina pri 25, 35 i 45 bara s hlađenjem te nakon koncentriranja ekološkog vina pri 25 bara s hlađenjem, a u svim spomenutim uzorcima iznosila je 12,80 mg/L). Pri višim tlakovima tijekom koncentriranja oba vina zabilježeno je smanjenje koncentracije slobodnog SO_2, u odnosu na početnu koncentraciju, bez značajne razlike između udjela u koncentratima ekološkog i konvencionalnog vina dobivenim pri 35, 45 i 55 bara bez hlađenja. S druge strane, koncentracija ukupnog SO_2 je bila viša ukoliko su se primjenjivali viši tlakovi i hlađenje retentata tijekom koncentriranja oba vina reverznom osmozom. Oba vina sadržavala su 43,52 mg/L ukupnog SO_2. U koncentratima konvencionalnog vina dobivenim reverznom osmozom pri 45 i 55 bara s hlađenjem i 55 bara bez hlađenja, zadržavanje ukupnog SO_2 je bilo 100%. U koncentratima ekološkog vina dobivenim reverznom osmozom pri 35, 45 i 55 bara s hlađenjem, koncentracija ukupnog SO_2 bila je nešto viša (44,80 mg/L) u odnosu na početnu koncentraciju. U ostalim koncentratima, zabilježen je određeni gubitak ukupnog SO_2.

Početna koncentracija reducirajućih šećera u oba vina bila je 4,1 g/L i nije se značajno promijenila nakon koncentriranja ekološkog vina reverznom osmozom. Međutim, tijekom koncentriranja konvencionalnog vina reverznom osmozom, zabilježen je gubitak reducirajućih šećera (koncentracije u koncentratima konvencionalnog vina iznosile su od 3,0 do 3,3 g/L). Utjecaj različitih procesnih parametara na zadržavanje šećera tijekom koncentriranja crnog vina reverznom osmozom je zanemariv. Membrane za reverznu osmozu ne propuštaju reducirajuće šećere (Pati i sur., 2014), a smanjenje šećera u koncentratima konvencionalnog vina može se objasniti zadržavanjem šećera na membrani. Šećeri, zajedno s hidrokoloidima i drugim većim molekulama, stvaraju sloj na površini membrane koji uzrokuje njeno začepljenje i otežava protok permeata. Debljina tog sloja i začepljenje membrane, između ostalog, ovisi i o turbulentnom strujanju retentata te interakcijama tih molekula s membranom i s ostalim sastojcima uzorka koji se filtrira (Hinková i sur., 2000; Madaeni i sur., 2009).

Različiti procesni parametri tijekom procesa reverzne osmoze imali su značajan utjecaj na zadržavanje CO_2. U koncentratima ekološkog vina, povišenjem tlaka i temperature smanjilo se zadržavanje CO_2, dok su takvi procesni parametri tijekom koncentriranja konvencionalnog vina rezultirali većim zadržavanjem CO_2. Početna koncentracija CO_2 u konvencionalnom (232,61 g/L) i ekološkom (444,64 g/L) vinu nakon koncentriranja reverznom osmozom snizila se za 5,6 do 38,5% u koncentratima konvencionalnog vina, odnosno 62,9 do 67,3% u koncentratima ekološkog vina, ovisno o primijenjenim procesnim parametrima.

Rezultati u **Tablicama 18** i **19** pokazuju da se početna koncentracija ukupnih kiselina u konvencionalnom (4,9 g/L) i ekološkom (5,1 g/L) vinu snizila nakon koncentriranja reverznom osmozom. Najveće zadržavanje ukupnih kiselina tijekom koncentriranja oba vina zabilježeno je pri 35, 45 i 55 bara s hlađenjem i 55 bara bez hlađenja (oko 85%). Koncentracija hlapivih kiselina u oba početna vina iznosila je 0,9 g/L, a nakon koncentriranja reverznom osmozom snizila se na 0,4 – 0,5 g/L, bez značajne razlike između koncentrata dobivenih pri različitim procesnim parametrima. Sličan trend primijećen je i kod jabučne kiseline, gdje se početna koncentracija od 0,8 g/L u konvencionalnom vinu i 0,6 g/L u ekološkom vinu nakon koncentriranja reverznom osmozom snizila za oko 65%, bez značajnog utjecaja radnog tlaka i temperature na njeno zadržavanje. Tlak i temperatura, također, nisu imali značajan utjecaj na zadržavanje limunske kiseline tijekom koncentriranja reverznom osmozom, ali se njena početna koncentracija (u konvencionalnom 0,29 g/L, a ekološkom vinu 0,31 g/L) snizila za oko 35% u koncentratima konvencionalnog vina i 26% u koncentratima ekološkog vina.

Koncentracija sorbinske kiseline u početnom konvencionalnom vinu je bila 132,0 mg/L i snizila se za 53,0 – 85,6%, ovisno o primijenjenom radnom tlaku i temperaturi. Najveće zadržavanje zabilježeno je u koncentratima konvencionalnog vina dobivenim pri 55 bara s i bez hlađenja, a najmanje pri 25 bara bez hlađenja. Tijekom koncentriranja ekološkog vina koje je sadržavalo 47,0 mg/L sorbinske kiseline, došlo je do potpunog gubitka sorbinske kiseline te ona nije detektirana u koncentratima, izuzev u koncentratima ekološkog vina dobivenim pri 55 bara s hlađenjem (9,0 mg/L) i bez hlađenja (6,0 mg/L).

Tijekom koncentriranja konvencionalnog vina reverznom osmozom, različiti procesni parametri nisu imali značajan utjecaj ni na zadržavanje mliječne kiseline. Međutim, tijekom koncentriranja ekološkog vina, veće zadržavanje mliječne kiseline zabilježeno je pri 35, 45 i 55 bara s hlađenjem te 45 i 55 bara bez hlađenja (zadržano oko 83% početne koncentracije od 1,8 g/L) bez značajne razlike među navedenim uzorcima, a u odnosu na ostale primijenjene procesne parametre (zadržano 55,5% od početne koncentracije). Početna koncentracija vinske kiseline u oba vina iznosila je 0,7 g/L te se nije značajno promijenila nakon koncentriranja oba vina reverznom osmozom pri različitim procesnim parametrima.

Sve navedene kiseline imaju molekulsku masu manju od 200 g/mol i mogu proći kroz membrane za reverznu osmozu, ali njihovo zadržavanje ovisi o već spomenutim parametrima (strukturi molekule kiseline, njihovim interakcijama s membranom i drugim molekulama itd.). Postotak zadržavanje nije bio isti za sve kiseline niti pri svim procesnim parametrima. Massot i sur. (2008) navode kako permeat reverzne osmoze uglavnom uvijek sadrži, pored vode i etanola, i neke organske kiseline posebice octenu i mliječnu. Nadalje, koncentracija vinske kiseline ostala je nepromijenjena nakon reverzne osmoze. Prijašnja istraživanja pokazala su da se reverzna osmoza može koristiti i za stabilizaciju te kiseline i njenih soli, tartarata (Bogianchini i sur., 2011; Low i sur., 2008).

U početnom konvencionalnom vinu izmjerena pH vrijednost je bila 3,92, dok je u ekološkom bila 3,75. Nakon koncentriranja reverznom osmozom, pH vrijednost oba vina se smanjila, s tim da su najveće vrijednosti među koncentratima izmjerene u onima dobivenim pri 45 s hlađenjem i 55 bara bez hlađenja, bez značajne razlike među tim vrijednostima (3,78 u koncentratu konvencionalnog i 3,68 u koncentratu ekološkog vina).

Koncentracija elemenata u tragovima u vinima ovisi o nekoliko čimbenika: metodama uzgoja vinove loze, sastavu tla, klimatskim uvjetima, aditivima koji se koriste u vinogradu (neki sadrže bakar, mangan ili olovo) te metodama vinifikacije i naknadnim obradama vina (Tariba, 2011). **Tablice 20** i **21** prikazuju sadržaj elemenata u tragovima u početnom konvencionalnom i ekološkom crnom vinu te njihovim koncentratima dobivenim koncentriranjem reverznom osmozom pri različitim procesnim parametrima. Među 10 identificiranih elemenata, najvišu koncentraciju imali su kalij i kalcij (597,7 i 55,7 mg/L u početnom konvencionalnom te 748,7 i 50,7 mg/L u ekološkom vinu). Ostali elementi su imali koncentracije niže od 2 mg/L. Rezultati su pokazali da se koncentracija elemenata u tragovima snizila nakon koncentriranja oba vina reverznom osmozom. Izuzetak je brom u koncentratima oba vina te kalij u koncentratima konvencionalnog vina, čija se koncentracija povisila nakon reverzne osmoze, uspoređujući s početnom koncentracijom.

U koncentratima ekološkog vina, najveća zadržavanja postignuta su uglavnom pri višim tlakovima (45 i 55 bara) s hlađenjem. Međutim, postoji par izuzetaka. Najveće zadržavanje cinka među koncentratima ekološkog vina zabilježeno je pri 55 bara s hlađenjem (46,3%), dok između ostalih koncentrata nije bilo značajne razlike u koncentraciji cinka (zadržavanje je bilo oko 40%). Zadržavanje kalcija, mangana, bakra i stroncija je bilo najveće pri 35, 45 i 55 bara s hlađenjem (oko 96, 38, 15 i 67%). Temperaturni režim bez hlađenja rezultirao je manjim zadržavanjem elemenata u koncentratima ekološkog vina, pri čemu je radni tlak ima vrlo mali ili nikakav utjecaj. Izuzetak je ponovno brom, čije je najveće zadržavanje zabilježeno pri 45 i 55 bara s hlađenjem te pri svim tlakovima tijekom temperaturnog režima bez hlađenja

(koncentracije u koncentratima su bile oko 3 puta veće od početne koncentracije od 24,9 µg/L u ekološkom vinu).

U koncentratima konvencionalnog vina, povišenje radnog tlaka kod oba temperaturna režima povoljno je utjecalo na zadržavanje kalija, mangana i željeza. Primjena tlaka od 55 bara uz hlađenje rezultiralo je najvećim zadržavanjem stroncija (89,5%) i olova (75,3%) u spomenutim koncentratima. Početna koncentracija broma u konvencionalnom vinu je bila 21,8 µg/L, dok su gotovo tri puta više koncentracije broma izmjerene u koncentratima konvencionalnog vina dobivenim pri 45 i 55 bara bez hlađenja. S druge strane, kada je hlađenje primijenjeno, promjena radnog tlaka nije imala značajan utjecaj na zadržavanje broma te je u svim koncentratima dobivenim uz hlađenje koncentracija broma oko 45 µg/L. Promjena tlaka nije imala utjecaj ni na zadržavanje rubidija tijekom koncentriranja konvencionalnog vina reverznom osmozom pri oba temperaturna režima, ali je hlađenje rezultiralo nešto većim zadržavanjem ovog elementa. Zadržavanje cinka je bilo manje ukoliko se povisio radni tlak, pa su tako najviše koncentracije cinka izmjerene u koncentratima konvencionalnog vina dobivenim pri 25 bara s i bez hlađenja (oko 55% od početne koncentracije od 1400,5 µg/L). Koncentracije kalcija i bakra su se nakon koncentriranja reverznom osmozom snizile za oko 21 i 85% početne koncentracije, s tim da različiti procesni parametri nisu imali značajan utjecaj na njihovo zadržavanje.

Zadržavanje pojedinih elemenata ovisi i o početnoj koncentraciji elementa, električnom naboju površine membrane te sastavu vina (Andries i sur., 2017; Cai i sur., 2020; Cséfalvay i sur., 2009). Prijašnja istraživanja pokazala su da zadržavanje elemenata ovisi i o tipu membrane i primijenjenim procesnim parametrima (Pino i sur., 2018) te o pH vina koje se koncentrira i električnom naboju membrane. Naboj membrane ovisi o pH vrijednosti okoline, a promjena pH vrijednosti direktno utječe na protok permeata i zadržavanje elemenata. Poliamidne membrane, kao i ove korištene za izradu ovog rada, najčešće imaju izoelektričnu točku pri pH 3,5 – 4,0, pri čemu se ostvaruje najveći mogući protok permeata te je povećano i propuštanje određenih spojeva (de Souza i sur., 2020). Ukoliko je pH viši od izoelektrične točke, na membrani se javlja negativni naboj čime se povećava zadržavanje iona (Kotrappanavar i sur., 2011). Budući da je pH konvencionalnog i ekološkog vina u intervalu izoelektrične točke primijenjenih membrana, može se pretpostaviti da je zadržavanje određenih elemenata iz toga razloga smanjeno.

5.1.3. Utjecaj procesnih parametara na aromatski profil

U početnom konvencionalnom i ekološkom crnom vinu Cabernet Sauvignon identificirano je 45 spojeva arome koji su prikazani u **Tablici 22**. Podijeljeni su u 6 skupina: kiseline, alkoholi, karbonilni spojevi, terpeni, esteri te hlapivi fenoli. Za svaki spoj napisana je i dominantna

aromatska nota kojom doprinose ukupnoj aromi vina. Oba vina, konvencionalno i ekološko, sadrže identične spojeve aroma, ali su njihove koncentracije različite što bitno utječe na ukupnu aromu vina. U **Tablicama 23** i **24** prikazane su koncentracije pojedinih spojeva arome u početnim vinima te njihovim koncentratima dobivenim koncentriranjem reverznom osmozom pri 25, 35, 45 i 55 bara s i bez hlađenja. Za svaku skupinu spojeva arome izračunata je i ukupna koncentracija u pojedinom uzorku.

Početno konvencionalno vino sadržavalo je 984,1 µg/L, a ekološko vino 1634,4 µg/L ukupnih kiselina. Među 6 identificiranih kiselina (octena, oktanska, dekanska, laurinska, miristinska i palmitinska kiselina), octena kiselina je imala najvišu koncentraciju, i to 394,1 µg/L u konvencionalnom te 1043 µg/L u ekološkom vinu. Nakon koncentriranja vina reverznom osmozom, octena kiselina nije detektirana u koncentratima, izuzev u onima dobivenim pri 55 bara uz hlađenje (103,7 µg/L u koncentratu konvencionalnog vina te 99,4 µg/L u koncentratu ekološkog vina). Octena kiselina ima malu molekulsku masu (60,05 g/mol) i tijekom koncentriranja vina reverznom osmozom prolazi kroz membranu zajedno s vodom i etanolom. Budući da je ona predstavnik hlapivih kiselina, njeno uklanjanje iz vina rezultiralo je i sniženom koncentracijom ukupnih hlapivih kiselina u koncentratima. Prekomjerne koncentracije octene kiseline u vinu nisu poželjne, budući da se tada javlja aroma po octu, što je indikator kvarenja vina. U tim slučajevima, reverzna osmoza se može koristiti kao jednostavna i brza metoda za uklanjanje ili korekciju udjela octene kiseline (Ivić i sur., 2021b; Jullok i Chie Hang, 2020; Zhou i sur., 2013). Zadržavanje, odnosno propusnost octene kiseline ovisi o primijenjenim procesnim parametrima, ali i o tipu membrane i pH uzorka koji se koncentrira: porastom pH vrijednosti, smanjuje se zadržavanje octene kiseline (Temido i sur., 2015; Zhou i sur., 2013b). Također, pH vrijednost vina se nalazi u intervalu izoelektrične točke membrane, što također povećava protok octene kiseline kroz membranu (de Souza i sur., 2020; Zhou i sur., 2013a).

Ostale navedene kiseline detektirane su u svim uzorcima. Nakon koncentriranja vina reverznom osmozom, početna koncentracija kiselina se snizila, a njihova koncentracija u koncentratima ovisila je o primijenjenim procesnim parametrima. Najveće zadržavanje ukupnih kiselina zabilježeno je pri 55 bara uz hlađenje (48,6% početne koncentracije u koncentratu konvencionalnog vina te 25,6% u koncentratu ekološkog vina). Pri nižim tlakovima, zadržavanje je bilo manje, kao i pri povišenim temperaturama (režim bez hlađenja), u odnosu na suprotne procesne parametre. Veliki gubitak ukupnih kiselina nakon koncentriranja reverznom osmozom rezultat je uklanjanja octene kiseline iz koncentrata. Međutim, zadržavanje ostalih kiselina je bilo znatno više, posebice zadržavanje laurinske kiseline pri 55 bara uz hlađenje (100,0% početne koncentracije u koncentratu konvencionalnog vina i 96,7% u koncentratu ekološkog vina). Zadržavanje pojedinih kiselina nije bilo jednako prilikom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog vina pri istim procesnim parametrima. Nešto veće

zadržavanje oktanske, laurinske, miristinske i palmitinske kiseline zabilježeno je prilikom koncentriranja konvencionalnog vina, u usporedbi s ekološkim vinom u kojem je bilo veće zadržavanje dekanske kiseline.

Viši alkoholi doprinose ukupnoj aromi vina ukoliko je njihova ukupna koncentracija manja od 300 mg/L. Međutim, ukoliko njihova ukupna koncentracija prelazi 400 mg/L, oni imaju suprotan učinak, odnosno negativno utječu na aromu vina (Yue i sur., 2014). Skupina viših alkohola imala je najvišu ukupnu koncentraciju u oba vina, uspoređujući svih 6 aromatskih skupina. U početnom konvencionalnom vinu ukupna koncentracija viših alkohola bila je 13,21 mg/L, a u ekološkom vinu 38,25 mg/L. Identificirano je 8 viših alkohola: izoamilni alkohol, butan-2,3-diol, heksan-1-ol, metionol, benzilni alkohol, oktan-1-ol, 2-feniletanol, dodekanol. Najviše početne koncentracije su imali izoamilni alkohol i 2-feniletanol (7,15 i 4,42 mg/L u konvencionalnom vinu te 31,79 i 4,93 mg/L u ekološkom vinu). Koncentracije ostalih alkohola je bila niža od 1 mg/L u oba početna vina. Nakon koncentriranja konvencionalnog i ekološkog vina reverznom osmozom, zabilježen je gubitak svih viših alkohola. Viši radni tlak i hlađenje retentata rezultirali su većim zadržavanje ukupnih alkohola, u odnosu na suprotne procesne parametre. Najviša ukupna koncentracija viših alkohola izmjerena je u koncentratima dobivenim pri 55 bara uz hlađenje (7,26 mg/L u koncentratu konvencionalnog vina te 10,55 mg/L u koncentratu ekološkog vina). Zadržavanje viših alkohola je bilo više tijekom koncentriranja konvencionalnog vina (54,9% početne koncentracije pri 55 bara uz hlađenje), nego kod ekološkog vina (27,6% početne koncentracije pri istim procesnim parametrima). Iako je je viši radni tlak (posebice 55 bara) i hlađenje retentata povoljno utjecalo na zadržavanje ukupnih alkohola, kod zadržavanje pojedinih alkohola postoje određeni izuzeci. Najveće zadržavanje metionola zabilježeno je pri 25 bara uz hlađenje, i to 68,8% u koncentratu konvencionalnog vina te 100,0% u koncentratu ekološkog vina. Povišenjem radnog tlaka, zadržavanje metionola se smanjilo, a u koncentratima oba vina dobivenim bez hlađenja metionol nije detektiran. Početna koncentracija oktan-1-ola se snizila nakon koncentriranja ekološkog vina reverznom osmozom, ali različiti procesni parametri nisu imali značajan utjecaj na njegovo zadržavanje. S druge strane, tijekom koncentriranja konvencionalnog vina, zadržavanje oktan-1-ola je bilo veće ukoliko se primijenio viši radni tlak i hlađenje retentata. Među koncentratima konvencionalnog vina koji su dobiveni reverznom osmozom bez hlađenja, promjena radnog tlaka nije imala značajan utjecaj na zadržavanje butan-2,3-diola, izuzev pri tlaku od 25 bara, gdje taj alkohol nije detektiran. Potpuno zadržavanje dodekanola (100,0%) zabilježeno je pri 45 i 55 bara s hlađenjem u koncentratima konvencionalnog vina te pri 55 bara uz hlađenje u koncentratima ekološkog vina.

