

# Usporedba kvalitete voćnog i desertnog voćnog vina od kupine

---

**Stegić, Antun**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2016**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:880597>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-13**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno - biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija**

**Antun Stegić**

6508/PT

**USPOREDBA KVALITETE VOĆNOG I DESERTNOG VOĆNOG  
VINA OD KUPINE**

**Završni rad**

**Modul: Kemija i tehnologija vina**

**Mentor: prof.dr.sc. Mara Banović**

**Zagreb, 2016.**

*Završni rad je izrađen u pod mentorstvom prof. dr.sc. Mare Banović iz Laboratorija za tehnologiju i analitiku vina Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Eksperimentalni dio rada odrađen je u Zavodu za vinogradarstvo i vinarstvo Hrvatskog centra za poljoprivredu, hranu i selo pod stručnim vodstvom mr.sc. Renate Leder, dipl. ing.*

*Želim zahvaliti predstojnici Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo dr.sc. Ivani Vladimiri Petric što mi je omogućila izradu eksperimentalnog dijela završnog rada.*

*Također se želim zahvaliti svim članovima Laboratorija za fizikalno-kemijska ispitivanja i posebno rukovoditeljici odjela mr.sc. Renati Leder i Tatjani Vargi, dipl.ing. za pruženu pomoć i suradnju tijekom odrađivanja eksperimentalnog dijela rada.*

*Zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr.sc. Mari Banović, na pomoći, savjetima i znanju koje mi je prenijela prilikom izrade ovog rada.*

## DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za tehnologiju i analitiku vina

### USPOREDBA KVALITETE VOĆNOG I DESERTNOG VOĆNOG VINA OD KUPINE

Antun Stegić, 6508/PT

#### Sažetak:

Vino od kupine je voćno vino poznato po visokom sastavu organskih i neorganskih sastojaka, različitih vitamina i minerala, koji mu daju veliku medicinsku i nutritivnu vrijednost. Svrha rada je procijeniti razliku u kvaliteti između voćnog vina i desertnog voćnog vina proizvedenog od kupine. Laboratorijskim određivanjem standardnih parametara (ukupnog i stvarnog alkohola, ukupnih kiselina, ekstrakta, reducirajućeg i ukupnog šećera, ekstrakta bez ukupnih šećera, pepela i pH) kvalitete utvrđena je fizikalno-kemijska kvaliteta i zatim provedena usporedba navedenih parametara odabranih voćnih vina. Izmjerene vrijednosti za ukupni alkohol, ukupni šećer, ekstrakt i pepeo su veće za voćna vina. Prosječna vrijednost za stvarni alkohol kod voćnih vina iznosi 11,16 %, a kod desertnih voćnih vina 13,57 %. Ta razlika se može objasniti naknadnim dodavanjem alkohola pri proizvodnji desertnih voćnih vina u svrhu postizanja željenih svojstava.

**Ključne riječi:** desertno voćno vino, kupina, parametri kvalitete, vino od kupine

**Rad sadrži:** stranice (41), tablica (3), slika (7), literaturnih navoda (40)

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je tiskan u elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** *prof. dr.sc. Mara Banović*

**Pomoć pri izradi:** *mr.sc. Renata Leder*

**Rad predan:** rujna, 2016.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and Biotechnology  
Undergraduate studies Food technology  
Department of Food engineering  
Laboratory for Technology and Analysis of Wine

### COMPARISON OF THE QUALITY OF FRUIT WINES AND DESSERT FRUIT WINES

Antun Stegić, 6508/PT

**Abstract:**

Blackberry wine is fruit wine known for its high composition of organic and inorganic compounds, various vitamins and minerals, which give high medical and nutritional value. The purpose of this work is to estimate the difference in quality between fruit wines and dessert fruit wine made from blackberries. After laboratory analysis of standard quality parameters (total and actual alcohol, total acidity, extract, reducing and total sugars, extract without total sugars, ash and pH) for selected fruit wines, physico-chemical quality was determined and then conducted comparison of those parameters. The measured values for total alcohol, total sugar, extract and ashes were higher for fruit wines. The average value of the actual alcohol in fruit wines is 11.16 %, and for dessert fruit wines 13.57 %. This difference can be explained by the subsequent addition of alcohol in the production of dessert fruit wines in order to achieve desired properties.