Zadržavanje viših alkohola tijekom koncentriranja vina reverznom osmozom ovisi o procesnim parametrima, sastavu početnog vina, kemijskoj strukturi alkohola, njegovom tlaku pare,

hlapivosti i mogućnosti vezanja s drugim komponentama vina (Longo i sur., 2016). Zadržavanje pojedinih spojeva ovisi i o polarnosti ili hidrofobnosti spoja i membrane. Polarni dijelovi membrane povećavaju permeabilnost polarnih molekula, a nepolarni dijelovi će ju smanjiti, i obrnuto. Istraživanja su pokazala da je visoka permeabilnost heksan-1-ola bila rezultat njegovog hidrofobnog karaktera i privlačnosti prema nepolarnom dijelu poliamidne membrane (López-Muñoz i sur., 2009). To se podudara s rezultatima dobivenim u ovom radu, gdje se početna koncentracija heksan-1-ola snizila za više od 90% u koncentratima konvencionalnog i ekološkog vina.

Ukupna početna koncentracija karbonilnih spojeva (81,3 µg/L u konvencionalnom i 89,4 µg/L u ekološkom vinu) i terpena (194,4 µg/L u konvencionalnom i 210,9 µg/L u ekološkom vinu) se snizila nakon koncentriranja konvencionalnog i ekološkog vina reverznom osmozom. Zadržavanje ukupnih karbonilnih spojeva i terpena pratilo je dosada spomenuti trend: povišenje radnog tlaka i hlađenje retentata povećalo je zadržavanje navedenih spojeva, u usporedbi sa suprotnim procesnim parametrima. Stoga, najveće zadržavanje ukupnih karbonilnih spojeva (66,9% početne koncentracije u koncentratima konvencionalnog vina i 79,9% u koncentratima ekološkog vina) i terpena (46,4% početne koncentracije u koncentratima konvencionalnog vina i 43,6% u koncentratima ekološkog vina) zabilježeno je pri 55 bara uz hlađenje. Međutim, različiti procesni parametri nisu jednako utjecali na pojedine spojeve. Kada je vino koncentrirano bez hlađenja, promjena radnog tlaka nije značajno utjecala na zadržavanje 4-propilbenzaldehida u koncentratima oba vina te lili aldehida u koncentratima konvencionalnog vina. Najmanje zadržavanje β-citronelola zabilježeno je pri 25 bara s i bez hlađenja, i to 32,0% u koncentratima konvencionalnog vina i 42,4% u koncentratima ekološkog vina.

Esteri u vinu uglavnom nastaju tijekom fermentacije radom kvasaca. Doprinose voćnoj i cvjetnoj aromi vina (Boss i sur., 2015). Od 6 spomenutih skupina aromatskih spojeva, esteri su bili najbrojnija skupina u početnom konvencionalnom i ekološkom vinu, s 19 različitih spojeva. Ukupna koncentracija estera u početnom konvencionalnom vinu bila je 4,08 mg/L, a u početnom ekološkom vino 4,12 mg/L. Dietil-sukcinat je imao najveću koncentraciju u oba početna vina (oko 70% ukupne koncentracije estera). Ostali esteri su imali koncentracije niže od 500 µg/L, a najvišu koncentraciju među njima imao je etil-oktanoat (346,7 µg/L u početnom konvencionalnom i 367,8 µg/L u početnom ekološkom vinu). Ukupna koncentracija estera u koncentratima dobivenim nakon reverzne osmoze bila je niža od početne koncentracije pripadajućeg početnog vina, a zadržavanje estera ovisilo je o procesnim parametrima. Viši tlakovi i hlađenje retentata rezultiralo je višim koncentracijama ukupnih estera u koncentratima oba vina, u usporedbi s koncentratima dobivenim pri nižim tlakovima i bez hlađenja retentata. Najveće zadržavanje u među koncentratima konvencionalnog (76,7%) i ekološkog (82,8%)

vina zabilježeno je pri 55 bara s hlađenjem. Zadržavanje većine estera prati navedeni trend: viši tlakovi i niže temperature rezultirale su većim zadržavanjem, npr. zadržavanje fenetil-acetata, etil-laurata i diizobutil-ftalata pri 55 bara uz hlađenje bilo je 100,0% u koncentratu konvencionalnog vina. S druge strane, niži tlak (25 bara) i više temperature (bez hlađenja retentata) rezultiralo je gubitkom većine estera, npr. etil-heksanoat nije detektiran u koncentratima konvencionalnog i ekološkog vina dobivenim pri 25 bara bez hlađenja. S druge strane, zadržavanje pojedinih estera nije pratilo gore navedeni trend. Etil-oleat i etil-stearat nisu detektirani niti u jednom koncentratu (neovisno o tipu vina i primijenjenim procesnim parametrima). Etil-linoleat je detektiran samo u koncentratima oba vina dobivenim pri 35, 45 i 55 bara s hlađenjem, gdje su koncentracije bile znatno niže od početne. Zadržavanje etil-miristata i metil-palmitata u koncentratima oba vina je bilo veće ukoliko je primijenjen niži radni tlak (25 bara) i hlađenje, u odnosu na suprotne procesne parametre. Sličan trend primijećen je i za etil-4-hidroksibutanoat u koncentratima konvencionalnog vina, gdje je najniža koncentracija izmjerena u koncentratu dobivenim pri 55 bara s i bez hlađenja (oko 31,0%).

Uz različite procesne parametra (tlak i temperaturni režim), na zadržavanje pojedinih spojeva velik utjecaj ima i sastav početnog vina. Svaki spoj ima različit afinitet za stvaranje interakcija s drugim komponentama u vinu kako bi povećao svoju stabilnost. Takve interakcije se najčešće ostvaruju kroz vodikove veze, npr. spojevi arome se vodikovim vezama vežu za polifenolne spojeve u vinu, čime se povećava njihova stabilnost (Pittari i sur., 2021). Nadalje, istraživanja su pokazala da se, tijekom koncentriranja vina membranskim procesima i smanjenja udjela alkohola, koncentracija estera snižava, ponajviše zbog njihove hidrofobnosti (Diban i sur., 2008; Pham i sur., 2020).

Skupini hlapivih fenola pripadaju 4-etilfenol, 4-etilgvajakol i 2,4-di-*tert*-butilfenol, a sva tri spoja su pronađena u oba vina. Zadržavanje ovih spojeva bilo je veće ukoliko je primijenjen viši radni tlak (45 i 55 bara) te hlađenje retentata. Najveće zadržavanje ukupnih hlapivih fenola zabilježeno je pri 45 bara s hlađenjem u koncentratu konvencionalnog vina (58,1% od početne koncentracije od 830,6 µg/L) te pri 45 i 55 bara uz hlađenje u koncentratima ekološkog vina (64,6% početne koncentracije od 811,8 µg/L). Isti trend zadržavanja primijećen je i kod 2,4-di-*tert*-butilfenola, čija je početna koncentracija u konvencionalnom vinu bila 579,9 µg/L, a u ekološkom vinu 542,0 µg/L. Pri 45 i 55 bara uz hlađenje, veće zadržavanje ovog spoja zabilježeno je u koncentratima ekološkog vina (91,9% početne koncentracije), nego u koncentratima konvencionalnog vina (77,8%).

Najveće zadržavanje 4-etilfenola i 4-etilgvajakola, također, je postignuto pri višim tlakovima, posebice 55 bara te uz hlađenje, ali je zadržano samo 20,3% početne koncentracije 4-etilfenola i 9,23% početne koncentracije 4-etilgvajakola u koncentratu konvencionalnog vina, odnosno 11,9 i 7,9% u koncentratu ekološkog vina. Oba navedena spoja imaju malu

molekulsku masu (122,16 g/mol za 4-etilfenol i 152,19 g/mol za 4-etilgvajakol), zbog čega je njihovo zadržavanje u koncentratu vrlo nisko. Ovi spojevi predstavljaju sekundarne produkte metabolizma *Brettanomyces* kvasaca. Prekomjerne količine ovih spojeva u vinu (preko 230 µg/L za 4-etilfenol te preko 47 µg/L za 4-etilgvajakol) mogu uzrokovati kvarenje i negativno utjecati na aromu vina, dajući neugodan „*brett*" miris po seoskom dvorištu, štali, konjima ili pljesnivom siru (Kheir i sur., 2013). Iz rezultata dobivenih u ovom radu vidljivo je da su oba vina sadržavala ta dva spoja, a koncentracija 4-etilgvajakola je bila viša od gore navedene granice dozvoljenog. Nakon koncentriranja oba vina reverznom osmozom, početna koncentracija oba spoja se snizila za preko 80%, odnosno ispod navedene granice u svim koncentratima, a zadržavanje je ovisilo o primijenjenim procesnim parametrima. U istraživanju koje su odradili Ugarte i sur. (2005), pokazano je da se ovi spojevi mogu ukloniti iz crnog vina pomoću reverzne osmoze, zajedno s adsorpcijom na smoli kojom se ti fenoli uklanjaju iz permeata.

Iako su u konvencionalnom i ekološkom crnom vinu Cabernet Sauvignon, korištenom za izradu ovog rada, identificirani isti aromatski spojevi, njihova koncentracija kao i zadržavanje u koncentratima tijekom procesa reverzne osmoze nije jednaka, što je rezultiralo velikim razlikama u aromatskom profilu između uzoraka. To se najbolje vidi na PCA analizi aromatskog profila prikazanoj na **Slici 37**. U svrhu izrade PCA analize, svi aromatski spojevi podijeljeni su na temelju osnovne aromatske note kojom doprinose ukupnoj aromi vina te su dobivene sljedeće skupine: miris na mast, zelenilo, cvijeće, citruse, voće, dim, slab miris i ostalo (ova skupina uključuje aromu octa octene kiseline, aromu karamele etil-4-hidroksibutanoata, aromu sumpora metionola i aromu meda etil-pentadekanoata). Za svaki uzorak izračunate su ukupne koncentracije navedenih skupina aromatskih spojeva. Sa **Slike 37** vidljivo je da na prvu glavnu komponentu (PC1) otpada 88,86%, dok na drugu glavnu komponentu (PC2) otpada 6,54% ukupne varijance. PC1 razdvaja uzorke prema primijenjenim procesnim parametrima. Koncentrati oba vina dobiveni pri 25 bara s hlađenjem te pri 25 i 35 bara bez hlađenja nalaze se na negativnoj strani PC1, dok se ostali koncentrati nalaze na njenoj pozitivnoj strani. PC2 razdvaja ekološko vino i koncentrate (pozitivna strana) od konvencionalnog vina i koncentrata (negativna strana). Vidljivo je da početna vina imaju potpuno različit aromatski profil budući da se nalaze u suprotnim kvadrantima. Nakon koncentriranja reverznom osmozom, aromatski profil oba vina se promijenio te su svi koncentrati smješteni u središtu PCA biplot dijagrama između početnog konvencionalnog i ekološkog vina. Razlike u aromatskim profilima koncentrata oba vina rezultat su različitih primijenjenih procesnih parametara. Koncentrati oba vina dobiveni pri nižem tlaku (25 bara) bez hlađenja smješteni su na negativnoj strani PC1 i PC2 te su udaljeni od ostalih. S druge strane, na pozitivnoj strani PC1 i PC2 smješteni su

koncentrati oba vina dobiveni pri 55 bara uz hlađenje. Ostali koncentrati smješteni su između navedenih.

5.1.4. Utjecaj procesnih parametara na sastav fenolnih spojeva i antioksidacijsku aktivnost

U početnom konvencionalnom i ekološkom vinu i njihovim koncentratima dobivenim koncentriranjem reverznom osmozom pri 25, 35, 45 i 55 bara s i bez hlađenja, izmjerena je koncentracija ukupnih polifenola, flavonoida, monomernih antocijana te udio polimerne boje. Rezultati su prikazani u **Tablicama 25** i **26**. Iz rezultata je vidljivo da se koncentracija ukupnih polifenola u početnom konvencionalnom (3,19 g/L) i ekološkom (3,34 g/L) vinu snizila nakon koncentriranja reverznom osmozom, a na zadržavanje navedenih spojeva utjecali su procesni parametri. Povišenje radnog tlaka i hlađenje retentata rezultiralo je većim zadržavanje polifenola, nego što je to slučaj kod suprotnih procesnih parametara. Najveće zadržavanje polifenola među koncentratima zabilježeno je pri 55 bara i s hlađenjem i bez hlađenja retentata (90,3% početne koncentracije konvencionalnog vina te 93,7% početne koncentracije ekološkog vina). Primjena tlaka od 25 bara rezultirala je najmanjim zadržavanjem ukupnih polifenola u koncentratima oba vina (oko 73,0% početne koncentracije), posebice kada hlađenje nije primijenjeno. Viša temperatura retentata povećava permeabilnost membrane za polifenole (Gurak i sur., 2010; Pozderovic i sur., 2016).

Početna koncentracija ukupnih flavonoida u konvencionalnom i ekološkom crnom vinu iznosila je 1,55 i 1,64 g/L. Viši radni tlakovi rezultirali su i većim zadržavanjem ukupnih flavonoida tijekom koncentriranja oba vina. Najveće zadržavanje ukupnih flavonoida tijekom koncentriranja konvencionalnog vina (oko 83,0% početne koncentracije) postignuto je primjenom tlakova od 45 i 55 bara uz hlađenje, bez značajne razlike među njima. Među koncentratima ekološkog vina, koncentracija ukupnih flavonoida nije se značajno promijenila pri 45 i 55 bara uz hlađenje, u odnosu na početnu koncentraciju. Temperaturni režim bez hlađenja rezultirao je nešto manjim zadržavanjem flavonoidnih spojeva. Najniže koncentracije izmjerene su u koncentratu konvencionalnog vina pri 25 bara s i bez hlađenja (71,6% početne koncentracije) te koncentratu ekološkog vina pri 25 i 35 bara bez hlađenja (74,4% početne koncentracije).

Niže temperature i viši radni tlakovi rezultirali su i većim zadržavanjem monomernih antocijana tijekom koncentriranja oba vina reverznom osmozom, u odnosu na suprotne procesne parametre. Početne koncentracije antocijana iznosile su 151,41 mg/L u konvencionalnom i 103,83 mg/L u ekološkom vinu. Nakon koncentriranja reverznom osmozom, zabilježen je značajan gubitak antocijana, posebice pri 25 i 35 bara bez hlađenja tijekom koncentriranja konvencionalnog vina (oko 52,0% početne koncentracije) te pri 25 bara bez hlađenja tijekom

koncentriranja ekološkog vina (38,4% početne koncentracije). Zadržavanje je bilo najveće pri 55 bara uz hlađenje tijekom koncentriranja oba vina. Gurak i sur. (2010) ustanovili su da viši radni tlak (60 bara) i niža temperatura (20 °C) pogoduje zadržavanju monomernih antocijana tijekom koncentriranja soka od grožđa.

Polimerna boja u početnom konvencionalnom vinu iznosila je 61,50% te se nakon koncentriranja reverznom osmozom uz hlađenje povećala na prosječno 62,15%, odnosno 64,34% nakon koncentriranja bez hlađenja retentata. U početnom ekološkom vinu udio polimerne boje bio je 68,62% te se nakon reverzne osmoze uz hlađenje retentata nije značajno promijenio. Međutim, kada hlađenje retentata nije primijenjeno, udio polimerne boje u koncentratima ekološkog vina bio je nešto veći (u prosjeku 70,40%) u odnosu na početni. Promjena radnog tlaka nije imala značajan utjecaj na polimernu boju koncentrata. Polimerna boja predstavlja boju u vinu koju čine smeđi ili bezbojni polimerni pigmenti nastali degradacijom antocijana u prisutnosti kisika (Danisman i sur., 2015). U ovom radu, rezultati su pokazali da je viša temperatura retentata rezultirala većim gubitkom antocijana, ali i povećanjem udjela polimerne boje.

U **Tablicama 27** i **28** prikazane su koncentracije pojedinih fenolnih spojeva (galne, kafeinske, kaftarne kiseline, (+)-katehina, (−)-epikatehina, rutina, kvercetina i njegova dva derivata, malvidin 3-glukozida i njegovog derivata) identificiranih u početnim vinima i koncentratima dobivenim reverznom osmozom. Ovi spojevi su karakteristični za Cabernet Sauvignon vina (Burin i sur., 2011; Ivić i sur., 2021a; Šeruga i sur., 2011), a malvidin 3-glukozid je najzastupljeniji antocijan u vinu (He i sur., 2012). Rezultati su pokazali da su početno konvencionalno i ekološko vino sadržavali jednake tipove fenolnih spojeva, ali u različitim koncentracijama. Više početne koncentracije kafeinske i kaftarne kiseline, (+)-katehina, derivata kvercetina 1 te malvidin 3-glukozida i njegovog derivata izmjereno je u konvencionalnom vinu, u odnosu na ekološko vino koje je imalo više ostali fenolnih spojeva. Više koncentracije malvidin 3-glukozinda i njegovog derivata u početnom konvencionalnom vinu odgovara i višoj koncentraciji ukupnih monomernih antocijana, u odnosu na ekološko vino. Nakon reverzne osmoze, zabilježen je gubitak fenolnih spojeva u koncentratima oba vina. Izuzetak je rutin u koncentratima konvencionalnog vina dobivenim pri 35, 45 i 55 bara s i bez hlađenja gdje su koncentracije bile iste ili veće od početne (0,95 mg/L). Najviša koncentracija rutina izmjerena je u koncentratu konvencionalnog vina dobivenog pri 55 bara s hlađenjem (1,20 mg/L).

Tijekom koncentriranja konvencionalnog vina reverznom osmozom, viši tlakovi i hlađenje retentata rezultiralo je većim zadržavanjem fenolnih spojeva u odnosu na suprotne procesne parametre. Početne koncentracije galne, kafeinske, kaftarne kiseline, (+)-katehina, (–)-epikatehina, kvercetina i derivata kvercetina 2 u konvencionalnom vinu bile su redom: 42,22;

2,71; 11,18; 88,71; 1,18 i 1,11 mg/L. Najveće zadržavanje navedenih spojeva (iznad 90% početne koncentracije) zabilježeno je pri 55 bara s hlađenjem. Pri istim procesnim parametrima, izmjerena je i najviša koncentracija kvercetin derivata 1 među koncentratima konvencionalnog vina (77,7% početne koncentracije od 2,02 mg/L). Nadalje, najveće zadržavanje (−)-epikatehina (oko 88% početne koncentracije od 34,63 mg/L) postignuto je pri 35, 45 i 55 bara s hlađenjem te pri 45 i 55 bara bez hlađenja. Viši tlakovi (45 i 55 bara) povoljno su utjecali na zadržavanje malvidin 3-glukozida i njegovog derivata, tijekom oba temperaturna režima. Najveći gubitak svih fenolnih spojeva tijekom koncentriranja konvencionalnog vina postignut je pri 25 bara bez hlađenja.

Sličan trend se može primijetiti i u rezultatima dobivenim za ekološko vino. Najmanje zadržavanje zabilježeno je pri 25 bara bez hlađenja, dok su viši radni tlak i hlađenje retentata rezultirali većim zadržavanjem fenolnih spojeva u koncentratima ekološkog vina. Zadržavanje galne, kafeinske, kaftarne kiseline, (+)-katehina, malvidin 3-glukozida i njegovog derivata je bilo najveće (više od 90,0% početne koncentracije) pri 45 i 55 bara s hlađenjem. Početne koncentracije navedenih spojeva u ekološkom vinu bile su redom: 43,95; 2,10; 4,05; 42,18; 16,12 i 3,07 mg/L. Početna koncentracija (−)-epikatehina u ekološkom vinu bila je 69,80 mg/L, a među koncentratima najviša koncentracija izmjerena je u onima dobivenim reverznom osmozom pri 45 i 55 bara s hlađenjem (52,49 i 52,44 mg/L). Oko 74,0 i 88,0% početne koncentracije derivata kvercetina 1 i 2 izmjereno je u koncentratima ekološkog vina dobivenim reverznom osmozom pri 35, 45 i 55 bara s hlađenjem. Pri istim procesnim parametrima, zajedno s 35 bara bez hlađenja, postignuto je najveće zadržavanje rutina (oko 86,0%). Početna koncentracija kvercetina u ekološkom vinu bila je 3,57 mg/L. Među koncentratima ekološkog vina, najveće koncentracije kvercetina su izmjerene pri 45 i 55 bara s hlađenje (68,1% početne koncentracije). Međutim, temperaturni režim bez hlađenja rezultirao je potpunim gubitkom kvercetina, izuzev pri tlaku od 55 bara, gdje je zadržano 0,39 mg/L.

Kako je već spomenuto, zadržavanje komponenti vina tijekom koncentriranja reverznom osmozom ovisi o nekoliko čimbenika, npr. procesnim parametrima, začepljenju membrane, karakteristikama membrane (veličina pora, polarnost), kemijskim svojstvima komponenti te njihovim međusobnim interakcijama i interakcijama s membranom (Gil i sur., 2013; Ivić i sur., 2021a). O istim čimbenicima ovisi i zadržavanje bioaktivnih komponenti, odnosno fenolnih spojeva u vinu. Spojevi male molekulske mase mogu proći kroz membranu, međutim veće molekule kao polisaharidi, veći polifenoli, neke soli i koloidi doprinose stvaranju kolača na površini membrane i začepljenju membrane čime povećavaju zadržavanje bioaktivnih komponenti (Arsuaga i sur., 2010). Međutim, istraživanja su pokazala da molekule s većom molekulskom masom, također, mogu proći kroz membranu, ovisno o njihovom hidrofobnom ili hidrofilnom karakteru i adsorpciji na odgovarajući dio membrane (Diban i sur., 2008). Nadalje,

pH vrijednost vina blizu je izoelektrične točke primijenjenih membrana te je njena permeabilnost povećana. Mnif i sur. (2017) pokazali su da viša pH vrijednost ulazne otopine (oko 12,0) može povećati zadržavanje fenolnih spojeva za 65,0 do 90,0%.

U svrhu bolje usporedbe fenolnog profila konvencionalnog i ekološkog vina i njihovih koncentrata dobivenih reverznom osmozom, napravljena je PCA analiza (**Slika 38**). Gore navedeni fenolni spojevi podijeljeni su u skupine: fenolne kiseline (galna, kafeinska i kaftarna kiselina), flavan-3-oli (katehin i epikatehin), flavonoidi (rutin, kvercetin i njegova dva derivata) i antocijani (malvidin 3-glukozid i njegov derivat). PCA biplot dijagram podijeljen je prvom glavnom komponentom (PC1) na koju otpada 73,70% ukupne varijance te drugom glavnom komponentom (PC2) na koji otpada 17,45% ukupne varijance. PC1 razdvaja uzorke prema primijenjenim procesnim parametrima. Svi koncentrati ekološkog vina smješteni su na negativnoj strani PC1, zajedno s koncentratom konvencionalnog vina dobivenog pri 25 bara bez hlađenja. Na pozitivnoj strani PC1 se nalazi ostatak koncentrata konvencionalnog vina. PC2 razdvaja uzorke na konvencionalno (pozitivna strana) i ekološko (negativna strana) vino i koncentrate. Kako je spomenuto, oba početna vina sadržavala su iste tipove fenolnih spojeva, ali u različitim koncentracijama. To je rezultiralo time da konvencionalno i ekološko vino imaju potpuno drugačiji fenolni profil (nalaze se u različitim kvadrantima PCA dijagrama). Nakon koncentriranja reverznom osmozom, svi koncentrati ekološkog vina su smješteni na negativnu stranu PC1 i PC2, udaljeni od početnog ekološkog vina, što znači da je reverzna osmoza promijenila njegov fenolni profil, s određenim razlikama ovisno o procesnim parametrima. Različiti procesni parametri utjecali su i na zadržavanje fenolnih spojeva u koncentratima konvencionalnog vina. Svi koncentrati konvencionalnog vina i početno vino smješteni su na pozitivnoj strani PC1 i PC2, osim koncentrata dobivenog pri 25 bara bez hlađenja, koji je smješten na negativnoj strani PC1. To znači da su ti procesni parametri najviše utjecali na promjenu fenolnog profila konvencionalnog vina, dok je viši tlak (55 bara) i hlađenje retentata rezultiralo najmanjim promjenama (taj uzorak se nalazi najbliže početnom vinu).

Poznato je da su crna vina bogata polifenolima koji, osim što su odgovorni za boju vina, posjeduju i antioksidacijska svojstva, štiteći organizam od štetnog djelovanja slobodnih radikala (Laureati i Pagliarini, 2016). U svrhu potpunijeg određivanja antioksidacijske aktivnosti crnog vina, u ovo radu su upotrjebljene četiri metode: DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC, koje se međusobno razlikuju po načinu djelovanja na pojedine skupine fenolnih spojeva (Büyüktuncel i sur., 2014). U **Tablicama 29** i **30** prikazanu su vrijednosti antioksidacijske aktivnosti u konvencionalnom i ekološkom crnom vinu i njihovim koncentratima dobiveni reverznom osmozom. Oba vina imala su slične vrijednosti antioksidacijske aktivnosti određene sa četiri navedene metode. Nakon reverzne osmoze došlo je do smanjenja antioksidacijske aktivnosti u svim koncentratima, s tim da je u koncentratima dobivenim pri višim tlakovima (45 i 55 bara)

i s hlađenjem izmjerena antioksidacijska aktivnost bila nešto veća u odnosu na suprotne procesne parametre. U koncentratima oba vina dobivenim pri 25 bara bez hlađenja izmjerena je najmanja antioksidacijska aktivnost uspoređujući s ostalim koncentratima. Budući da fenolni spojevi posjeduju antioksidacijsku aktivnost, sniženje koncentracije ukupnih polifenola, flavonoida i antocijana rezultiralo je smanjenjem antioksidacijske aktivnosti, što je vidljivo iz **Tablice 31**. U toj tablici prikazan je koeficijent korelacije između ukupnih polifenola, flavonoida i monomernih antocijana te antioksidacijske aktivnosti dobivene DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metodom u početnim vinima i koncentratima. Koeficijent korelacije može biti od −1 (idealna negativna linearna povezanost) do +1 (idealna pozitivna linearna povezanost). Vrijednost 0 ukazuje na nepostojanje povezanosti podataka (Ratner, 2009). Iz tablice je vidljivo da se koeficijent korelacije u analiziranim uzorcima kreće od 0,454 do 0,959, što ukazuje na pozitivnu linearnu povezanost podataka. Što je vrijednost koeficijenta korelacije bliža 1, to je povezanost jača. Jaka povezanost (više od 0,7) je vidljiva između ukupnih polifenola, flavonoida i antocijana te antioksidacijske aktivnosti dobivene DPPH, ABTS i FRAP metodom u koncentratima oba vina. U koncentratima ekološkog vina, vidljiva je i jaka povezanost između navedenih fenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti dobivene CUPRAC metodom. U konvencionalnom vinu, povezanost između navedenih spojeva i antioksidacijske aktivnosti dobivene CUPRAC metodom je srednje pozitivna.

5.1.5. Utjecaj procesnih parametara na boju

U svrhu određivanja boje početnog konvencionalnog i ekološkog vina te promjene boje nakon koncentriranja reverznom osmozom, određeni su parametri L*, a*, b*, C* i °h, a rezultati su prikazani u **Tablicama 32** i **33**. Rezultati su pokazali da se svjetlina (L*) početnog konvencionalnog i ekološkog vina (19,70 u oba vina) povećala nakon koncentriranja reverznom osmozom. U koncentratima konvencionalnog vina dobivenim uz hlađenje iznosila je u prosjeku 19,91, a bez hlađenja 20,03. U koncentratima ekološkog vina te vrijednosti su bile redom 20,30 i 20,50. Promjena tlaka nije imala značajan utjecaj na svjetlinu koncentrata. Vrijednost a* (crvena/zelena boja) se nije značajno promijenila nakon koncentriranja oba vina reverznom osmozom uz hlađenje, ali se smanjila tijekom temperaturnog režima bez hlađenja. Tlak ponovno nije ima značajan utjecaj. Vrijednost b* (žuta/plava boja) se nije značajno promijenila nakon koncentriranja oba vina reverznom osmozom. Ton boje (°h) se smanjio od početnih 35,80 u konvencionalnom vinu do 30,57 (u prosjeku) u koncentratima dobivenim s hlađenjem te pri 45 i 55 bez hlađenja, odnosno do 29,52 i 29,33 pri 25 i 35 bara bez hlađenja. Ton boje početnog ekološkog vina bio je 33,54, a među koncentratima najveće vrijednosti izmjerene su u onima dobivenim pri 25 i 35 bara s hlađenje (30,16 i 30,51). Zasićenost boje (C*) početnog konvencionalnog (1,94) i ekološkog (1,58) vina povećala se nakon

koncentriranja oba vina reverznom osmozom. Tijekom koncentriranja konvencionalnog vina, tlak nije utjecao na zasićenost boje, ali je ona bila nešto viša tijekom temperaturnog režima bez hlađenja, u odnosu na onaj s hlađenjem. Među koncentratima ekološkog vina, najveća vrijednost C* izmjerena je u onome dobivenom pri 55 bara s hlađenjem (3,24).

U svrhu određivanja promjene boje vina nakon koncentriranja reverznom osmozom, određena je vrijednost ΔE*. U koncentratima konvencionalnog vina, ta vrijednost je bila manja od 0,40, dok je u koncentratima ekološkog vina bila manja od 0,83. Tlak nije ima značajan utjecaj na promjenu boje konvencionalnog vina, ali nešto veće vrijednosti ΔE* dobivene su kada hlađenje retentata nije primijenjeno. Tijekom koncentriranja ekološkog vina, tlak je utjecaj na promjenu boje ukoliko je i hlađenje primijenjeno te je najmanja vrijednost dobivena pri 25 bara s hlađenjem (0,55). Međutim, ukoliko je vrijednost ΔE* manja od 1, odnosno manja od 5 ukoliko se vino promatra kroz čašu, promjena boje nije vidljiva golom oku (Pérez-Magariño i González-Sanjosé, 2003).

5.2. NANOFILTRACIJA

5.2.1. Procesni parametri tijekom koncentriranja crnog vina

Utjecaj različitog tlaka (25, 35, 45 i 55 bara) i temperaturnog režima (s i bez hlađenja) na protok permeata, temperaturu koncentrata i začepljenje membrane tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog crnog vina Cabernet Sauvignon nanofiltracijom prikazan je u **Tablicama 34-42** te **Slici 39**. Iste vrijednosti protoka permeata, temperature koncentrata i vremena trajanja procesa dobivene su prilikom koncentriranja oba vina.

Iz rezultata je vidljivo da je od 3 L početnog vina nakon svakog procesa nanofiltracije dobiveno je 1,3 L koncentrata i 1,7 L permeata. Temperatura početnog vina bila je 15 °C, a tijekom koncentriranja vina nanofiltracijom, temperatura koncentrata je rasla ovisno o primijenjenom tlaku i temperaturnom režimu. Viši radni tlak te režim bez hlađenja rezultirali su višim konačnim temperaturama koncentrata. Najviša konačna temperatura koncentrata postignuta je pri 55 bara bez hlađenja (48 °C). Procesi s hlađenjem rezultirali su za oko 10 °C nižim konačnim temperaturama koncentrata, nego procesi bez hlađenja. Najniža konačna temperatura koncentrata izmjerena je nakon procesa nanofiltracije pri 25 bara s hlađenjem (31 °C). Što je viši radni tlak i temperatura, to je bio viši i protok permeata. Najviše vrijednosti izmjerene su pri 55 bara bez hlađenja, i to od početnih 31,94 L/m^{2}h do 29,41 L/m^{2}h, a najmanje pri 25 bara bez hlađenja (od 15,00 do 12,25 L/m^{2}h).

Veći protok permeata pri višim tlakovima rezultat je veće difuzivnosti vode kroz membranu, dok se pri višim temperaturama snižava viskoznost retentata i povećava permeabilnost

membrane (Ivić i sur., 2021a; Ivići sur., 2021c; Siddiqui i sur., 2016). Zbog manjeg protoka permeata, proces pri 25 bara uz hlađenje je trajao najduže, odnosno bilo je potrebno 48 minuta da se izdvoji 1,7 L permeata i postigne volumni odnos retentata od 2,31. Navedene vrijednosti su najbrže postignute pri 55 bara bez hlađenja (20 minuta). Primjenom višeg radnog tlaka ostvaruje se veći protok permeata, trajanje procesa je kraće u odnosu na niže tlakove, ali brže dolazi do začepljenja membrane. Komponente koje se nalaze u otopini koja se koncentrira (npr. polisaharidi, koloidi, polifenoli, proteini) nakupljaju se na površini membrane stvarajući kolač koji, u početku, povećava zadržavanje spojeva u retentatu, ali dovodi i do smanjenja protoka permeata i usporavanja ili zaustavljanja procesa nanofiltracije (Chakraborty i sur., 2004; El Rayess i sur., 2012; Koo i sur., 2013; Salgado i sur., 2013). Banvolgyi i sur. (2016) dobili su slične zaključke tijekom koncentriranja crnog vina nanofiltracijom pri tlaku od 10 do 20 bara i temperaturi od 20 do 40 °C. Slične zaključke vezano za utjecaj tlaka i temperature na protok permeata dobiveni su i tijekom koncentriranja soka od aronije nanofiltracijom (Popović i sur., 2016). Općenito, protok permeata je veći pri većem protoku i turbulentnom strujanju ulazne otopine, budući da to smanjuje polarizaciju koncentracije. S druge strane, viša koncentracija otopljenih tvari u ulaznoj otopini ima suprotan učinak. Tijekom procesa nanofiltracije, pod utjecajem mehaničke kompresije, kemijskih promjena u strukturi membrane te nakupljanja otopljenih tvari na njoj, dolazi do smanjenja protoka permeata (Ho i Sirkar, 1992; Popović, 2019).

U ovom radu, prije i nakon svakog procesa koncentriranja vina nanofiltracijom izmjeren je protok čiste vode, izračunate su srednje vrijednosti pri tlakovima od 25, 35, 45 i 55 bara pri 25 °C te je dobivena **Slika 39**. Vidljivo je da je protok čiste vode nakon koncentriranja niži od onog prije koncentriranja, na osnovu čega se može zaključiti da je došlo do začepljenja membrane. U tu svrhu izračunat je indeks začepljenja pri navedenim procesnim parametrima, koji se povećavao s višim primijenjenim tlakom (od 28,59% pri 25 bara do 31,45% pri 55 bara). Svaka molekula može doprinijeti začepljenju membrane, što ovisi o karakteristikama membrane i molekule (molekularna masa, električni naboj, polarnost, afinitet za interakcije s membranom) (Diban i sur., 2008). Začepljenje membrane predstavlja glavni limitirajući čimbenik prilikom koncentriranja vina nanofiltracijom, koji zahtjeva redovno čišćenje membrane, oštećuje membranu i smanjuje joj životni vijek, smanjuje efikasnost i kapacitet procesa (Cai i sur., 2017). Bartels i sur. (2008) proučavali su novu generaciju NF membrana kojima bi se smanjili ili uklonili navedeni nedostaci. Nadalje, postoji mogućnost primjene određenih tretmana kojima bi se utjecalo na površinu membrane i smanjile interakcije između nje i komponenata u otopini, npr. tretiranje NF membrane fotooksidacijom može ublažiti njeno začepljenje tijekom koncentriranja (Marszałek i Puszczało, 2020).

5.2.2. Utjecaj procesnih parametara na kemijski sastav, sadržaj kiselina i elemenata u tragovima

Kemijski sastav, sadržaj kiselina i elemenata u tragovima u početnom konvencionalnom i ekološkom crnom vinu Cabernet Sauvignon te njihovim koncentratima dobivenim nanofiltracijom pri 25, 35, 45 i 55 bara s i bez hlađenja, prikazan je u **Tablicama 43-48**. Osnovni kemijski sastav analiziranih uzoraka (**Tablice 43** i **44**) uključivao je praćenje sljedećih parametara: udio etanola, glicerola, slobodnog i ukupnog SO_2, reducirajućih šećera, CO_2 te gustoću.

Nakon koncentriranja vina nanofiltracijom, početni udio etanola u konvencionalnom (13,74%) i ekološkom vinu (13,53%) se smanjio za više od 50%. Zadržavanje, odnosno permeabilnost etanola bila je slična tijekom koncentriranja oba vina pri istim procesnim parametrima. Nešto veće zadržavanje etanola zabilježeno je pri najvišem tlaku (55 bara), a nije bilo značajne razlike u zadržavanje etanola između dva temperaturna režima, uspoređujući iste tlakove. Zadržavanje glicerola pratilo je sličan trend, s najvećom izmjerenom vrijednosti u koncentratu dobivenom pri 55 bara s i bez hlađenja. U usporedbi s početnim vinom, koncentracija glicerola se snizila nakon nanofiltracije za gotovo 50%, ovisno o primijenjenim procesnim parametrima.

Gustoća koncentrata je bila nešto viša u odnosu na odgovarajuće početno vino, odnosno od 0,9946 g/L povećala se na prosječnih 1,0028 g/L u NF koncentratima oba vina, bez obzira na primijenjene procesne parametre. Što se tiče reducirajućih šećera, oba početna vina sadržavala su 4,1 g/L šećera, a koncentracija se snizila nakon koncentriranja konvencionalnog vina na oko 3,2 g/L, bez značajne razlike među koncentratima dobivenim pri različitim procesnim parametrima. Međutim, tijekom koncentriranja ekološkog vina nanofiltracijom, početna koncentracija šećera se nije značajno promijenila pri svim procesnim parametrima.

Najviša koncentracija CO_2 izmjerena je u početnim vinima (232,61 g/L u konvencionalnom te 444,64 g/L u ekološkom vinu). Nakon koncentriranja nanofiltracijom, dobivene su niže koncentracije CO_2, a zadržavanje je bilo veće pri nižim tlakovima i temperaturama, posebice pri 25 bara s hlađenjem (206,18 g/L u konvencionalnom te 160,15 g/L u ekološkom vinu), u usporedbi s višim tlakovima i temperaturnom režimu bez hlađenja. Nadalje, oba vina sadržavala su jednake koncentracije slobodnog (12,80 mg/L) i ukupnog (43,52 mg/L) SO_2. Koncentracija slobodnog SO_2 se nakon procesa nanofiltracije snizila, i to za oko 10% početne koncentracije ukoliko je hlađenje primijenjeno te za oko 20% početne koncentracije ukoliko nije. Ukupni SO_2 se povećao nakon koncentriranja oba vina nanofiltracijom, izuzev prilikom koncentriranja konvencionalnog vina pri 45 i 55 bara bez hlađenja gdje se koncentracija ukupnog SO_2 snizila (97% početne koncentracije) te prilikom koncentriranja ekološkog vina pri 55 bara bez hlađenja, gdje je koncentracija ostala ista kao i početna. U koncentratima

ekološkog vina, viši tlak kod procesa s hlađenjem pogodovao je zadržavanju ukupnog SO_2, dok je suprotan učinak postignut kod procesa koncentriranja konvencionalnog vina.