**Keywords:** blackberry, blackberry wine, dessert fruit wine, quality parameters

**Thesis contains:** pages (41), tables (3), figures (7), references (40)

**Original in:** croatian

**Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:** Library of the Faculty of food technology and biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** *PhD. Mara Banović, Full Professor*

**Technical support and assistance:** *mr.sc. Renata Leder*

**Thesis delivered:** september, 2016.

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	2
2.1. Vino i voćno vino.....	2
2.2. Podjela voćnih vina.....	3
2.2.1. Dopušteni postupci u proizvodnji voćnih vina.....	5
2.3. Industrijska proizvodnja voćnih vina.....	6
2.3.1. Čišćenje, usitnjavanje i prešanje.....	7
2.3.2. Prirema i provedba fermentacije.....	9
2.3.3. Pretok, njega i bistrenje vina.....	12
2.3.4. Punjenje i zatvaranje boca.....	14
2.4. Vino od kupine.....	15
2.4.1. Kupina.....	15
2.4.2. Bioaktivni sastojci kupine.....	17
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	20
3.1. Materijali.....	20
3.2. Primanje, označavanje i čuvanje uzoraka.....	20
3.3. Metode analize.....	22
3.3.1. Određivanje ukupnog i stvarnog alkohola.....	23
3.3.2. Određivanje ekstrakta.....	23
3.3.3. Određivanje ukupnih i reducirajućih šećera.....	24

3.3.4. Određivanje pepela.....	25
3.3.5. Određivanje ukupnih kiselina.....	26
3.3.6. Određivanje pH.....	27
<b>4. REZULTATI.....</b>	<b>28</b>
<b>5. RASPRAVA.....</b>	<b>33</b>
<b>6. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>36</b>
<b>7. LITERATURA.....</b>	<b>37</b>



Kupinovo vino je zbog svog osebujnog okusa, blagog i ugodnog mirisa te ljekovitosti osobito popularno u mnogim europskim zemljama gdje se koristi u svakodnevnoj prehrani. Također i među vinoljupcima s prostora Hrvatske postaje sve prepoznatljivije premda je još uvijek jako malo znanstvene literature objavljeno o kemijskom sastavu hrvatskih vina od kupine.

Zahvaljujući velikom udjelu antioksidansa u obliku minerala, vitamina i polifenola (karoteni, antocijani, ne-flavanoidi i flavanoidi, tanini) kupina spada među voće sa najvećim antioksidativnim djelovanjem, a njeni nutritivni i nenutritivni sastojci osobito pozitivno djeluju na imunitet i zdravlje organizma. U najnovijim istraživanjima "*in vitro*" potvrđena je jača antioksidacijska aktivnost voćnih vina od kupine nego kod groždanih vina. Polifenolni spojevi su odgovorni i za stabilnost organoleptičkih karakteristika voćnih vina kao što su boja, trpkoca, gorčina i aroma. Kod većeg udjela alkohola, trpkoca je manje izražena dok se osjet gorčine povećava, što utječe na konačni bouquet voćnog vina. Bogata magnezijem i organskim željezom kupina bi trebala biti nezamijenjiva u prehrani sportaša, trudnica i općenito ljudi sa pomanjkanjem željeza (vegetarijanaca, osobe na dijeti, oboljele od anemije). Željezo je sastavni dio proteina odgovornog za transport kisika kroz krvotok do stanica pa je pomanjkanjem željeza transport kisika usporen, a rezultat toga je vrtoglavica i opća slabost.

Sa tehnološkog aspekta, voćno vino od kupine je proizvod dobiven fermentacijom soka ili masulja od svježeg i zdravog voća od kupine te treba sadržavati do 13% vol. alkohola. Pri proizvodnji desertnih voćnih vina, koristi se voćno vino kojemu se zatim dodaju alkohol voćnog podrijetla, voćna rakija, voćni sok ili koncentrirani sok s obzirom na posebne karakteristike koje se žele postići, a može imati više od 13% vol. alkohola. Prije puštanja na tržište, voćna vina kao i ostali prehrambeni proizvodi moraju zadovoljiti određene zakonski propisane zahtjeve koji se odnose na kvalitetu proizvoda.