U **Tablicama 45** i **46** prikazane su koncentracije ukupnih i hlapivih kiselina te koncentracije jabučne, mliječne, limunske, sorbinske i vinske kiseline u početnom konvencionalnom i ekološkom vinu i njihovim koncentratima dobivenim nanofiltracijom pri različitim procesnim parametrima. Početna koncentracija ukupnih kiselina u konvencionalnom vinu iznosila je 4,9 g/L, a u ekološkom vinu 5,1 g/L. Nakon koncentriranja oba vina nanofiltracijom zabilježeno je sniženje navedene koncentracije za oko 30%. Promjena tlaka i temperaturnog režima nije imala značajan utjecaj na zadržavanja ukupnih kiselina u koncentratima vina. Koncentracija hlapivih kiselina u oba vina bila je 0,9 g/L te se nakon koncentriranja nanofiltracijom snizila za 44,4%, bez značajne razlike s obzirom na primijenjene procesne parametre. Sličan trend zabilježen je kod jabučne, mliječne i limunske kiseline, gdje primijenjeni procesni parametri nisu imali značajan utjecaj na zadržavanje navedenih kiselina tijekom koncentriranja oba vina nanofiltracijom, ali je došlo do određenog gubitka tih kiselina u odnosu na početno vino. Početne koncentracije jabučne kiseline (0,8 g/L), mliječne (2,1 g/L) i limunske (0,29 g/L) kiseline u konvencionalnom vinu nakon procesa nanofiltracija snizile su se za 62,5%, 47,6% te 41,4%. Koncentracije navedenih kiselina u početnom ekološkom vinu iznosile su redim 0,6 g/L, 1,8 g/L i 0,31 g/L, a u koncentratima su te vrijednosti bile u prosjeku 0,2 g/L, 0,8 g/L i 0,22 g/L, bez značajne razlike među koncentratima s obzirom na primijenjene procesne parametre. Najmanje zadržavanje tijekom koncentriranja oba vina zabilježeno je za sorbinsku kiselinu. Tijekom koncentriranja konvencionalnog vina nanofiltracijom, najveće zadržavanje sorbinske kiseline zabilježeno je pri 55 bara bez hlađenja (24,2%), a najmanje pri 25 bara bez hlađenja (1,5%). U koncentratima ekološkog vina sorbinska kiselina nije detektirana.

Koncentracija vinske kiseline u oba početna vina iznosila je 0,7 g/L, a nakon koncentriranja vina nanofiltracijom nije došlo do značajne promjene koncentracije vinske kiseline u koncentratima. Pored već navedene mogućnosti upotrebe reverzne osmoze za stabilizaciju tartarata, ovi rezultati su pokazali da se i nanofiltracija može upotrijebiti u istu svrhu. Temido i sur. (2015) u svom istraživanju uklanjanja kiselina nanofiltracijom iz vina, zaključili su da je zadržavanje vinske kiseline bilo 100%, bez obzira na veličinu pora membrane i malu molekulsku masu navedene kiseline (150,087 g/mol). Najveći utjecaj je imao stupanj disocijacije kiseline i pH vrijednost vina (veći pH, veće zadržavanje. U ovom radu, pH vrijednosti konvencionalnog i ekološkog vina bile su 3,92 i 3,75, koje su se blago smanjile nakon procesa nanofiltracije. U koncentratima konvencionalnog vina, prosječna pH vrijednost je bila 3,72, bez značajne razlike s obzirom na tlak i temperaturu, izuzev u koncentratu pri 55 bara bez hlađenja gdje je izmjerena najviša pH vrijednost (3,76). U koncentratima ekološkog

vina, najmanja pH vrijednost zabilježena je pri 25, 35 i 45 bara bez hlađenja, a razlike u pH vrijednostima među ostalim koncentratima nisu značajne (u prosjeku 3,64).

Tablice 47 i **48** prikazuju sadržaj elemenata u tragovima (K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Br, Rb, Sr, Pb) u početnom konvencionalnom i ekološkom vinu i njihovim koncentratima dobivenim nanofiltracijom pri različitim procesnim parametrima. Rezultati su pokazali da promjena tlaka i temperature tijekom koncentriranja oba vina nanofiltracijom nije imala jednak utjecaj na sve elemente. U većini koncentrata, zabilježen je određeni gubitak navedenih elemenata, u usporedbi s početnom koncentracijom. Međutim, tijekom koncentriranja konvencionalnog vina, zabilježeno je značajno zadržavanje kalija, kalcija, mangana, željeza, bakra, rubidija i stroncija pri višim tlakovima (45 i 55 bara) i s hlađenjem, gdje nije bilo značajne razlike ($P < 0,05$) u koncentraciji u odnosu na početnu. Povišenje tlaka tijekom režima s hlađenjem, pogodovalo je većem zadržavanju kalija, kalcija, mangana, željeza, broma, rubidija i stroncija u NF koncentratima konvencionalnog vina. Radni tlak nije ima značajan utjecaj na zadržavanje bakra i olova, ali povišenje temperature tijekom režima bez hlađenja rezultiralo je nešto manjim zadržavanjem bakra, u odnosu na režim s hlađenjem. Koncentracija cinka u početnom konvencionalnom vinu bila je 1400,5 µg/L, a njegovo zadržavanje tijekom procesa nanofiltracije se smanjivalo s povišenjem tlaka i temperature. To znači da su najveće koncentracije cinka u koncentratima konvencionalnog vina zabilježene pri 25 bara (1409,2 µg/L s hlađenjem i 1380,0 µg/L bez hlađenja).

Sličan trend zabilježen je kod zadržavanja cinka u koncentratima ekološkog vina: povišenje tlaka rezultiralo je smanjenim zadržavanjem. Pri tome, povišenje temperature tijekom procesa bez hlađenja nije imalo značajan utjecaj na zadržavanje cinka pri 35, 45 i 55 bara u koncentratima ekološkog vina, u usporedbi s procesima s hlađenjem pri istim tlakovima. Najveće zadržavanje cinka zabilježeno je pri 25 bara bez hlađenja (91,8%). Zadržavanje ostalih elemenata u NF koncentratima ekološkog vina nije pratilo iste trendove kao u koncentratima konvencionalnog vina, npr. tlak i temperatura nisu imali značajan utjecaj na zadržavanje kalija i kalcija. Nadalje, povišenje radnog tlaka i hlađenje retentata pogodovali su zadržavanju mangana, željeza, bakra, broma, rubidija i olova. Najveće koncentracije stroncija među koncentratima ekološkog vina izmjerene su pri 45 bara s i bez hlađenja (457,0 i 420,8 µg/L). Kada hlađenje nije bilo primijenjeno, promjena radnog tlaka nije imala značajan utjecaj na zadržavanje željeza, rubidija i olova u koncentratima ekološkog vina. Najveći utjecaj na zadržavanje pojedinih elemenata tijekom procesa nanofiltracije imaju karakteristike membrane, posebice njen površinski naboj i izoelektrična točka, zatim sastav otopine koja se koncentrira te njen pH (Mullett i sur., 2014).

5.2.3. Utjecaj procesnih parametara na aromatski profil

Koncentracije pojedinih aromatskih spojeva te suma koncentracija svake skupine spojeva (kiselina, alkoholi, karbonilni spojevi, terpeni, esteri i hlapivi fenoli) u početnom konvencionalnom i ekološkom vinu i njihovim NF koncentratima prikazane su u **Tablicama 49** i **50**. Iz rezultata je vidljivo da je došlo do značajnog smanjena ukupnih kiselina u NF koncentratima, u usporedbi s početnom koncentracijom u vinu. Najveće zadržavanje ukupnih kiselina zabilježeno je pri 55 bara s hlađenjem (41,6% početne koncentracije u koncentratu konvencionalnog vina te 19,6% u koncentratu ekološkog vina). Razlog tako niske koncentracije ukupnih kiselina u NF koncentratima je visoka permeabilnost NF membrana za octenu kiseline koja je imala najvišu koncentraciju u početnim vinima u odnosu na ostale kiseline (394,1 µg/L u konvencionalnom i 1043,0 µg/L u ekološkom vinu). Octena kiselina nije detektirana niti u jednom koncentratu nakon procesa nanofiltracije, bez obzira na primijenjeni tlak i temperaturu. Permeabilnost octene kiseline kroz NF membranu je visoka zbog male molekulske mase navedene kiseline (60,05 g/mol), koja je znatno manja od MWCO membrane za nanofiltraciju, te pH vina koji pogoduje boljem izdvajanju octene kiseline iz retentata tijekom koncentriranja (de Souza i sur., 2020; Temido i sur., 2015; Zhou i sur., 2013b).

Ukoliko se u izračun zadržavanja ukupnih kiselina ne uzme u obzir octena kiselina, onda je zadržavanje ukupnih kiselina pri 55 bara s hlađenjem iznosilo 69,4% tijekom koncentriranja konvencionalnog vina, odnosno 54,1% tijekom koncentriranja ekološkog vina. Zadržavanje ostalih kiselina (oktanske, dekanske, laurinske, miristinske i palmitinske kiseline) koje su identificirane u uzorcima pomoću plinskog kromatografa ovisilo je o procesnim parametrima i tipu vina. Hlađenje retentata i viši radni tlak pogodovali su zadržavanju navedenih kiselina, budući da su u koncentratima dobivenim bez hlađenja koncentracije kiselina niže u odnosu na one dobivene s hlađenjem pri istom tlaku. Izuzetak je laurinska kiselina kod koje temperaturni režim nije imao značajan utjecaj na njeno zadržavanje pri tlaku od 55 bara tijekom koncentriranja oba vina. Među koncentratima ekološkog vina dobivenih nanofiltracijom, najviše koncentracije palmitinske kiseline izmjerene su pri 45 i 55 bara s hlađenjem, dok su najniže koncentracije izmjerene u ostalim koncentratima ekološkog vina bez značajne razlike s obzirom na primijenjene procesne parametre.

Zadržavanje ukupnih viših alkohola tijekom koncentriranja oba vina pratilo je već spomenuti trend: zabilježeno je sniženje početne koncentracije ukupnih alkohola nakon procesa nanofiltracije, s tim da je najveće zadržavanje zabilježeno pri 55 bara s hlađenjem (40,3% početne koncentracije u koncentratu konvencionalnog vina te 12,9% u koncentratu ekološkog vina). Najveće zadržavanje izoamilnog alkohola, butan-2,3-diola, heksan-1-ola, oktan-1-ola i dodekanola zabilježeno je pri 55 bara s hlađenjem. Niži tlakovi i više temperature (procesi bez hlađenja) rezultirali su manjim zadržavanje navedenih alkohola u usporedbi sa suprotnim

procesnim parametrima. Zadržavanje 2-feniletanola je također pratilo gore navedeni trend, s tim da promjena temperaturnog režima nije imala utjecaj pri tlaku od 55 bara tijekom koncentriranja oba vina. Metionol i benzilni alkohol nisu detektirani u NF koncentratima ekološkog vina, a u koncentratima konvencionalnog vina detektiran je samo metionol pri 25 bara s hlađenjem (24,0 µg/L, što je 52,3% početne koncentracije). Zadržavanje dodekanola je bilo najveće pri 55 bara s hlađenjem tijekom koncentriranja konvencionalnog (98,1% početne koncentracije) i ekološkog (90,7% početne koncentracije) vina. Iako od svih identificiranih alkohola, dodekanol ima najveću molekularnu masu (186,34 g/mol), svi alkoholi ipak imaju molekulsku masu manju od MWCO membrane za nanofiltraciju, što je rezultiralo njihovim djelomičnim ili potpunim gubitkom. Međutim, to nije jedini parametar koji utječe na zadržavanje alkohola tijekom nanofiltracije. Veliku ulogu imaju pojedina svojstva alkohola kao što su naboj, tlak pare, afinitet prema vezanju s drugim molekulama (Longo i sur., 2016), ali i primijenjeni procesni parametri. Veće zadržavanje alkohola pri višim tlakovima rezultat je mehanizma otapanja-difuzije vode kroz membranu, pri čemu dolazi do jače interakcije vode i hidrofilnih dijelova membrane i veće permeabilnosti vode kroz membranu, a smanjenja permeabilnosti ostalih komponenti (Murthy i sur., 2005).

Karbonilni spojevi su osjetljiva skupina aromatskih spojeva čija se koncentracija snižava tijekom procesiranja hrane, toplinske obrade ili zamrzavanja, što utječe na aromu konačnog proizvoda (Popović, 2019). Membranski procesi su se pokazali kao dobra metoda koncentriranja vina pri čemu se može zadržati visoku udio karbonilnih spojeva u koncentratima vina. Ukupna početna koncentracija karbonilnih spojeva (4-propilbenzaldehida, geranil acetona, lili aldehida i heksilcinamaldehida) u konvencionalnom (81,3 µg/L) i ekološkom (89,4 µg/L) vinu snizila se nakon procesa nanofiltracije, s tim da je zadržavanje bilo veće ukoliko je primijenjen viši radni tlak i niža temperatura, u usporedbi sa suprotnim procesnim parametrima. Najviša koncentracija ukupnih karbonilnih spojeva zabilježena je pri 55 bara s hlađenjem (57,4 µg/L u koncentratu konvencionalnog vina te 66,9 µg/L u koncentratu ekološkog vina). Međutim, gledajući pojedinačne spojeve, procesni parametri nisu imali jednak utjecaj na zadržavanja svakog aldehida. U koncentratima ekološkog vina, najveće zadržavanje sva četiri aldehida zabilježeno je pri 55 bara s hlađenjem, dok su procesi bez hlađenja rezultirali manjim zadržavanjem 4-propilbenzaldehida i geranil acetona. Promjena temperaturnog režima nije imala značajan utjecaj na zadržavanje lili aldehida i heksilcinamaldehida u koncentratima ekološkog vina pri tlakovima od 25, 35 i 45 bara. U koncentratima konvencionalnog vina, najniža koncentracija 4-propilbenzaldehida izmjerena je pri 25 bara s hlađenjem (4,3 µg/L, odnosno 20,3% početne koncentracije). Najniža koncentracija geranil acetona među koncentratima konvencionalnog vina izmjerena je u onima dobivenim pri 25 i 35 bara s i bez hlađenja. Promjena tlaka tijekom procesa s hlađenjem nije imala značajan utjecaj na

zadržavanje lili aldehida u tim koncentratima, a povišenje temperature rezultiralo je nižim koncentracijama u odnosu na režim s hlađenjem. Najveće zadržavanje heksilcinamaldehida u koncentratima konvencionalnog vina zabilježeno je pri 55 bara s hlađenjem (73,4% početne koncentracije).

Zadržavanje ukupnih terpena tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog vina nanofiltracijom je bilo najveće pri 55 bara bez hlađenja (40,6% početne koncentraciju u koncentratima konvencionalnog te 47,5% u koncentratima ekološkog vina), a smanjivalo se sa sniženjem radnog tlaka i povišenjem temperature retentata. Najviše koncentracije α-terpinolena u koncentratima konvencionalnog vina izmjerene su pri 45 i 55 bara s hlađenjem te 55 bara bez hlađenja (u prosjeku 37,0 µg/L). U koncentratima ekološkog vina, najviše koncentracije navedenog terpena izmjerene su pri 45 bara s hlađenjem (48,2 µg/L). Kada hlađenje nije primijenjeno, promjena tlaka od 35 do 55 bara nije imala značajan utjecaj na zadržavanje β-citronelola i β-damascenona u koncentratima konvencionalnog vina. S druge strane, primjena tlaka od 55 bara rezultirala je najvećim zadržavanjem β-citronelola u koncentratima ekološkog vina, dok promjena temperaturnog režima nije imala značajan utjecaj. Zadržavanje fenantrena u NF koncentratima konvencionalnog vina je bilo veće ukoliko je primijenjen viši radni tlak i niža temperatura, u odnosu na suprotne parametre. Stoga, najveće zadržavanje je zabilježeno pri 55 bara s hlađenjem (82,4% početne koncentracije), a najmanje pri 25 bara bez hlađenja (39,7% početne koncentracije). U koncentratu ekološkog vina dobivenog nanofiltracijom pri 55 bara s hlađenjem zadržano je 90,0% početne koncentracije fenantrena. Pri istim procesnim parametrima zabilježeno je i najveće zadržavanje β-jonona, i to 56,8% početne koncentracije u koncentratu konvencionalnog vina te 20,3% u koncentratu ekološkog vina.

Najveća skupina aromatskih spojeva bili su esteri s 19 spojeva identificiranih u analiziranim uzorcima. Njihova ukupna koncentracija se nakon koncentriranja oba vina nanofiltracijom snizila, s tim da je najveće zadržavanje ukupnih estera ostvareno pri 55 bara s hlađenjem (52,2% i 69,7% početne koncentracije u koncentratu konvencionalnog i ekološkog vina). Najveći utjecaj na ukupnu koncentraciju estera imao je dietil-sukcinat koji je imao najvišu početnu koncentraciju u konvencionalnom (2,8 mg/L) i ekološkom vinu (2,9 mg/L). Njegovo zadržavanje tijekom procesa nanofiltracije je također bilo najveće pri 55 bara s hlađenjem. Zadržavanje većine estera je bilo veće pri višem tlaku i nižoj temperaturi, iako je bilo nekoliko iznimki. Među koncentratima konvencionalnog vina, etil-sukcinat detektiran je samo pri 45 i 55 bara s hlađenjem, gdje je zadržano 27,9 i 30,1% početne koncentracije. Tijekom koncentriranja ekološkog vina, ovaj ester se zadržao samo pri 55 bara s hlađenjem, i to 17,5% početne koncentracije. Slični rezultati dobiveni su za etil-linoleat koji je detektiran samo pri 55 bara s hlađenjem u koncentratima oba vina. Etil-oleat i etil-stearat nisu detektirani niti u jednom

koncentratu vina. Nadalje, zadržavanje etil-vanilata u koncentratima konvencionalnog vina je bilo veće ukoliko hlađenje retentata nije primijenjeno. Zadržavanje etil-miristata i metil-palmitata je bilo veće pri nižim tlakovima, odnosno najveće je bilo pri 25 bara s i bez hlađenja.

Posljednja skupina aromatskih spojeva su hlapivi fenoli, odnosno 4-etilfenol, 4-etilgvajakol i 2,4-di-*tert*-butilfenol. Već je spomenuto da su 4-etilfenol i 4-etilgvajakol indikatori kvarenja i neugodan miris vina ukoliko su prisutni u većim koncentracijama (Kheir i sur., 2013), ali je njihova permeabilnost kroz NF membrane izrazito visoka te se mogu na ovaj reducirati ili ukloniti (Ivić i sur., 2021b). U koncentratima konvencionalnog vina zadržano je manje od 7% početne koncentracije 4-etilfenola i 4-etilgvajakola, odnosno manje od 4% početne koncentracije ovih spojeva u koncentratima ekološkog vina. Povišenje tlaka i sniženje temperature povećavalo je zadržavanje navedenih spojeva. Zadržavanje 2,4-di-*tert*-butilfenola iznosilo je 55% ili više u oba vina, s većim zadržavanjem pri višim tlakovima i nižoj temperaturi.

Početna vina sadržavala su iste aromatske spojeva, ali u različitim koncentracijama. Procesni parametri tijekom nanofiltracije nisu jednako utjecali na zadržavanje pojedinih spojeva u oba vina, što je rezultiralo drugačijim aromatskim profilom. To je vidljivo na PCA biplotu (**Slika 40**). Za izradu PCA analize, svi aromatski spojevi podijeljeni su u 8 skupina na osnovu osnovne aromatske note (miris na mast, zelenilo, cvijeće, citrusi, voće, dim, slab miris i ostalo (aroma octa, karamele, sumpora i meda). PCA biplot podijeljen je na četiri kvadranta pomoću dvije glavne komponente: prva glavna komponenta (PC1) na koju otpada 88,64% i druga glavna komponenta (PC2) na koju otpada 5,80% ukupne varijance. PC1 razdvaja konvencionalno vino (negativna strana) od ekološkog vina (pozitivna strana). Vidljivo je da se aromatski profili početnih vina u potpunosti razlikuju jer se nalaze u suprotnim kvadrantima. Međutim, nakon procesa nanofiltracije, aromatski profil oba vina se promijenio te su dobiveni koncentrati sa sličnijim aromatskim profilima, dok su najveće razlike među njima bile rezultat različitih primijenjenih procesnih parametara. Stoga, koncentrati konvencionalnog i ekološkog vina dobiveni pri 45 i 55 bara s hlađenjem te 55 bara bez hlađenja nalaze se na pozitivnoj strani PC2. Koncentrati oba vina dobiveni pri 25 bara s hlađenjem te 25 i 35 bara bez hlađenja smješteni su na negativnoj strani PC2. Ostali koncentrati su smješteni između gore navedenih, vrlo blizu jedni drugima.

5.2.4. Utjecaj procesnih parametara na sastav fenolnih spojeva i antioksidacijsku aktivnost

U **Tablicama 51** i **52** prikazan je sadržaj ukupnih polifenola, flavonoida i monomernih antocijana te udio polimerne boje u početnom konvencionalnom i ekološkom vinu i njihovim NF koncentratima dobivenim pri različitim tlakovima s i bez hlađenja. Vidljivo je da je proces nanofiltracije rezultirao sniženjem koncentracije ukupnih polifenola, flavonoida i monomernih

antocijana tijekom koncentriranja oba vina. Početna koncentracija ukupnih polifenola iznosila je 3,19 g/L u konvencionalnom i 3,34 g/L u ekološkom vinu. Zadržavanje ukupnih polifenola tijekom koncentriranja konvencionalnog vina je bilo veće ukoliko se primijenio viši radni tlak, a najveće vrijednosti izmjerene su pri 45 i 55 bara s i bez hlađenja (od 2,40 do 2,49 g/L), bez statistički značajne razlike među vrijednostima. Najviša koncentracija ukupnih polifenola među NF koncentratima ekološkog vina izmjerena je u onima dobivenim pri 55 bara s i bez hlađenja (u prosjeku 2,79 g/L). Promjena temperaturnog režima nije imala značajan utjecaj na zadržavanje ukupnih polifenola tijekom koncentriranja oba vina. U koncentratima oba vina dobivenim pri 25 bara s i bez hlađenja izmjerene su najniže koncentracije ukupnih polifenola.

Iz rezultata je vidljivo da je tijekom koncentriranja oba vina nanofiltracijom došlo i do sniženja koncentracije ukupnih flavonoida. Među koncentratima konvencionalnog vina, najveće njihovo zadržavanje zabilježeno je pri 45 i 55 bara s hlađenjem (84,5% početne koncentracije od 1,55 g/L), a najniže pri 25 i 35 bara s i bez hlađenja (oko 76,8% početne koncentracije bez statistički značajne razlike među uzorcima). Povišenje temperature u procesima bez hlađenja rezultiralo je za 4,5% manjim zadržavanjem ukupnih flavonoida pri tlakovima 45 i 55 bara, u usporedbi s procesima s hlađenjem. Među koncentratima ekološkog vina, najveće zadržavanje ukupnih flavonoida zabilježeno je pri 45 i 55 bara bez obzira na temperaturni režim (89,3% početne koncentracije od 1,64 g/L), a najmanje pri 25 bara bez hlađenja (70,1% početne koncentracije).

Sadržaj antocijana u početnom konvencionalnom i ekološkom vino iznosio je 151,41 i 103,83 mg/L. Nakon nanofiltracije, njihova koncentracija se snizila, ali je zadržavanje bilo veće ukoliko je primijenjen viši radni tlak. Stoga, najveće zadržavanje zabilježeno je pri 55 bara s hlađenjem (124,12 g/L u koncentratu konvencionalnog i 99,24 g/L u koncentratu ekološkog vina). Povišenje temperature u procesima bez hlađenja rezultiralo je manjim zadržavanjem antocijana u odnosu na procese s hlađenjem pri istim radnim tlakovima. Banvolgyi i sur. (2016) su u svom istraživanju utjecaja temperature na resveratrol i antocijane tijekom koncentriranja vina nanofiltracijom zaključili da niže temperature (npr. 20 °C) rezultiraju većim zadržavanjem navedenih komponenti u odnosu na više temperature (40 °C).

Početni udio polimerne boje (61,50% u konvencionalnom i 68,62% u ekološkom vinu) se nije značajno promijenio nakon procesa nanofiltracije s hlađenjem, bez obzira na primijenjeni radni tlak. Međutim, procesi bez hlađenja rezultirali su povećanjem udjela polimerne boje za oko 2% u koncentratima oba vina, bez značajne razlike s obzirom na primijenjeni radni tlak.

Koncentracije pojedinih fenolnih spojeva (galne, kafeinske, kaftarne kiseline, (+)-katehina, (−)-epikatehina, rutina, kvercetina i njegova dva derivata te malvidin 3-glukozida i njegovog derivata) u početnom konvencionalnom i ekološkom vinu te njihovim NF koncentratima prikazani su u **Tablicama 53** i **54**. Vidljivo je da je proces koncentriranja oba vina

nanofiltracijom rezultirao određenim gubitkom fenolnih spojeva, a zadržavanje je ovisilo o primijenjenim procesnim parametrima i tipu početnog vina. Tijekom koncentriranja konvencionalnog vina, povišenje radnog tlaka i sniženje temperature pogodovalo je zadržavanju fenolnih spojeva, pa je najveće zadržavanje fenolnih spojeva zabilježeno je pri 55 bara s hlađenjem. Tijekom procesa bez hlađenja, najveće zadržavanje fenolnih spojeva zabilježeno je pri tlaku od 45 bara. Među svim koncentratima konvencionalnog vina, u onome dobivenom pri 55 bara s hlađenjem, zadržavanje (−)-epikatehina iznosilo je 100% početne koncentracije. Također, u tom koncentratu zadržano je više od 90% kaftarne kiseline, derivata kvercetina 2, malvidin 3-glukozida i njegovog derivata. Najmanje zadržavanje kvercetina tijekom koncentriranja konvencionalnog vina zabilježeno je u procesima bez hlađenja (6,8% početne koncentracije), posebice pri nižem tlaku. S druge strane, s obzirom na početnu koncentraciju, zabilježeno je blago povišenje koncentracije rutina nakon koncentriranja konvencionalnog vina nanofiltracijom pri svim tlakovima s i bez hlađenja, izuzev pri 25 bara bez hlađenja, gdje se koncentracija nije značajno promijenila.

U koncentratima ekološkog vina, najmanje zadržavanje je zabilježeno pri nižim tlakovima, posebice 25 bara bez hlađenja. Najveće zadržavanje galne kiseline, (+)-katehina i (−)-epikatehina zabilježeno je pri 55 bara s hlađenjem (redom 68,3%; 86,9% i 76,3% početne koncentracije), što znači da povišenje radnog tlaka i hlađenje retentata pogoduje njihovom zadržavanju. Zadržavanje ostali fenolnih spojeva u ekološkom vinu nije uvijek pratilo navedeni trend. Na primjer, najveće zadržavanje kafeinske kiseline i malvidin 3-glukozida (72,4% i 65,5% početne koncentracije) postignuto je pri 45 i 55 bara bez hlađenja, a između tih vrijednosti nije bilo statistički značajne razlike. Nadalje, najveće zadržavanje rutina i derivata kvercetina 1 (84,3% i 63,6% početne koncentracije) zabilježeno je pri 35, 45 i 55 bara bez hlađenje, a između tih vrijednosti nije bilo statistički značajne razlike. Koncentracija kvercetin derivata 2 u početnom ekološkom vinu bila je 1,20 mg/L, a nakon procesa nanofiltracije snizila se na oko 0,99 mg/L u svim koncentratima bez obzira na tlak i temperaturu, izuzev pri 25 bara bez hlađenja, gdje je njegova koncentracija bila 0,89 mg/L. Promjena tlaka nije imala značajan utjecaj na zadržavanje malvidin 3-glukozida i njegovog derivata tijekom procesa s hlađenjem, dok je povišenje temperature u procesima bez hlađenja rezultiralo nešto većim zadržavanjem navedenih spojeva, posebno pri višim tlakovima. Početno ekološko vino sadržavalo je 3,57 mg/L kvercetina, ali taj spoj nije detektiran niti u jednom NF koncentratu, bez obzira na tlak i temperaturu.

López-Munoz i sur. (López-Muñoz i sur., 2009) su u svom istraživanju pokazali da pH vrijednost vodene otopine koja se koncentrira uvelike utječe na zadržavanje pojedinih fenolnih spojeva, budući da ona utječe na površinski aktivni sloj membrane (izoelektrična točka) i disocijaciju fenolnih spojeva. Također, zadržavanje fenolnih spojeva tijekom procesa

nanofiltracije ovisi o njihovim interakcijama i adsorpciji na površinu membrane koja se odvija pomoću vodikovih veza (Arsuaga i sur., 2010).

U ovom radu, u svrhu boljeg prikaza promjene fenolnog profila nakon nanofiltracije i razlike između koncentrata konvencionalnog i ekološkog vina, napravljena je PCA analiza (**Slika 41**). Svi fenolni spojevi podijeljeni su u četiri skupine (antocijani, flavan-3-oli, fenolne kiseline i flavonoidi) te je izračunata njihova ukupna koncentracija. Prva glavna komponenta (PC1) predstavlja 83,31% ukupne varijance, a druga glavna komponenta (PC2) 12,45% ukupne varijance. PC1 razdvaja uzorke na osnovu primijenjenih procesnih parametara, dok ih PC2 razdvaja na konvencionalno vino i koncentrate (pozitivna strana) te ekološko vino i koncentrate (negativna strana). Vidljivo je da je razlika u fenolnom profilu početnog konvencionalnog i ekološkog vina značajna te da je nakon nanofiltracije došlo do određene izmjene fenolnog profila oba vina. Svi koncentrati ekološkog vina smješteni su u kvadrantu na negativnoj strani PC1 i PC2, s vrlo malim razlikama s obzirom na primijenjene procesne parametre. S druge strane, značajne razlike su vidljive među koncentratima konvencionalnog vina s obzirom na primijenjeni tlak i temperaturu. Koncentrati konvencionalnog vina dobiveni pri 25, 35 i 55 bara bez hlađenja smješteni su na negativnoj strani, dok su ostali smješteni na pozitivnoj strani PC1. Svi koncentrati konvencionalnog vina smješteni su na pozitivnoj strani PC2. Vidljivo je da je zadržavanje fenolnih spojeva tijekom koncentriranja konvencionalnog vina bilo veće u odnosu na ekološko vino. To se posebice odnosi na koncentrat konvencionalnog dobiven pri 55 bara s hlađenjem, gdje su se dogodile najmanje promjene fenolnog profila u odnosu na početno konvencionalno vino. Taj koncentrat je smješten najbliže početnom konvencionalnom vinu na PCA biplotu.

Sastav fenolnih spojeva u vinima usko je vezan uz antioksidacijsku aktivnost vina, pa je u **Tablicama 55** i **56** prikazana antioksidacijska aktivnost analiziranih vina i NF koncentrata određena pomoću četiri metode: DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC. Iz rezultata je vidljivo da je nakon koncentriranja vina nanofiltracijom došlo do smanjenja svih izmjerenih vrijednosti antioksidacijske aktivnosti. Antioksidacijska aktivnost koncentrata vina ovisila je o primijenjenim procesnim parametrima. Najveća antioksidacijska aktivnost određene DPPH i CUPRAC metodom izmjerena je pri 55 bara s hlađenjem (9,87 i 158,23 μmol/100 mL u koncentratu konvencionalnog te 11,15 i 149,84 μmol/100 mL u koncentratu ekološkog vina). Tlakovi od 45 i 55 bara u procesima s hlađenjem rezultirali su najvećom antioksidacijskom aktivnosti određenom ABTS metodom u koncentratima oba vina (25,77 μmol/100 mL u koncentratu konvencionalnog te 31,50 μmol/100 mL u koncentratu ekološkog vina). FRAP metodom određeno je da je najveća antioksidacijska aktivnost izmjerena pri 55 bara s i bez hlađenja u koncentratu konvencionalnog (2,62 μmol/100 mL) i ekološkog (2,66 μmol/100 mL) vina.

U usporedbi s početnim vinima, antioksidacijska aktivnost koncentrata oba vina smanjila se za 5 do 80%, ovisno o primijenjenom tlaku i temperaturi te tipu početnog vina. Najmanje smanjenje vrijednosti antioksidacijske aktivnosti izmjereno je ABTS metodom u koncentratu ekološkog vina pri 45 i 55 bara s hlađenjem (5,85% početne vrijednosti). Najveće smanjenje antioksidacijske vrijednosti izmjereno je DPPH metodom pri 25 bara bez hlađenja u koncentratu konvencionalnog (79,83% početne vrijednosti) i ekološkog (60,95% početne vrijednosti) vina. Smanjenje antioksidacijske aktivnosti u NF koncentratima oba vina odgovara sniženju koncentracije ukupnih polifenola, flavonoida i monomernih antocijana. To je vidljivo iz **Tablice 57**, gdje su prikazani koeficijenti korelacije između navedenih skupina fenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti određene pomoću DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metode. Vrijednosti koeficijenta korelacije se kreću između 0,759 i 0,983, što upućuje na snažnu linearnu povezanost između antioksidacijske aktivnosti i ukupnih polifenola, flavonoida i monomernih antocijana. To znači da je veće zadržavanje ukupnih fenolnih spojeva tijekom procesa nanofiltracije rezultiralo većom antioksidacijskom aktivnosti u koncentratima, i obrnuto. Viši tlak i niža temperatura pogodovali su većem zadržavanju ukupnih fenolnih spojeva, a to se podudara i s većom antioksidacijskom aktivnošću u koncentratima dobivenim pri istim procesnim parametrima.

5.2.5. Utjecaj procesnih parametara na boju

Parametri boje (L*, a*, b*, C*, °h i ΔE*) početnog konvencionalnog i ekološkog vina te njihovih koncentrata dobivenih nanofiltracijom pri 25, 35, 45 i 55 bara s i bez hlađenja prikazani su u **Tablicama 58** i **59**. Iz rezultata je vidljivo da se početna vrijednost svjetline (L*) u oba vina (19,70) blago povećala nakon procesa nanofiltracije, bez značajne razlike među koncentratima s obzirom na primijenjeni tlak i temperaturu. Nešto veća L* vrijednost izmjerena je u koncentratima ekološkog vina (u prosjeku 20,31) nego u koncentratima konvencionalnog vina (u prosjeku 19,99). Početna a* vrijednost se nije promijenila tijekom nanofiltracije s hlađenjem, a blago se smanjila tijekom procesa bez hlađenja tijekom koncentriranja oba vina, bez značajne razlike među tlakovima. Što se tiče b* vrijednosti, ona se nije promijenila niti u jednom NF koncentratu oba vina, u usporedbi s odgovarajućim početnim vinom. Ton boje (°h) u početnom ekološkom vinu iznosio je 33,54 te se blago smanjio nakon procesa nanofiltracije, bez značajne razlike među koncentratima s obzirom na procesne parametre. U početnom konvencionalnom vinu ton boje iznosio je 35,80. Nakon procesa nanofiltracije, ta vrijednost se smanjila, s tim da su najveće vrijednosti izmjerene u koncentratima dobivenim pri 45 i 55 bara s i bez hlađenja. Zasićenost boje (C*) je bila veća u NF koncentratima konvencionalnog vina nego u početnom vinu, a najveća vrijednost izmjerena je pri 45 i 55 bara bez hlađenja. Najveća C* vrijednost među koncentratima ekološkog vina izmjerena je pri 45 i 55 bara s i bez hlađenja.

Vrijednost ΔE* predstavlja ukupnu razliku boje između koncentrata i odgovarajućeg početnog vina. Sličan trend zabilježen je tijekom koncentriranja oba vina: nešto manje ΔE* vrijednosti izračunate su za koncentrate dobivene pri 25, 35 i 45 bara s hlađenjem, dok među ostalim koncentratima nije bilo značajne razlike s obzirom na primijenjeni tlak i temperaturu. Među koncentratima konvencionalnog vina, najveće ΔE* vrijednost zabilježena je pri 55 bara bez hlađenja. Dvostruko veće vrijednosti ΔE* izmjerene su u koncentratima ekološkog vina (u prosjeku 0,31) u odnosu na koncentrate konvencionalnog vina (u prosjeku 0,62). Međutim, ΔE* vrijednost je za sve koncentrate iznosila manje od 1,00, što znači da golim oko razlike u boji nisu vidljive.

5.3. USPOREDBA MEMBRANSKIH PROCESA

Tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog vina reverznom osmozom i nanofiltracijom praćen je utjecaj različitog radnog tlaka (25, 35, 45 i 55 bara) i temperaturnog režima (s i bez hlađenja) na protok permeata, kemijski sastav, aromatski profil i bioaktivne komponente koncentrata. Iz rezultata je vidljivo da je zadržavanje pojedinih spojeva ovisilo o brojnim čimbenicima, a posebice o primijenjenim procesnim parametrima i tipu vina koje se koncentrira. Međutim, postoje i značajne razlike između reverzne osmoze i nanofiltracije što se tiče zadržavanja pojedinih spojeva, budući da su karakteristike membrana za ta dva procesa različite. Pore membrana za nanofiltracije se obično kreću oko 1 nm, odnosno vrijednost MWCO iznosi od 200 do 1000 Da (najčešće oko 500 Da), dok ta vrijednost kod membrana za reverznu osmozu obično ne prelazi 200 Da, što ovisi o proizvođaču i tipu materijala od kojeg se membrana izrađuje (Bellona, 2019).

U svrhu usporedbe rezultata dobivenih koncentriranjem konvencionalnog i ekološkog vina Cabernet Sauvignon te analizom kemijskog sastava, aromatskog profila i sastava bioaktivnih komponenti početnih vina i koncentrata, napravljene su **Slike 42-55**.