Cilj ovog rada je odrediti fizikalno-kemijske parametre koji se određuju prije puštanja voćnog vina u promet te na osnovu dobivenih podataka ustanoviti temeljne razlike i sličnosti između voćnog vina i desertnog voćnog vina. Određivani parametri su: ukupni i stvarni alkohol, reducirajući i ukupni šećer, ukupne kiseline, ekstrakt, ekstrakt bez ukupnih šećera, pepeo i pH vrijednost vina.

## 2.1 Vino i voćno vino

Početak proizvodnje vina povezuje se s pojavom lončarstva još prije 10 000 godina. Iako se voćno vino kroz povijest razvijalo zajedno sa vinom od grožđa, voćna vina su dolazila do izražaja tek pri nestašici grožđa (Schneider, 2007). Osušeni ostaci vina (pistacijeve smole i vinska kiselina koja se rabila za zaštitu vina od kvarenja) procijenjeni su da datiraju 7500. g. pr. Kr. Već u to vrijeme vino je bilo jako cijenjeno kao piće viših društvenih slojeva. Iz babilonskih ruševina (Srednji Istok, 2400.g. pr. Kr.) iskopani su vinski sudovi "deklarirani" glinenim pečatima koji upućuju na kraljevsko vlasništvo. Na njegova medicinska i terapijska svojstva ukazuje i podatak kako je kralj Aleksandar Veliki (356.-323. g. pr. Kr.) tijekom osvajačkih pohoda svojim vojnicima naredio da sa sobom nose vino, koje bi zatim miješali sa zagađenom vodom kako bi je dezinficirali. Kao pravi ljubitelji vina i njegovog civilizacijskog značaja istaknuli su se Grci, koji su razvili nove metode „konzerviranja“ vina te utjecali na ubrzano širenje ovog iscjeljujućeg proizvoda (Rivard, 2007). Što se stvarno biokemijski događa u samom procesu stvaranja vina saznalo se tek u vrijeme Louisa Pasteura (1822.-1895.). Proučavajući alkoholnu i mliječnu fermentaciju otkrio je da je fermentacija biološki proces koji uzrokuju mikroorganizmi, a ne kemijski proces kako se do tada mislilo. Vino je kroz povijest slovalo kao uspješan lijek sve do 1920. godine kada su SAD izglasale prohibiciju alkoholnih pića te je time zabranjena njegova uporaba kao lijeka, ali i ograničenu proizvodnju (Appel, 2008). Današnja definicija vina je da je ono poljoprivredni prehrambeni proizvod, dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta, od svježeg i za preradu u vino pogodnoga grožđa (Zakon o vinu, NN 96/03). Proglašenjem *Zakona o vinu*, koji je donio Hrvatski sabor 29. svibnja 2003. godine, prvi puta su kod nas među vina svrstani i slični proizvodi iz drugovrsnog voća, pa se podjednako kao i za vina od grožđa uređuje proizvodnja i promet voćnih vina i drugih proizvoda na bazi voćnih vina. Razlika između voćnih vina i vina od grožđa je u primjeni velikih količina vode i šećera te drugih pomagala koji omogućuju proizvodnju harmoničnih i ukusnih napitaka. 2006. godine donosen je *Pravilnik o voćnim vinima* (NN 73/06) kojim se omogućuje proizvodnja i prodaja voćnih vina od svih voćnih vrsta pogodnih za dobivanje kvalitetnog voćnog vina. Sposobnost proizvodnje kvalitetnog voćnog vina od proizvođača zahtijeva detaljno znanje o svakoj vrsti voćnog soka iz koje se proizvodi voćno vino.

## 2.2. Podjela voćnih vina

Prema povijesnim činjenicama, vino je jedna od namirnica koju se krivotvorilo još od vremena antike iz više razloga. Jedan od njih bila je visoka cijena vina zbog kojeg se ono smatralo luksuznom namirnicom, ali ponajviše zbog nepostojanja definicije koja bi odredila sirovinu i osnovne uvjete proizvodnje (Wilson, 2008). Kada se govori o vinu bitno je naglasiti da se misli na vino od grožđa, dok se vino od jedne vrste voća mora označiti kao "voćno vino", a voćno vino proizvedeno od više vrsta voća označava se kao "voćno vino od različitog voća". Temeljem članka 61. *Zakona o vinu* (NN br. 96/03) 3. srpnja 2006. godine ministar poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva RH donosi *Pravilnik o voćnim vinima* (NN br. 73/06), uz naknadno donesene izmjene i dopune ovog Pravilnika, propisani su uvjeti i način proizvodnje, podjele, prometa, označavanja te uvoza i izvoza voćnih vina. Pojedine voćne vrste za proizvodnju voćnih vina svrstane su u: koštičavo, jezgričavo i jagodičasto ili bobičasto voće. Sve ostale voćne vrste svrstavaju se u ostalo voće dok grožđe ne spada u voće u smislu ovog Pravilnika.

Svrstavanje pojedinih voćnih vrsta u skupine:

1. **Koštičavo voće** – šljiva (*Prunus domestica*), trešnja (*Prunus avium*), višnja (*Prunus ceracus*), trnina (*Prunus spinosus*), liči (*Litchi chinensis*), drenjina (*Cornus mas*), marelica (*Prunus armeniaca*), breskva (*Prunus persica*), rogač (*Ceratonia siliqua*) i dr.
2. **Jezgričavo voće** – jabuka (*Malus domestica*), dunja (*Cydonia oblonga*), kruška (*Pyrus communis*) i dr.
3. **Jagodičasto ili bobičasto voće** – borovnica (*Vaccinium myrtillus*), ogrozd (*Ribes grossularia*), ribiz (*Ribes spp.*), jagoda (*Fragaria spp.*), **kupina** (*Rubus fruticosus*), ostrušica (*Rubus caesius*), malina (*Rubus idaeus*), dud (*Morus spp.*), brusnica (*Vaccinium vitis-idaea*), planika (*Arbutus unedo*), bazga (*Sambucus nigra*) i dr.

## Podjela voćnih vina (Pravilnik o voćnim vinima NN 73/06):

- **Voćno vino**
  - **Desertno voćno vino**
  - Aromatizirano voćno vino
  - Biser voćno vino
  - Pjenušavo voćno vino
  - Razblaženo voćno vino
- 
- Voćno vino je prehrambeni proizvod dobiven fermentacijom masulja ili soka od svježeg i za to pogodnog koštičavog, jezgričavog, jagodičastog, bobičastog ili ostalog voća i ima minimalan sadržaj prirodnog alkohola 1,2 %
  - Desertno voćno vino je voćno vino kojem su dodani alkohol voćnog podrijetla i/ili voćna rakija, šećer, voćni sok i/ili koncentrirani voćni sok i koje, preračuna li se alkohol u šećer, sadrži više od 260 g/L šećera i najmanje 13,0 % vol. stvarnog alkohola, ali najviše 22,0 % vol. ukupnog alkohola
  - Aromatizirano voćno vino je prehrambeni proizvod dobiven od voćnog vina čiji sadržaj stvarnog alkohola iznosi najmanje 4,0 % vol., ali najviše 22,0 % vol. ukupnog alkohola i u čijoj se proizvodnji koriste prirodne arome te aromatične biljke i njihovi plodovi. Pri tome je dopuštena uporaba aditiva i pomoćnih sredstava sukladno odredbama Pravilnika o prehrambenim aditivima. Pored toga, smiju se dodavati voćni sok, koncentrirani voćni sok, alkohol voćnog podrijetla, voćna rakija i šećer (saharoza) i pri tome udio temeljnog vina mora iznositi najmanje 75 %
  - Biser voćno vino je voćno vino koje ima minimalni sadržaj alkohola od 5 % vol. i u zatvorenim posudama ima tlak ugljične kiseline od najmanje 1,0 bara i najviše 2,5 bara pri 20 °C
  - Pjenušavo voćno vino je voćno vino koje je dobiveno alkoholnim vrenjem od voćnog soka ili sekundarnim alkoholnim vrenjem od voćnog vina koje, kada se otvori posuda, otpušta ugljični dioksid koji potječe isključivo od vrenja i ima tlak od najmanje 3,0 bara kao posljedicu otopljenog ugljičnog dioksida pri temperaturi zatvorene posude od 20 °C
  - Razblaženo voćno vino je voćno vino čija je stvarna alkoholna jakost od 4 – 6 % vol., a dobiveno je razrijeđivanjem koncentriranog voćnog vina. Ugljik dioksid koji je sadržan u proizvodu ne mora biti podrijetlom od fermentacije pod uvjetom da tlak

otopljenog ugljikova dioksida u zatvorenoj posudi pri temperaturi od 20 °C nije veći od 0,5 bara. Naknadno mu se mogu dodavati arome i bojila.