Na **Slici 42** prikazana je usporedba prosječnog protoka dobivenog reverznom osmozom i nanofiltracijom pri 25, 35, 45 i 55 bara s i bez hlađenja. Za oba vina dobiveni su isti rezultati te su iz tog razloga prikazani samo jedni. Sa slike je vidljivo da je veći prosječni protok (za 10 do 16 L/m^{2}h, ovisno o primijenjenom tlaku i temperaturi) postignut tijekom procesa nanofiltracije nego tijekom procesa reverzne osmoze pri oba temperaturna režima i istim tlakovima. Kod oba procesa, temperaturni režim bez hlađenja rezultirao je većim prosječnim protokom pri istim radnim tlakovima. Na **Slici 43** prikazana je usporedba konačne temperature koncentrata dobivenih reverznom osmozom i nanofiltracijom pri različitim procesnim parametrima. Vidljivo je da je da su kod oba procesa više konačne temperature postignute nakon procesa bez hlađenja, u odnosu na one s hlađenjem. Međutim, nakon procesa reverzne osmoze konačna

temperatura koncentrata bila je viša (za 5 do 9 °C, ovisno o primijenjenom radnom tlaku i temperaturnom režimu) nego nakon nanofiltracije, uspoređujući oba temperaturna režima i iste tlakove. Usporedba vremena trajanja jednog i drugog procesa tijekom koncentriranja oba crna vina prikazana je na **Slici 44**. Reverzna osmoza trajala je znatno duže (24 do 156 minuta duže, ovisno o primijenjenom tlaku i temperaturi) nego nanofiltracija, uspoređujući iste procesne parametre. Temperaturni režim s hlađenjem rezultirao je produženjem trajanja oba procesa, posebice kod reverzne osmoze, u odnosu na režim bez hlađenja, što je posljedica smanjenog protoka permeata. Kod oba procesa, tlak od 55 bara rezultirao je najvećim prosječnim protokom permeata, konačnom temperaturom koncentrata te najkraćim vremenom trajanja, posebno ukoliko hlađenje nije primijenjeno. Sniženjem radnog tlaka smanjivao se prosječni protok permeata i temperatura koncentrata, a produžilo vrijeme trajanja procesa.

Na **Slici 45** prikazana je usporedba zadržavanja etanola i glicerola u koncentratima konvencionalnog i ekološkog vina nakon procesa reverzne osmoze i nanofiltracije pri različitim procesnim parametrima. Vidljivo je da je zadržavanje etanola kod oba procesa bilo približno jednako (oko 50% ili manje), a razlike se najviše očituju pri tlakovima od 45 i 55 bara s hlađenjem kod oba vina (nešto veće zadržavanje kod reverzne osmoze). S druge strane, značajno veće (18 do 34%, ovisno o tlaku i temperaturi) zadržavanje glicerola postignuto je reverznom osmozom nego nanofiltracijom kod oba vina. Što se tiče zadržavanja šećera u koncentratima (**Slika 46**), razlike između reverzne osmoze i nanofiltracije nisu velike (ispod 5%), ali je veće zadržavanje šećera ostvareno tijekom oba procesa kod ekološkog vina (više od 90%) nego kod konvencionalnog vina (do najviše 83%). Tijekom koncentriranja ekološkog vina, reverznom osmozom i nanofiltracijom postignuto je približno jednako zadržavanje CO_2 (do 40%), ali znatno manje u odnosu na zadržavanje CO_2 u koncentratima konvencionalnog vina. Tijekom koncentriranja konvencionalnog vina, reverzna osmoza se pokazala učinkovitijom za zadržavanje CO_2 nego nanofiltracija, izuzev pri 25 i 35 bara s hlađenjem. Na **Slici 47** vidljivo je da je reverznom osmozom postignuto veće zadržavanje mliječne kiseline nego nanofiltracijom kod oba vina. Jabučna kiselina se bolje zadržala tijekom procesa nanofiltracije, izuzev pri 25 bara bez hlađenja tijekom koncentriranja konvencionalnog vina, gdje se reverzna osmoza pokazala boljom. Zadržavanje vinske kiseline (**Slika 48**) tijekom oba vina je bilo gotovo 100% u svim koncentratima, posebice u koncentratima ekološkog vina. Na navedenoj slici vidljivo je da je zadržavanje limunske kiseline bilo približno kod reverzne osmoze i nanofiltracije, s tim da je reverznom osmozom postignuto nešto veće zadržavanje tijekom procesa bez hlađenja kod oba vina. Tijekom koncentriranja ekološkog vina reverznom osmozom i nanofiltracijom, postignuto je veće zadržavanje limunske kiseline nego u koncentratima konvencionalnog vina. Zadržavanje sorbinske kiseline je bilo izrazito nisko kod oba procesa i oba vina, ali je nešto veće zadržavanje postignuto reverznom osmozom,

posebice tijekom koncentriranja konvencionalnog vina. Koncentrati ekološkog vina dobiveni nanofiltracijom rezultirali su njenim potpunim gubitkom, kao i većina koncentrata ekološkog vina dobivenih reverznom osmozom (izuzetak su oni dobiveni pri 55 bara s i bez hlađenja).

Na **Slici 49** prikazana je usporedba zadržavanja kalija i broma u koncentratima tijekom koncentriranja reverznom osmozom i nanofiltracijom. Reverzna osmoza se pokazala učinkovitijom za zadržavanja oba navedena elementa, posebice za zadržavanje broma, čija je koncentracija viša u koncentratima nego u početnim vinima, te kalija u konvencionalnom vinu, čija se koncentracija, također, povisila nakon reverzne osmoze. Na **Slici 50** prikazana je usporedba zadržavanja mangana, željeza, bakra, cinka i stroncija. Navedenim elementima je zajedničko to da je za njihovo zadržavanje bila učinkovitija nanofiltracija tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog vina. Uspoređujući dva vina, zadržavanje navedenih elemenata tijekom koncentriranja oba vina reverznom osmozom je bilo približno jednako (izuzev zadržavanja stroncija koje je pri 55 bara s hlađenjem bilo znatno veće u koncentratu konvencionalnog vina). Tijekom koncentriranja oba vina nanofiltracijom, zadržavanje navedenih elemenata (izuzev željeza) je bilo nešto veće u koncentratima konvencionalnog vina u odnosu na koncentrate ekološkog vina, posebice tijekom procesa s hlađenjem. Zadržavanje kalcija, rubidija i olova (**Slika 51**) je pri određenim procesnim parametrima bilo veće tijekom nanofiltracije, a pri suprotnim parametrima kod reverzne osmoze. Zadržavanje rubidija je bilo veće tijekom nanofiltracije nego tijekom reverzne osmoze kod konvencionalnog vina, dok je kod ekološkog vina situacija obrnuta. Zadržavanje kalcija je bilo nešto veće tijekom koncentriranja oba vina nanofiltracijom, iako pri određenim parametrima (npr. 35, 45 i 55 bara s hlađenjem kod ekološkog vina) veći postotak zadržavanja postignut je nanofiltracijom. Veći postotak zadržavanja olova postignut je nanofiltracijom tijekom koncentriranja ekološkog vina pri oba temperaturna režima te konvencionalnog vina u procesima bez hlađenja.

Usporedba aromatskog profila koncentrata dobivenih koncentriranjem konvencionalnog i ekološkog vina reverznom osmozom i nanofiltracijom prikazana je na **Slikama 52** i **53**. Zadržavanje kiselina (**Slika 52**) u koncentratima bilo je podjednako tijekom oba procesa, ali nešto veće tijekom koncentriranja konvencionalnog vina, u odnosu na ekološko (za 12 do 23%). Na navedenoj slici prikazana je i usporedba zadržavanja karbonilnih spojeva i estera tijekom koncentriranja crnog vina reverznom osmozom i nanofiltracijom. Za zadržavanje estera, reverzna osmoza se pokazala učinkovitijom kod oba vina, kao i za zadržavanje karbonilnih spojeva tijekom koncentriranja ekološkog vina. Zadržavanje karbonilnih spojeva u koncentratima konvencionalnog vina bilo je podjednako tijekom oba procesa. Na **Slici 53** prikazana je usporedba zadržavanja alkohola, terpena te hlapivih fenola u koncentratima dobivenim reverznom osmozom i nanofiltracijom. Za zadržavanje alkohola i hlapivih fenola učinkovitija se pokazala reverzna osmoza, u odnosu na nanofiltraciju, dok je zadržavanje

terpena bilo približno jednako kod oba procesa te nešto više u koncentratima konvencionalnog vina.

Usporedba zadržavanja flavonoida i antocijana tijekom reverzne osmoze i nanofiltracije prikazana je na **Slici 54**. Kod oba vina, reverzna osmoza se pokazala učinkovitijom za zadržavanje flavonoida (do 35%) i antocijana (do 30%). Zadržavanje fenolnih kiselina i flavan-3-ola (**Slika 55**) je, također, bilo veće tijekom reverzne osmoze kod oba vina, izuzev pri 35, 45 i 55 bara s hlađenjem tijekom koncentriranja konvencionalnog vina, pri čemu je postignuto veće zadržavanje flavan-3-ola procesom nanofiltracije.

6. ZAKLJUČCI

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

1. Koncentriranje konvencionalnog i ekološkog vina Cabernet Sauvignon reverznom osmozom i nanofiltracijom bilo je moguće provesti do određenog volumena retentata (1,3 L) i permeata (1,7 L).

2. Tijekom oba navedena procesa, primijenjeni procesni parametri (tlak i temperatura) imali su značajan utjecaj na kvalitetu i sastav koncentrata te zadržavanje aromatskih i bioaktivnih komponenti.

3. Procesni parametri utjecali su i na protok permeata: niži radni tlak i primjena hlađenja rezultirali su manjim protokom permeata, u usporedbi sa suprotnim procesnim parametrima.

4. Različit promjer pora, odnosno MWCO vrijednost membrana, utjecala je na zadržavanje pojedinih spojeva i protok permeata.

5. Niži protok permeata zbog nižeg primijenjenog tlaka rezultirao je dužim trajanjem procesa. Pri istom radnom tlaku, procesi s hlađenjem trajali su nešto duže nego procesi bez hlađenja.

6. Sniženje radnog tlaka i primjena hlađenja rezultirali su nižom konačnom temperaturom koncentrata nego suprotni procesni parametri. Primjenom viših tlakova razvija se viša temperatura u sustavu koju je poželjno odvoditi kako bi se spriječila termalna degradacija sastojaka vina.

7. Tijekom koncentriranja crnog vina reverznom osmozom i nanofiltracijom dolazi do pada protoka permeata uslijed povećanja viskoznosti retentata, začepljenja membrane, polarizacije koncentracije i osmotskog tlaka na površini membrane.

8. Nakon koncentriranja konvencionalnog i ekološkog vina, dobiveni koncentrati imali su djelomično izmijenjen kemijski sastav, aromatski i fenolni profil, što znači da je tijekom procesa koncentriranja vina došlo do određenog gubitka pojedinih spojeva.

9. Ovisno o tipu vina i skupini spojeva koja se promatra, reverzna osmoza i nanofiltracija imaju različitu učinkovitost na zadržavanje. Ono što je zajedničko za oba procesa je to da općenito viši radni tlak i hlađenje retentata pogoduju zadržavanju aromatskih spojeva i bioaktivnih komponenti.

10. Udio etanola smanjen je za 50% i više tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog vina reverznom osmozom i nanofiltracijom, što daje mogućnost primjene ovih procesa za djelomičnu dealkoholizaciju crnog vina ili korekciju udjela etanola.

11. Tip početnog vina utjecao je na zadržavanje pojedinih spojeva. Sadržaj reducirajućih šećera je ostao gotov nepromijenjen tijekom koncentriranja ekološkog vina, dok je tijekom koncentriranja konvencionalnog vina došlo do manjih gubitaka.

12. Zadržavanje ukupnih kiselina tijekom koncentriranja oba vina bilo je veće ukoliko je primijenjen viši radni tlak i hlađenje retentata. Zadržavanje pojedinih kiselina ovisilo je o primijenjenim procesnim parametrima, tipu vina koje se koncentrira te tipu procesa kojim se koncentrira (reverzna osmoza ili nanofiltracija).

13. Nakon koncentriranja reverznom osmozom, u koncentratima oba vina sadržaj jabučne, mliječne, limunske i sorbinske kiseline je bio niži od sadržaja u pripadajućem početnom vinu. Sadržaj vinske kiseline je u svim koncentratima ostao gotovo nepromijenjen. Svi koncentrati su imali približno jednaku pH vrijednost koja je nešto manja u odnosu na početno vino.

14. Sadržaj elemenata u tragovima se nakon koncentriranja oba vina reverznom osmozom i nanofiltracijom promijenio. Došlo je do gubitka većine elemenata, a njihovo zadržavanje je ovisilo o primijenjenom tlaku, temperaturi i tipu vina. Koncentracije kalija u koncentratima konvencionalnog vina te koncentracije broma u koncentratima oba vina, nakon koncentriranja reverznom osmozom i nanofiltracijom ostale su nepromijenjene ili su se povisile, u usporedbi s početnom koncentracijom.

15. Tijekom koncentriranja konvencionalnog i ekološkog vina reverznom osmozom i nanofiltracijom došlo je do određenog gubitka aromatskih spojeva, što je rezultiralo promjenom cjelokupnog aromatskog profila koncentrata, u odnosu na početno vino.

16. Zadržavanje skupina aromatskih spojeva (kiselina, alkohola, karbonilnih spojeva, terpena, estera i hlapivih fenola) se povećavalo s povišenjem radnog tlaka i sniženjem temperature. Najbolji se u tom smislu pokazao proces reverzne osmoze i nanofiltracije proveden pri 55 bara s hlađenjem.

17. Zadržavanje pojedinačnih aromatskih spojeva nije uvijek pratilo navedeni trend, a ovisilo je o primijenjenim procesnim parametrima, tipu vina, primijenjenom procesu koncentriranja, karakteristikama promatranog spoja, začepljenju membrane.

18. Najveći gubitak među svim aromatskim spojevima zabilježen je za octenu kiselinu, koja nije detektirana niti u jednom koncentratu dobivenom nanofiltracijom, a među koncentratima dobivenim reverznom osmozom detektirana je samo pri 55 bara s hlađenjem. Time se može zaključiti da su reverzna osmoza i nanofiltracija pogodni za korekciju udjela octene kiseline u crnim vinima.

19. Među svim navedenim aromatskim skupinama spojeva, esteri su predstavljali najbrojniju skupinu s 19 identificiranih spojeva. Za njih je zabilježen i najveći postotak zadržavanja

tijekom koncentriranja oba vina reverznom osmozom (48 do 83%). Nanofiltracijom je zadržano 40 do 70% početne koncentracije ukupnih estera u svim koncentratima.

20. Skupina viših alkohola kvantitativno je bila najveća, budući da toj skupini pripadaju izoamilni alkohol i 2-feniletanol čije su koncentracije izrazito visoke. Nakon reverzne osmoze i nanofiltracije, došlo je do sniženja koncentracije ukupnih alkohola u koncentratima oba vina, ali i do potpunog gubitka pojedinih viših alkohola (metionola kod oba procesa te benzilnog alkohola kod nanofiltracije).

21. Najveći gubitci zabilježeni su za aromatske skupine viših alkohola (10 do 55%) i kiselina (10 do 48%) tijekom procesa nanofiltracije. Vrlo slični rezultati dobiveni su i za reverznu osmozu. Veće zadržavanje kiselina i alkohola zabilježeno je tijekom koncentriranja konvencionalnog vina reverznom osmozom i nanofiltracijom nego tijekom koncentriranja ekološkog vina.

22. Zadržavanje ukupnih terpena nije prelazilo 50% početne koncentracije, dok je zadržavanje karbonilnih spojeva bilo znatno veće, posebice tijekom koncentriranja ekološkog vina reverznom osmozom, i to pri 55 bara s hlađenjem (80% početne koncentracije).

23. Pored 2,4-di-*tert*-butilfenola, skupini hlapivih fenola pripadaju i 4-etilfenol te 4-etilgvajakol koji u visokim koncentracijama mogu negativno utjecati na aromu vina te ih je poželjno ukloniti. Konvencionalno i ekološko vino sadržavali su ta dva navedena spoja, s tim da je samo 4-etilgvajakol prelazi dozvoljenu graničnu vrijednost. Nakon procesa reverzne osmoze i nanofiltracije, došlo je do značajnog sniženja koncentracije oba navedena spoja. Time se može zaključiti da se reverzna osmoza i nanofiltracija mogu koristiti za njihovu korekciju u crnom vinu.

24. Početno konvencionalno i ekološko vino sadržavali su iste tipove aromatskih spojeva, ali različite koncentracije, što je rezultiralo potpuno drugačijim aromatskim profilom.

25. Što se tiče bioaktivnih komponenti, koncentracije ukupnih polifenola i flavonoida su bile približne u oba vina, s tim da je koncentracija monomernih antocijana bila viša u početnom konvencionalnom vinu, a udio polimerne boje veći u početnom ekološkom vinu.

26. Zadržavanju ukupnih polifenola, flavonoida i monomernih antocijana pogodovao je viši radni tlak, posebice 55 bara, te hlađenje retentata. Udio polimerne boje se povećao tijekom koncentriranja reverznom osmozom i nanofiltracijom bez hlađenja.

27. Fenolni spojevi odgovorni su za antioksidacijsku aktivnost vina. Antioksidacijska aktivnost konvencionalnog i ekološkog vina te dobivenih koncentrata izmjerena je pomoću DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC metode, a rezultati su pokazali da su početna vina sadržavala približno jednake vrijednosti antioksidacijske aktivnosti.

28. Nakon koncentriranja oba vina reverznom osmozom i nanofiltracijom došlo je do smanjenja antioksidacijske aktivnosti, što je izravno povezano sa sniženjem koncentracije ukupnih

polifenola, flavonoida i monomernih antocijana, što je pokazano preko koeficijenata korelacije.

29. Koeficijent korelacije kod oba vina i oba procesa upućivao je na pozitivnu linearnu povezanost antioksidacijske aktivnosti i navedenih skupina spojeva, što znači da je su koncentrati dobiveni pri višim tlakovima, posebice 55 bara, uz hlađenje retentata, sadržavali najveće vrijednosti antioksidacijske aktivnosti među koncentratima.

30. Početno konvencionalno i ekološko vino sadržavali su iste tipove fenolnih spojeva (galna, kaftarna, kafeinska, (+)-katehin, (−)-epikatehin, rutin, kvercetin i dva njegova derivata, malvidin 3-glukozid i njegov derivat), ali su njihove koncentracije bile različite, što je rezultiralo različitim fenolnim profilom prema PCA analizi.

31. Prema PCA analizi, fenolni profil oba vina se promijenio nakon koncentriranja reverznom osmozom i nanofiltracijom, posebice tijekom koncentriranja ekološkog vina. Procesni parametri su imali značajniji utjecaj na zadržavanje fenolnih spojeva u koncentratima konvencionalnog vina, u odnosu na ekološko, a najbolji se pokazao proces pri 55 bara s hlađenjem.

32. Pored procesnih parametara, na zadržavanje pojedinih fenolnih spojeva utjecao je i tip vina, karakteristike membrana (promjer pora, začepljenje, polarnost), svojstva promatranog spoja (molekulska masa, polarnost, afinitet za vezanje s drugim spojevima ili dijelovima membrane). Iz tih razloga, zadržavanje pojedinih spojeva u koncentratima vina nije uvijek pratilo isti trend.

33. S obzirom na početnu koncentraciju, nakon reverzne osmoze i nanofiltracije došlo je do sniženja koncentracije svih fenolnih spojeva, izuzev rutina, čija se koncentracija nije promijenila ili se povisila u koncentratima konvencionalnog vina dobivenih reverznom osmozom i nanofiltracijom.

34. Među svim identificiranim spojevima, jedino kvercetin nije detektiran u koncentratima ekološkog vina dobivenim nanofiltracijom pri svim procesnim parametrima te reverznom osmozom pri 25, 35 i 45 bara bez hlađenja.