### **2.3.1. Dopušteni postupci u proizvodnji voćnih vina**

Navedenim Pravilnikom definirani su dopušteni kao i zabranjeni postupci u proizvodnji voćnih vina (Pravilnik NN 73/06).

#### **Dopušteno je kod svih voćnih vina:**

1. Primjena sljedećih postupaka i obrade:

- a) prozračivanje i dodavanje kisika te uvođenje dušika
- b) toplinska obrada
- c) centrifugiranje i filtracija, bez ili s inertnim sredstvima za filtriranje uz uvjet da nema nepoželjnih ostataka u tretiranim proizvodima
- d) dodavanje ugljičnog dioksida, argona i dušika, samostalno ili kombinirano, isključivo radi stvaranja inertne atmosfere i radi obrade proizvoda bez pristupa zraka
- e) dodavanje sorbinske kiseline i kalijevog sorbata, pod uvjetom da sadržaj sobinske kiseline u gotovom proizvodu ne prelazi 200 mg/L
- f) dodavanje L-askorbinske kiseline
- g) dodavanje limunske kiseline
- h) dodavanje jabučne ili mliječne kiseline
- i) dodavanje vinske kiseline
- j) dodavanje kvasaca, mljičnih bakterija, enzima
- k) sredstava za otkiseljavanje
- l) obrada aktivnim ugljenom maksimalno do 100 g/hL
- m) dodavanje polivinil polipirolidona (PVPP) maksimalno do 80 g/hL
- n) dodavanje kalijheksacijanoferata
- o) bistrenje s jednim ili više sredstava za enološku upotrebu (jestiva želatina, morunji mjehur, kazein, bjelanjak jajeta, bentonit, kaolin, tanin, silicij dioksid)

2. Miješanje voćnih vina različitih voćnih vrsta te dodavanje voćnih sokova različitih voćnih vrsta.

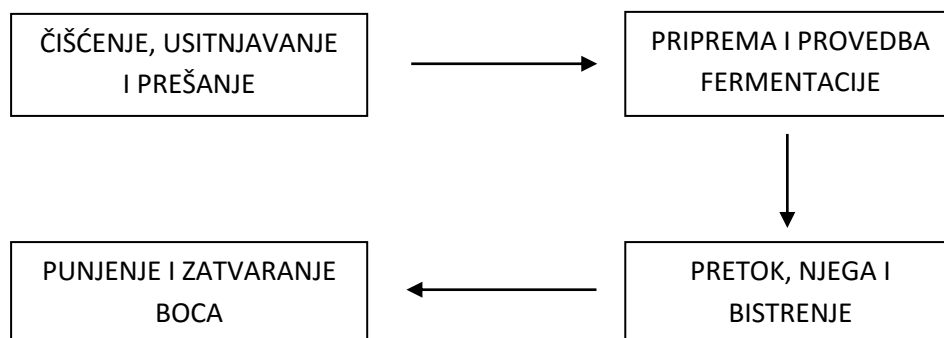
3. Dodavanje šećera, voćnog soka i/ili koncentriranog voćnog soka u takvoj mjeri da sadržaj stvarnog alkohola u trenutku predaje potrošaču ne prelazi 13 % vol.
4. Bojanje prirodno crvenog vina od jezgričavog ili bobičastog i koštičavog voća svježim kominama ili sokovima iste skupine voćnih vrsta.
5. Za proizvodnju desertnog, aromatiziranog, biser i pjenušavog voćnog vina dopušteno je dodavati šećer ili koncentrirani voćni sok u većoj mjeri, a da je stvarni alkohol iznad 13% vol.

#### **Zabranjeno je:**

1. Miješanje voćnog vina s pokvarenim ili patvorenim voćnim vinom
2. Miješanje voćnog vina s vinom
3. Proizvodnja voćnog vina od komine ili taloga

### **2.3. Industrijska proizvodnja voćnih vina**

Osnovni principi proizvodnje dobrog vina sežu u daleku prošlost. Suvremeni postupci u vinogradu i podrumu, kao i sve složenije metode analize vina otvaraju mogućnosti stvaranja vina visoke kvalitete i određenog stila. Da bi vino bilo što kvalitetnije, prije svega bitno je da se odabere sirovina odgovarajuće kvalitete na što utječu izbor sorte, klimatski uvjeti, tip tla, položaj i zahvati u vinogradu, odnosno voćnjaku. Za proizvodnju određenog tipa vina, odabiru se željene voćne vrste koje daju vinu vlastitu aromu, a voće mora biti odgovarajućeg stupnja zrelosti u skladu s kojim se određuje trenutak berbe. Uvjeti prerade sirovine, vinifikacije masulja i mošta te njege i čuvanja vina utječu na karakteristike vina, među njima i na količinu fenola u vinima, razinu antioksidativnog djelovanja te njihovu krajnju aromu (Lachman, 2006). Tehnologija proizvodnje voćnih vina je uvelike slična proizvodnji vina od grožđa. Osnovni koraci u proizvodnji vina i voćnih vina prikazani su na slici 1.



Slika 1. Postupci pri proizvodnji vina

### 2.3.1. Čišćenje, usitnjavanje i prešanje

- Čišćenje

Kod industrijske proizvodnje voćnih vina iz kvalitativnih razloga potrebno je da vrijeme između dostave i prerade bude što kraće. Treba omogućiti dostavu voća tako da je moguć neprestan rad pogona za preradu (Kolb i sur., 2007). Ako se voće ne može iskoristiti odmah nakon branja, skladišti se u silosima. Uz osnovne značajke, kao što su aromatičnost, visok sadržaj boja i iskoristivost soka, važan kriterij za kvalitetu voća je i njegova mehanička otpornost, kako bi plodovi kroz berbu, transport i pranje mogli proći neoštećeni tj. bez gubitka soka. Potrebno je voditi računa da u proizvodnji ide samo ono voće koje je ubrano barem 6 tjedana nakon prskanja zbog toksičnosti ostataka sredstva za prskanje koji se mogu zadržati na površini voća i uzrokovati zdravstvene probleme. Kod voća koje je skupljano ili mehanički brano potrebno je osigurati odvajanje lišća, trave i ostalih nečistoća budući da postoji opasnost od negativnog senzorskog utjecaja na mošt.

Voće koje je dostavljeno na industrijsku preradu u postrojenje, kanalima se transportira do uređaja za pranje, a zatim na muljače. Za kosi ili horizontalni transport voća koriste se trake, pužasti pokretači, a u rijetkim slučajevima i elevatori s posudicama.

Pranjem voća uklanja se prljavština, prašina, zemlja i ostale nečistoće (ostaci sredstva za prskanje). Koliko će pranje biti uspješno ovisi o načinu rada uređaja, trajanju procesa pranja, temperaturi, pH vrijednosti vode i o eventualnom dodatku dezinfekcijskih sredstava. Koštičavo i jagodičasto voće (jagode, maline, kupine) često se prerađuje bez pranja, a u slučaju prljavog materijala potrebno je tek pranje pod blagim mlazom vode. Redovito se pere samo jezgričavo voće. U praksi ne postoje univerzalni uređaji za pranje budući da je voće koje dolazi u obzir kod proizvodnje vina različite veličine, oblika i osjetljivosti.