35. Prema CIELab sustavu, u koncentratima oba vina dobivenim reverznom osmozom i nanofiltracijom nije došlo do značajne promjene boje, odnosno promjena nije vidljiva golim okom ($\Delta E^* < 1$).

7. LITERATURA

Alpeza I: Temelji kemijskog sastava vina. *Glasnik Zaštite Bilja* 31(6):143–150, 2008.

Andersen OM i Jordheim M: The anthocyanins. U Andersen OM i Markham KR (ur.): *Flavonoids chemistry, biochemistry and applications,* pp. 4925–4934, CRC Press, Taylor and Francis, Boca Raton, SAD, 2006.

Andries MT, Catalin IZ, Luchian CE, Niculaua M, Cintia C, Odageriu G, Focea MC i Cotea VV: Reverse osmosis influence over the content of metals and organic acids in low alcoholic beverages. *BIO Web of Conferences* 9:1–5, 2017.

Arboleda Mejia JA, Ricci A, Figueiredo AS, Versari A, Cassano A, Parpinello GP i De Pinho MN: Recovery of Phenolic Compounds from Red Grape Pomace Extract through Nanofiltration Membranes. *Foods* 9(11):1649, 2020.

Arsuaga JM, López-Muñoz MJ i Sotto A: Correlation between retention and adsorption of phenolic compounds in nanofiltration membranes. *Desalination* 250(2):829–832, 2010.

Azabagaoglu MO, Akyol A i Ozay A: The Demand for Organic Wines and Organic Wine Marketing. *Journal of Environmental Protection and Ecology* 8(1):171–178, 2007.

Banvolgyi S, Savaş Bahçeci K, Vatai G, Bekassy S i Bekassy-Molnar E: Partial Dealcoholization of Red Wine by Nanofiltration and its Effect on Anthocyanin and Resveratrol Levels. *Food Science and Technology International 22*:677–687, 2016.

Băra E i Barbu SV: Converting from Conventional to Organic Viticulture in Minis-Maderat Vineyard. *Research Journal of Agricultural Science* 42(3):408–411, 2010.

Bartels C, Wilf M, Casey W i Campbell J: New generation of low fouling nanofiltration membranes. *Desalination* 221(1–3):158–167, 2008.

Bayraktar VN: Organic acids concentration in wine stocks after Saccharomyces cerevisiae fermentation. *Biotechnologia Acta* 6(2):97–106, 2013.

Belda I, Ruiz J, Esteban-Fernández A, Navascués E, Marquina D, Santos A i Moreno-Arribas M: Microbial Contribution to Wine Aroma and Its Intended Use for Wine Quality Improvement. *Molecules* 22(2):189, 2017.

Bellona C: Nanofiltration – Theory and Application J Kucera J (Ed.): *Desalination,* pp. 163–207, Scrivener Publishing LLC, Clarkson University, SAD, 2019.

Benzie IFF i Strain JJ: Ferric Reducing/Antioxidant Power assay: Direct Measure of Total Antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version for Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic Acid Concentration. *Methods in Enzymology* 299:15–27, 1999.

Blesić M, Mijatović D, Radić G i Blesić S: *Praktično vinogradarstvo i vinarstvo.* CRS - Catholic Relief Services, Fojnica, BiH, 2013.

Bogianchini M, Cerezo AB, Gomis A, López F i García-Parrilla MC: Stability, antioxidant activity and phenolic composition of commercial and reverse osmosis obtained dealcoholised wines. *LWT - Food Science and Technology* 44(6):1369–1375, 2011.

Boss P, Pearce A, Zhao Y, Nicholson E, Dennis E i Jeffery D: Potential Grape-Derived Contributions to Volatile Ester Concentrations in Wine. *Molecules* 20(5):7845–7873, 2015.

Brand-Williams W, Cuvelier ME i Berset C: Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT - Food Science and Technology* 28:25–30, 1995.

Bureau S, Baumes R i Razungles A: Effects of wine or bunch shading on the glycosylated flavor-precursors in grapes of Vitis vinifera L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48:1290–1297, 2000a.

Bureau S, Razungles A i Baumes R: The aroma of Muscat of Frontignan grapes: effect of the light environment of vine or bunch on volatiles and glycoconjugates. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80(14):2012–2020, 2000b.

Burin VM, Arcari SG, Costa LLF i Bordignon-Luiz MT: Determination of Some Phenolic Compounds in Red Wine by RP-HPLC: Method Development and Validation. *Journal of Chromatographic Science* 49:647–651, 2011.

Büyüktuncel E, Porgalı E i Çolak C: Comparison of Total Phenolic Content and Total Antioxidant Activity in Local Red Wines Determined by Spectrophotometric Methods. *Food and Nutrition Sciences* 5:1660–1667, 2014.

Cai M, Hou W, Li Z, Lv Y i Sun P: Understanding Nanofiltration Fouling of Phenolic Compounds in Model Juice Solution with Two Membranes. *Food and Bioprocess Technology 10*(12):2123–2131, 2017.

Cai Y-H, Yang XJ i Schäfer AI: Removal of Naturally Occurring Strontium by Nanofiltration/Reverse Osmosis from Groundwater. *Membranes* 10(11):321, 2020.

Calabro V i Basile A: Fundamental membrane processes, science and engineering. U Basile A and Pereira Nunes S (ur.): *Advanced membrane science and technology for sustainable energy and environmental applications,* Woodhead Publishing Limited, Rende, Italy, 2011.

Cassano A, Conidi C i Castro-Muñoz R: Current and Future Applications of Nanofiltration in Food Processing. U *Separation of Functional Molecules in Food by Membrane Technology,* pp. 305–348, Elsevier, 2019.

Catarino M i Mendes A: Dealcoholizing wine by membrane separation processes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 12:330–337, 2011.

Catarino M, Mendes A, Madeira LM i Ferreira A: Alcohol Removal From Beer by Reverse Osmosis. *Separation Science and Technology* 42(13):3011–3027, 2007.

Chakraborty S, Bag BC, DasGupta S, Basu JK i De S: Prediction of Permeate Flux and Permeate Concentration in Nanofiltration of Dye Solution. *Separation and Purification Technology* 35:141–152, 2004.

Cheryan M: Food technology. Membrane separations. U Wilson ID, Adlard ER, Cooke M i Poole CF (ur.): *Encyclopedia of separation science,* Academic Press, New York, SAD,

2000.

Chidi BS, Bauer FF i Rossouw D: Organic acid metabolism and the impact of fermentation practices on wine acidity: a review. *South African Journal of Enology and Viticulture* 39(2):315–329, 2018.

Choi H, Zhang K, Dionysiou DD, Oerther DB i Sorial GA: Influence of cross-flow velocity on membrane performance during filtration of biological suspension. *Journal of Membrane Science* 248:189–199, 2005.

Chui ZF i Muralidhara HS: *Membrane technology. A practical guide to membrane technology and applications in food and bioprocessing.* Elsevier, Burlington, SAD, 2010.

Claus H: Wine fermentation. U *Fermentation,* Vol. 5, Issue 1, MDPI, Švicarska, 2019.

Coskun O: Separation Tecniques: Chromatography. *Northern Clinics of Istanbul* 3(2):156–160, 2016.

Cséfalvay E, Pauer V i Mizsey P: Recovery of copper from process waters by nanofiltration and reverse osmosis. *Desalination* 240(1–3):132–142, 2009.

Cui ZF, Jiang Y i Field RW: Fundamentals of pressure-driven membrane separation processes. U Cui ZF and HS Muralidhara (ur.): *Membrane Technology,* pp. 1–18, Elsevier Ltd., 2010.

Czaplicki S: Chromatography in Bioactivity Analysis of Compounds. U *Column Chromatography,* InTechOpen, Olsztyn, Poland, 2013.

Danisman G, Arslan E i Toklucu AK: Kinetic Analysis of Anthocyanin Degradation and Polymeric Colour Formation in Grape Juice During Heating. *Czech Journal of Food Sciences* 33:103–108, 2015.

de Souza DI, Giacobbo A, da Silva Fernandes E, Rodrigues MAS, de Pinho MN i Bernardes AM: Experimental Design as a Tool for Optimizing and Predicting the Nanofiltration Performance by Treating Antibiotic-Containing Wastewater. *Membranes* 10(7):156, 2020.

Diban N, Athes V, Bes M i Souchon I: Ethanol and Aroma Compounds Transfer Study for Partial Dealcoholization of Wine Using Membrane Contactor. *Journal of Membrane Science* 311(1–2):136–146, 2008.

Dolar D: Utjecaj poroznosti i ostalih karakteristika NF/RO membrana na njihovu separacijsku djelotvornost pri obradi voda. *Doktorski rad.* Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2009.

El Rayess Y, Albasi C, Bacchin P, Taillandier P, Mietton-Peuchot M i Devatine A: Analysis of membrane fouling during cross-flow microfiltration of wine. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 16:398–408, 2012.

Falath W, Sabir A i Jacob KI: Novel reverse osmosis membranes composed of modified PVA/Gum Arabic conjugates: Biofouling mitigation and chlorine resistance enhancement. *Carbohydrate Polymers* 155:28–39, 2017.

Falkenberg AJW: Removal of Alcohol From Beer Using Membrane Processes. *Magistarski rad*. Department of Food Science, University of Copenhagen, Faculty of Science, Kopenhagen, Danska, 2014.

Fernández-Pachón M, Villaño D, García-Parrilla M i Troncoso A: Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition. *Analytica Chimica Acta* 513(1):113–118, 2004.

Francesco C: Taster responses to acidity in white wines. *Magistarski rad.* Instituto superior d agronomia, Lisabon, Portugal, 2017.

Galani-Nikolakaki S, Kallithrakas-Kontos N i Katsanos A: Trace element analysis of Cretan wines and wine products. *Science of The Total Environment* 285(1–3):155–163, 2002.

Gamero Lluna A: Study of the production and release of aromas during winemaking carried out by different Saccharomyces species and hybrids. *Doktorski Rad.* Universidad politecninca de Valencia, Valencija, 2011.

Ganorkar P, Nandane A i Tapre A: Reverse Osmosis for Fruit Juice Concentration – A Review. *Research & Reviews : A Journal of Food Science & Technology* 1:23–36, 2012.

Garaguso I i Nardini M: Polyphenols content, phenolics profile and antioxidant activity of organic red wines produced without sulfur dioxide/sulfites addition in comparison to conventional red wines. *Food Chemistry* 179:336–342, 2015.

Garrido J i Borges F: Wine and grape polyphenols — A chemical perspective. *Food Research International 54*(2):1844–1858, 2013.

Gil M, Estévez S, Kontoudakis N, Fort F, Canals JM i Zamora F: Influence of partial dealcoholization by reverse osmosis on red wine composition and sensory characteristics. *European Food Research and Technology* 237(4):481–488, 2013.

Giovinazzo G, Carluccio MA i Grieco F: Wine Polyphenols and Health. U Mérillon J i Ramawat K (ur.): *Bioactive Molecules in Food. Reference Series in Phytochemistry,* pp. 1135–1155, Springer Nature, Switzerland, 2019.

Giusti MM i Wrolstad RE: Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV - Visible Spectroscopy. U Wrolstad RE and Schwartz SJ (ur.): *Current Protocols in Food Analytical Chemistry,* pp. 5–69, John Wiley & Sons Inc., New York, SAD, 2001.

Gnilomedova NV, Anikina NS i Gerzhikova VG: Profile of sugars in grape-wine system as the identifying indicator of the authenticity of wine products. *Foods and Raw Materials* 6(1):191–200, 2018.

Gonçalves B, Oliveira I, Bacelar E, Morais MC, Aires A, Cosme F, Ventura-Cardoso J, Anjos R i Pinto T: Aromas and Flavours of Fruits. U *Generation of Aromas and Flavours,* InTechOpen, 2018.

Goold HD, Kroukamp H, Williams TC, Paulsen IT, Varela C i Pretorius IS: Yeast's balancing act between ethanol and glycerol production in low-alcohol wines. *Microbial Biotechnology* 10(2):264–278, 2017.

Grainger K i Tattersall H: *Wine Production: Vine To Bottle.* Blackwell Publishin, Pondicherry, India, Oxford, Velika Britanija, 2005.

Gupta D: Methods for determination of antioxidant capacity: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 6(2):546–566, 2015.

Gurak PD, Cabral LMC, Rocha-Leão MHM, Matta VM i Freitas SP: Quality Evaluation of Grape Juice Concentrated by Reverse Osmosis. *Journal of Food Engineering* 96(3):421–426, 2010.

He F, Liang N-N, Mu L, Pan Q-H, Wang J, Reeves MJ i Duan C-Q: Anthocyanins and Their Variation in Red Wines I. Monomeric Anthocyanins and Their Color Expression. *Molecules* 17(2):1571–1601, 2012.

Hernandez LF, Espinosa JC, Fernandez-Gonzalez M i Briones A: Beta-glucosidase activity in a Saccharomyces cerevisiae wine strain. *International Journal of Food Microbiology* 80(2):171–176, 2003.

Hill B, Roger T i Vorhagen FW: Comparative analysis of the quantization of color spaces on the basis of the CIELAB color-difference formula. *ACM Transactions on Graphics* 16(2):109–154, 1997.

Hinková A, Bubník Z, Kadlec P, Pour V i Štarhová H: Membrane Filtration in the Sugar Industry. *Chemical Papers* 54(6):375–382, 2000.

Ho W i Sirkar K: *Membrane handbook.* Van Nostrand Reinhold, New York, SAD, 1992.

Hodson G, Wilkes E, Azevedo S i Battaglene T: Methanol in wine. *BIO Web of Conferences* 9:02028, 2017.

Ivić I, Kopjar M, Jakobek L, Jukić V, Korbar S, Marić B, Mesić J i Pichler A: Influence of Processing Parameters on Phenolic Compounds and Color of Cabernet Sauvignon Red Wine Concentrates Obtained by Reverse Osmosis and Nanofiltration. *Processes* 9(1):89, 2021a.

Ivić I, Kopjar M, Jukić V, Bošnjak M, Maglica M, Mesić J i Pichler A: Aroma Profile and Chemical Composition of Reverse Osmosis and Nanofiltration Concentrates of Red Wine Cabernet Sauvignon. *Molecules* 26(4):874, 2021b.

Ivić I, Kopjar M, Obhođaš J, Vinković A, Pichler D, Mesić J i Pichler A: Concentration with Nanofiltration of Red Wine Cabernet Sauvignon Produced from Conventionally and Ecologically Grown Grapes: Effect on Volatile Compounds and Chemical Composition. *Membranes* 11(5):320, 2021c.

Ivić I, Kopjar M, Pichler D, Buljeta I i Pichler A: Concentration with Nanofiltration of Red Wine Cabernet Sauvignon Produced from Conventionally and Ecologically Grown Grapes: Effect on Phenolic Compounds and Antioxidant Activity. *Membranes* 11(5):6–8, 2021d.

Jackson RS: Wine science: Principles and applications, third edition. UIn *Paper Knowledge . Toward a Media History of Documents,* Academic Press, Elsevier Inc., Burlington, London, San Diego, 2008.

Jakobek L: *Karakterizacija polifenola u voću i njihov utjecaj na antioksidacijsku aktivnost voća.* Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2007.

Jiang S, Li Y i Ladewig BP: A Review of Reverse Osmosis Membrane Fouling and Control Strategies. *Science of The Total Environment* 595:567–583, 2017.

Jiao B, Cassano A i Drioli E: Recent advances on membrane processes for the concentration of fruit juices: A review. *Journal of Food Engineering* 63(3):303–324, 2004.

Jordão A, Vilela A i Cosme F: From Sugar of Grape to Alcohol of Wine: Sensorial Impact of Alcohol in Wine. *Beverages* 1(4):292–310, 2015.

Jullok N i Chie Hang B: Separation of Acetic Acid and Water Using Reverse Osmosis Membranes. *Journal of Applied Membrane Science & Technology* 24(1):11–26, 2020.

Kaur G i Sharma S: Gas chromatography – A brief review. *International Journal of Information and Computing Science* 5(7):125–131, 2018.

Kay Gunther G: *MBR plant with prototype module, 2006* https://www.cerafiltec.com/history/ [12.12.2021.]

Kedare SB i Singh RP: Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology* 48(4): 412-422, 2011.

Keller M: *The science of grapevines: Anatomy and Physiology.* Irrigated Agriculture Research and Extension Center, Washington State University, Prosser, WA, 2015.

Ketola A: Determination of surfactants in industrial waters of paper- and board mills. *Magistarski rad.*University of Jyväskylän, Odjel za kemiju, Jyväskylän, Finska, 2016.

Kheir J, Salameh D, Strehaiano P, Brandam C i Lteif R: Impact of volatile phenols and their precursors on wine quality and control measures of Brettanomyces/Dekkera yeasts. *European Food Research and Technology* 237(5):655–671, 2013.

Kim DO, Jeong SW i Lee CY: Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry* 81:321–326, 2003.

Kim S i Hoek EMV: Modeling concentration polarization in reverse osmosis processes. *Desalination* 186(1–3):111–128, 2005.

Kiss I, Vatai G i Bekassy-Molnar E: Must concentrate using membrane technology. *Desalination* 162(1–3):295–300, 2004.

Koo CH, Mohammad AW, Suja' F i Meor Talib MZ: Review of the effect of selected physicochemical factors on membrane fouling propensity based on fouling indices. *Desalination* 287:167–177, 2012.

Koo CH, Mohammad AW, Suja' F i Meor Talib MZ: Use and Development of Fouling Index in Predicting Membrane Fouling. *Separation & Purification Reviews* 42(4):296–339, 2013.

Kopjar M: Utjecaj dodatka trehaloze na kvalitetu paste od jagoda. *Doktorska disertacija.*

Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2007.

Kotrappanavar NS, Hussain AA, Abashar MEE, Al-Mutaz IS, Aminabhavi TM i Nadagouda MN: Prediction of physical properties of nanofiltration membranes for neutral and charged solutes. *Desalination* 280(1–3):174–182, 2011.

Krause S i Thiemig C: Membrane bioreactors, applications to wastewater treatment and reuse. U Hoek EM i Tarabara V (ur.): *Encyclopedia of membrane science and technology,* John Wiley & Sons Inc., Hoboken, New Yersey, SAD, 2013.

Labanda J, Vichi S, Llorens J i López-Tamames E: Membrane separation technology for the reduction of alcoholic degree of a white model wine. *LWT - Food Science and Technology* 42(8):1390–1395, 2009.

Laureati M i Pagliarini E: Sustainability and Organic Wine Production. U Moreno-Arribas MV and Suáldea BB (ur.): *Wine Safety, Consumer Preference, and Human Health,* pp. 183–199, Springer International Publishing, Milan, Italy, 2016.

Lee S: Performance comparison of spiral-wound and plate-and-frame forward osmosis membrane module. *Membranes* 10(11):318, 2020.

Lin J, Massonnet M i Cantu D: The genetic basis of grape and wine aroma. *Horticulture Research* 6(1):81, 2019.

Lončarić A, Pichler A, Trtinjak I, Piližota V i Kopjar M: Phenolics and antioxidant activity of freeze-dried sour cherry puree with addition of disaccharides. *LWT - Food Science and Technology* 73:391–396, 2016.

Longo R, Blackman JW, Torley PJ, Rogiers SY i Schmidtke LM: Changes in Volatile Composition and Sensory Attributes of Wines During Alcohol Content Reduction. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 97:8–16, 2016.

López-Muñoz MJ, Sotto A, Arsuaga JM i Van der Bruggen B: Influence of Membrane, Solute and Solution Properties on the Retention of Phenolic Compounds in Aqueous Solution by Nanofiltration Membranes. *Separation and Purification Technology* 66(1):194–201, 2009.

Loscos N, Hernandez-Orte P, Cacho J i Ferreira V: Comparison of the suitability of different hydrolytic strategies to predict aroma potential of different grape varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(6):2468–2480, 2009.

Low LL, O'Neill B, Ford C, Godden J, Gishen M i Colby C: Economic evaluation of alternative technologies for tartrate stabilisation of wines. *International Journal of Food Science and Technology* 43(7):1202–1216, 2008.

Ly BCK, Dyer EB, Feig JL, Chien AL i Del Bino S: Research Techniques Made Simple: Cutaneous Colorimetry: A Reliable Technique for Objective Skin Color Measurement. *Journal of Investigative Dermatology* 140(1):3-12.e1, 2020.

Madaeni SS, Sasanihoma A i Zereshki S: Chemical cleaning of reverse osmosis membrane fouled by sugar solution. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering* 5(5):691-700, 2009.

Maicas S i Mateo J: Microbial Glycosidases for Wine Production. *Beverages* 2(3):20, 2016.

Maletić E, Karoglan Kontić J i Pejić I: *Vinova loza - Ampelografija, ekologija, oplemenjivanje.* Školska knjiga, Zagreb, 2008.

Malviya R, Bansal V, Pal OP i Sharma PK: High performance liquid chromatography: A short review. *Journal of Global Pharma Technology* 2(5):22–26, 2010.

Mansfield AK, Zoecklein BW i Whiton RS: Quantification of glycosidase activity in selected strains of Brettanomyces bruxellensis and Oenococcus oeni. *American Journal of Enology and Viticulture* 53(4):303–307, 2002.

Marrone M: What is the best wine fermentation temperature and how to control it? *Cold Shot Chillers,* 2019. https://waterchillers.com/blog/post/ideal-wine-fermentation-temperature [27.11.2021.]

Marszałek A i Puszczało E: Effect of Photooxidation on Nanofiltration Membrane Fouling During Wastewater Treatment from the Confectionery Industry. *Water* 12(3):793, 2020.

Massot A, Mietton-Peuchot M, Peuchot C i Milisic V: Nanofiltration and Reverse Osmosis in Winemaking. *Desalination* 231:283–289, 2008.

Maturano YP, Assof M, Fabani MP, Nally MC, Jofre V, Rodriguez Assaf L, Toro ME, Castellanos de Figueroa LI i Vazquez F: Enzymatic activities produced by mixed Saccharomyces and non-Saccharomyces cultures: relationship with wine volatile composition. *International Journal of General and Molecular Microbiology* 108(5):1239–1256, 2015.

Merkytė V, Longo E, Windisch G i Boselli E: Phenolic compounds as markers of wine quality and authenticity. *Foods* 9(12):1785, 2020.

Michlmayr H, Nauer S, Brandes W, Schümann C, Kulbe KD, Del Hierro AM i Eder R: Release of wine monoterpenes from natural precursors by glycosidases from Oenococcus oeni. *Food Chemistry* 135(1):80–87, 2012.

Mierczynska-Vasilev A i Smith PA: Current state of knowledge and challenges in wine clarification. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 21:615–626, 2015.

Mirošević N: *Vinogradarstvo.* Nakladni zavod Globus, Zagreb, 1996.

Mirošević N i Karoglan Kontić J: *Vinogradarstvo.* Nakladni zavod Globus, Zagreb, 2008.

Mirošević N i Turković Z: *Ampelografski atlas.* Golden marketing - Tehnička knjiga, Zagreb, 2003.

Mnif A, Mouelhi M i Hamrouni B: Understanding of phenolic compound retention mechanisms on PES-UF membrane. *Turkish Journal Of Chemistry* 41(6):813–825, 2017.

Moreno J i Peinado R: *Enological chemistry.* Elsevier Inc., Universidad de Cordoba, Cordoba, Spain, 2012.

Mottaleb MA, Meziani MJ i Islam MR: Solid-phase microextraction and its application to natural products. U *Encyclopedia of Analytical Chemistry,* John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, Velika Britanija, 2014.

Mulder M: *Basic principles of membrane technology.* Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Boston, SAD, 1996.

Mullett M, Fornarelli R i Ralph D: Nanofiltration of Mine Water: Impact of Feed pH and Membrane Charge on Resource Recovery and Water Discharge. *Membranes* 4(2):163–180, 2014.

Muñoz-González C, Pérez-Jiménez M, Criado C i Pozo-Bayón MÁ: Effects of Ethanol Concentration on Oral Aroma Release After Wine Consumption. *Molecules* 24(18):3253, 2019.

Murthy G, Sridhar S, Sunder M, Shankaraiah B i Ramakrishna M: Concentration of xylose reaction liquor by nanofiltration for the production of xylitol sugar alcohol. *Separation and Purification Technology* 44(3):205–211, 2005.

Narodne Novine: *Pravilnik o proizvodnji vina.* NN 2/05, 2005.

Narodne Novine: *Zakon o vinu.* NN 32/19, 2019.

Oliveira JM, Oliveira P, Baumes RL i Maia O: Changes in aroma characteristics of Loureiro and Avarinho wines during maturation. *Journal of Food Composition and Analysis* 21(8):695–707, 2008.

Ough CS i Amerine MA: *Methods analysis of musts and wines.* John Wiley & Sons Inc., New York, SAD, 1988.

Özyürek M, Güçlü K, Tütem E, Bakan KS, Erçağ E, Esin Çelik S, Baki S, Yildiz L, Karaman Ş i Apak R: A Comprehensive Review of CUPRAC Methodology. *Analytical Methods* 3:2439–2453, 2011.

Padilla B, Gil JV i Manzanares P: Past and Future of Non-Saccharomyces Yeasts: From Spoilage Microorganisms to Biotechnological Tools for Improving Wine Aroma Complexity. *Frontiers in Microbiology* 7:1–20, 2016.

Pati S, La Notte D, Clodoveo ML, Cicco G i Esti M: Reverse osmosis and nanofiltration membranes for the improvement of must quality. *European Food Research and Technology* 239(4):595–602, 2014.

Pawar G: *Reverse osmosis membrane market development strategy* Market Research Report. 2018. https://marketresearchreport591991260.wordpress.com/2018/06/20/reverse-osmosis-membrane-market-development-strategy-cagr-15-92-forecasted-period-2018-2023/ [27.11.2021.]

PCI Membranes, Filtration Group: *C10 series tubular membrane modules* https://www.pcimembranes.com/products/c10-series-tubular-membrane-modules/ [27.11.2021.]

Peña N, Gallego S, del Vigo F i Chesters SP: Evaluating impact of fouling on reverse osmosis membranes performance. *Desalination and Water Treatment* 51(4–6):958–968, 2013.

Pérez-Magariño S i González-Sanjosé ML: Application of Absorbance Values Used in Wineries for Estimating CIELAB Parameters in Red Wines. *Food Chemistry* 81(2):301–306, 2003.

Pham D-T, Ristic R, Stockdale VJ, Jeffery DW, Tuke J i Wilkinson K: Influence of partial dealcoholization on the composition and sensory properties of Cabernet Sauvignon wines. *Food Chemistry* 325(December 2019):126869, 2020.

Pham D-T, Stockdale VJ, Wollan D, Jeffery DW i Wilkinson KL: Compositional Consequences of Partial Dealcoholization of Red Wine by Reverse Osmosis-Evaporative Perstraction. *Molecules* 24(7):1404, 2019.

Pichler A: Utjecaj dodataka i skladištenja na kvalitetu, reološka i termofizikalna svojstva paste od maline. *Doktorski rad.* Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2011.

Piekutin J: The Identification of Fouling in Reverse Osmosis in the Treatment of Water with Petroleum Substances. *Water* 13(8):1092, 2021.

Pietruszka M, Pielech-Przybylska K i Szopa JS: Synthesis of higher alcohols during alcoholic fermentation of rye mashes. *Food Chemistry and Biotechnology* 74(1081):51–64, 2010.

Pino L, Vargas C, Schwarz A i Borquez R: Influence of operating conditions on the removal of metals and sulfate from copper acid mine drainage by nanofiltration. *Chemical Engineering Journal* 345(3):114–125, 2018.

Pittari E, Moio L i Piombino P: Interactions between Polyphenols and Volatile Compounds in Wine: A Literature Review on Physicochemical and Sensory Insights. *Applied Sciences* 11(3):1157, 2021.

Pokos V: Ekološko vinogradarstvo. *Glasnik Zaštite Bilja 36*:16–25, 2013.

Popović K: Utjecaj koncentriranja membranskim procesima na tvari boje i arome soka od aronije. *Doktorska disertacija.* Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2019.

Popović K, Pozderović A, Jakobek L, Rukavina J i Pichler A: Concentration of chokeberry (Aronia melanocarpa) juice by nanofiltration. *Journal of Food and Nutrition Research* 55:159–170, 2016.

Pozderovic A, Popovic K, Pichler A i Jakobek L: Influence of Processing Parameters on Permeate Flow and Retention of Aroma and Phenolic Compounds in Chokeberry Juice Concentrated by Reverse Osmosis. *Cyta-Journal of Food* 14:382–390, 2016.

Puckette M: Tips on tasting: Wine bouquet vs aroma. *Wine Folly, 2016.* https://winefolly.com/tips/tips-on-tasting-wine-bouquet-vs-aroma/ [5.12.2021.]

Radić N i Kukoč Modun L: *Uvod u analitièku kemiju, I . dio.* Školska knjiga, Zagreb, 2013.

Rainieri S i Pretorius IS: Selection and improvement of wine yeasts. *Annals of Microbiology*

50(1):15–31, 2000.

Rapp A i Mandery H: Wine aroma. *Experientia* 42(8):873–884, 1986.

Rastogi NK: Reverse Osmosis and Forward Osmosis for the Concentration of Fruit Juices. U *Fruit Juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis,* Elsevier Inc., 2017.

Ratner B: The correlation coefficient: Its values range between +1/−1, or do they? *Journal of Targeting, Measurement and Analysis for Marketing* 17(2):139–142, 2009.

Rayess Y El i Mietton-Peuchot M: Membrane Technologies in Wine Industry: An Overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 56:2005–2020, 2016.

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M i Rice-Evans C: Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology & Medicine* 26:1231–1237, 1999.

Rektor A, Pap N, Kokai Z, Szabo R, Vatai G i Bekassylnar E: Application of membrane filtration methods for must processing and preservation. *Desalination* 162:271–277, 2004.

Rentzsch M, Wilkens A i Winterhalter P: Non-flavonoid phenolic compounds. U Moreno-Arribas MV and Polo MC (ur.): *Wine Chemistry and Biochemistry,* pp. 509–527, Springer, New York, SAD, 2009.

Ribéreau-Gayon P, Dubourdieu D, Donèche B i Lonvaud AA: *Handbook of enology, volume 1. The microbiology of wine and vinifications.* John Wiley & Sons, Ltd, Bordeaux, Francuska, 2006.

Robinson J, Harding J i Vouillamouz J: *Wine grapes.* Penguin Books, London, Velika Britanija, 2012.

Romero-Cascales I, Fernandez-Fernandez JI, Lopez-Roca JM i Gomez-Plaza E: The maceration process during winemaking extraction of anthocyanins from grape skins into wine. *European Food Research and Technology* 221:163–167, 2005.

Saha B, Torley P, Blackman JW i Schmidtke LM: Review of processing technology to reduce alcohol levels in wines. *1st International Symposium Alcohol Level Reduction in Wine - Oenoviti Internationa Network* 78–86, 2013.

Salehi F: Current and future applications for nanofiltration technology in the food processing. *Food and Bioproducts Processing* 92(2):161–177, 2014.

Salgado C, Palacio L, Carmona FJ, Hernández A i Prádanos P: Influence of Low and High Molecular Weight Compounds on the Permeate Flux Decline in Nanofiltration of Red Grape Must. *Desalination* 315:124–134, 2013.

Sam FE, Ma T-Z, Salifu R, Wang J, Jiang Y-M, Zhang B i Han S-Y: Techniques for Dealcoholization of Wines: Their Impact on Wine Phenolic Composition, Volatile Composition, and Sensory Characteristics. *Foods* 10(10):2498, 2021.

Schmidtke LM, Blackman JW i Agboola SO: Production technologies for reduced alcoholic

wines. *Journal of Food Science* 77(1):24–41, 2012.

Scott K: Introduction to membrane separations. U *Handbook of industrial membranes,* Elsevier B.V., 1998.

Šeruga M, Novak I i Jakobek L: Determination of Polyphenols Content and Antioxidant Activity of some Red Wines by Differential Pulse Voltammetry, HPLC and Spectrophotometric Methods. *Food Chemistry* 124(3):1208–1216, 2011.

Siddiqui MU, Arif AFM i Bashmal S: Permeability-Selectivity Analysis of Microfiltration and Ultrafiltration Membranes: Effect of Pore Size and Shape Distribution and Membrane Stretching. *Membranes* 6:1–14, 2016.

Skoog DA, West DM i Holler FJ: *Osnove analitičke kemije.* Školska knjiga, Zagreb, 1999.

Stein T, Carvalho IR, Szareski VJ, Zocche RGS, Zocche F, Aloy KG, Santos L de V dos, Martins HCGB, Lautenchleger F i Souza VQ de: Quality of Cabernet Sauvignon Wines Determined by the Variability of Climatic Attributes. *Journal of Agricultural Science* 10(8):380, 2018.

Stover RL: High recovery, low fouling, and low energy reverse osmosis. *Desalination and Water Treatment* 57(55):26501–26506, 2016.

Synder Filtration S: Capillary module, *Capillary filtration,* https://synderfiltration.com/learning-center/articles/module-configurations-process/capillary-filtration/ [28.11.2021.]

Synder Filtration S: Hollow fiber membrane, *Hollow fiber membranes,* https://synderfiltration.com/learning-center/articles/module-configurations-process/hollow-fiber-membranes/ [28.11.2021.]

Tao Y-S, Liu Y i Li H: Sensory characters of Cabernet Sauvignon dry red wine from Changli County (China). *Food Chemistry* 114(2):565–569, 2009.

Tao Y, García JF i Sun D-W: Advances in Wine Aging Technologies for Enhancing Wine Quality and Accelerating Wine Aging Process. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 54(6):817–835, 2014.

Tariba B: Metals in Wine—Impact on Wine Quality and Health Outcomes. *Biological Trace Element Research* 144(1–3):143–156, 2011.

Temido J V, Conceição ACL, Geraldes V, Maria A i Alves B: Development of a nanofiltration process to remove volatile acidity in wines. *Tecnico Lisboa* 1:1–7, 2015.

Tomas D i Kolovrat D: *Priručnik za proizvodnju vina - za male proizvođače i hobiste.* Federalni agromediteranski zavod, Mostar, 2011.

Tsao R: Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients* 2(12):1231–1246, 2010.

Ugarte P, Agosin E, Bordeu E i Villalobos JI: Reduction of 4-ethylphenol and 4-ethylguaiacol concentration in red wines using reverse osmosis and adsorption. *American Journal of*

Enology and Viticulture 56:30–36, 2005.

Varoquaux P i Wiley RC: Biological and Biochemical Changes in Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables. U Yildiz F and Wiley RC (ur.): *Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables,* pp. 153–185, Springer Science+Business Media LLC, Baltimore, MD, SAD, 2017.

Versari A, Ferrarini R, Parpinello GP i Galassi S: Concentration of Grape Must by Nanofiltration Membranes. *Food and Bioproducts Processing* 81(3):275–278, 2003.

Vinopedia: *Cabernet sauvignon,* http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=cabernet_sauvignon [3.12.2021.]

Vrček IV, Bojić M, Žuntar I, Mendaš G i Medić-Šarić M: Phenol content, antioxidant activity and metal composition of Croatian wines deriving from organically and conventionally grown grapes. *Food Chemistry* 124(1):354–361, 2011.

Vukoja J, Pichler A i Kopjar M: Stability of Anthocyanins, Phenolics and Color of Tart Cherry Jams. *Foods* 8(7):255, 2019.

Wang H i Zhou H: Understand the basics of membrane filtration. *Chemical Engineering Progress* 109:33–40, 2013.

Wardencki W, Chmiel T, Dymerski T, Biernacka P i Plutowska B: Application of gas chromatography, mass spectrometry and olfactometry for quality assessment of selected food products. *Ecological Chemistry and Engineering S* 16(3):287–300, 2009.

Waterhouse AL, Sacks GL i Jeffery DW: Aldehydes, Ketones, and Related Compounds. U *Understanding Wine Chemistry,* pp. 79–87, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, Velika Britanija, 2016.

Wilkinson KL i Jiranck V: Wine of reduced alcohol content: Consumer and society demand vs industry willingness and ability to deliver. *1st International Symposium Alcohol Level Reduction in Wne - Oenoviti International Network,* 98–104, 2013.

Wollan D: Membrane and other techniques for the management of wine composition. U *Managing Wine Quality: Oenology and Wine Quality,* Woodhead Publishing Limited, 2010.

Wrolstad RE.: Anthocyanins. U Francis FJ and Lauro GJ (ur.): *Natural food colorants,* pp. 237–252, Marcel Dekker, Inc. New York, SAD, 2000.

Yalcin D, Ozcalik O, Altiok E i Bayraktar O: Characterization and recovery of tartaric acid from wastes of wine and grape juice industries. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 94(3):767–771, 2008.

Yalçin SK i Özbaş ZY: Production of glycerol by two endogenic wine yeast strains at different inoculum size. *Food Technology and Biotechnology* 44(4):525–529, 2006.

Yammine S, Rabagliato R, Vitrac X, Mietton-Peuchot M i Ghidossi R: The use of nanofiltration membranes for the fractionation of polyphenols from grape pomace extracts. *Oeno One*

53(1):11–26, 2019.

Yasukawa M, Suzuki T i Higa M: Salinity Gradient Processes. U *Membrane-based salinity gradient processes for water treatment and power Generation,* Elsevier B.V., Yamaguchi, Japan, 2018.

Yue TX, Chi Mi, Song CZ, Liu MY, Meng JF, Zhang ZW i Li MH: Aroma characterization of Cabernet Sauvignon wine from the Plateau of Yunnan (China) with different altitudes using SPME-GC/MS. *International Journal of Food Properties* 18:1584–1596, 2014.

Zafrilla P, Morillas J, Mulero J, Cayuela JM, Martínez-Cachá A, Pardo F i López Nicolás JM: Changes during Storage in Conventional and Ecological Wine: Phenolic Content and Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(16):4694–4700, 2003.

Zamora F: Dealcoholised Wines and Low-Alcohol Wines. U Moreno-Arribas MV and Sualdea BB (ur.): *Wine Safety, Consumer Preference, and Human Health,* pp. 163–182, Springer International Publishing, Cham, Switzerland, 2016.

Zhou F, Wang C i Wei J: Separation of acetic acid from monosaccharides by NF and RO membranes: Performance comparison. *Journal of Membrane Science* 429:243–251, 2013a.

Zhou F, Wang C i Wei J: Simultaneous acetic acid separation and monosaccharide concentration by reverse osmosis. *Bioresource Technology* 131:349–356, 2013b.

Znaor D: *Ekološka poljoprivreda.* Nakladni zavod Globus, Zagreb, 1996.

Zoričić M: *Podrumarstvo.* Nakladni zavod Globus, Zagreb, 1996.