- Usitnjavanje

Kad govorimo o usitnjavanju voća onda u obzir dolaze samo mehanički postupci. Prije se jezgričavo voće usitnjavalo pomoću kamenih mlinova sa rotirajućim noževima za bolje usitnjavanje, a zatim bi se valjcima uz tlak i ribanje pretvaralo u kašu. Danas se takav princip koristi još samo kod muljanja koštičavog i jagodičastog voća, pri čemu se koriste metalni valjci obavijeni gumom, čiji se razmak može regulirati. Kao moderni primjeri usitnjavanja voća koriste se još i razne vrste miksera. Unutrašnja stijenka miksera je u obliku plašta izgrađena od nehrđajućeg čelika s rupicama nazubljenima prema voćnoj masi. U prostoru koji je ograđen plaštem, voće se pokreće uz pomoć krilaca rotora, te centrifugalnom silom pritišće na plašt čije ga nazubljene rupice usitnjavaju i kroz koje kaša zatim izlazi van. Željenu veličinu čestica reguliramo veličinom rupica na plaštu. Najvažniji proces prije postupka usitnjavanja voća je odvojanje ozljeđenih, trulih i pljesnivih plodova. Način usitnjavanja ima velik utjecaj na iskorištenje soka i kvalitetu završnog proizvoda.

- Prešanje

Nakon usitnjavanja voća slijedi prešanje. Pod prešanjem se smatra razdvajanje čvrstih i tekućih djelova voća odnosno sok (mošt) se odvaja od komine. Odvajanje peteljki obavlja se uz pomoć uređaja koji se sastoji od gumenih valjaka različitih promjera koji rotiraju u suprotnim smjerovima. Pri razmaku između dva valjka peteljke se odvajaju, a da se voće pritom ne ošteti. Što je voće više usitnjeno, to je teže doći do soka iz čvrstih čestica. Važni kriteriji za iskoristivost soka pri prešanju su: stupanj usitnjavanja voća, tlak, visina sloja u preši i ocijeđivanje. Masulj dobiven nakon usitnjavanja ima strukturu "spužve" te unatoč deformaciji tijekom prešanja, ona ostaje očuvana i sadrži male kanale kroz koje otječe sok. Prema tome odabrano usitnjavanje mora predstavljati kompromis između održavanja stabilne strukture ili uništenja stanica. Za dobru iskoristivost nije bitna visina tlaka koja se pritom koristi, već njegovo postupno povećanje u vremenskim intervalima. S obzirom na visinu sloja u preši, želi se postići što tanji sloj voća tako da sok istječe brže. Takve preše bi trebali biti glomazne i skuplje pa su s ekonomskog pogleda zahtjevnije.

Budući da se različite vrste voća drugačije ponašaju pri mehaničkoj preradi teško je doći do pravilnog načina prešanja. Ovisno o sorti voća, stupnju zrelosti i načinu usitnjavanja, različit dio soka može slobodno otjecati, a kada bi taj proces obavili u određenim zatvorenim posudama direktno bi povećali kapacitet preše. Najbolji način za kontrolu iskoristivosti soka iz komine je mjerenje udjela vode u komini (Kolb i sur., 2007).



### 2.3.3. Priprema i provedba fermentacije

Fermentacija (vrenje) je naziv koji dolazi od latinske riječi *fevere = ključati, vreti*. Prije se vrenjeodvijalo u drvenim bačvama dok se danas u veći slučajeva koriste tankovi od nehrđajućeg čelika (inox). Betonske posude sa staklenim stijenkama nije preporučeno koristiti jer može doći do nagrizanja cementnih fuga od strane voćnih kiselina. Alkoholna fermentacija je pretvorba mošta (masulja) u vino uz djelovanje kvasaca, također ako se odvija na masulju onda se istovremeno vrši i maceracija. To je složen biokemijski proces razgradnje šećera s intermedijarnim reakcijama. Tijekom tih reakcija stvaraju se etanol i ugljični dioksid te nastaju i razni sekundarni međuprodukti - glicerol, viši alkoholi, esteri, organske kiseline, acetaldehid i drugi koji utječu na kvalitetu voćnog vina. Pri tome se oslobađa i određena količina energije koja se manifestira kao toplina. Jedno od najznačajnijih otkrića u procesu fermentacije je njena bolja kontrola upotrebom selekcioniranih kultura kvasaca te se selekcija vinskih kvasaca provodi već dugi niz godina (Boulton i sur., 1996; Jackson, 2014).

- Priprema

Prije nego proces vrenja preuzme ulogu u proizvodnji željenog vina, pripremom i dodavanjem raznih sastojaka utječemo na provedbu fermentacije. Podrazumijeva se da voda koja ide u uporabu mora biti omekšana i mikrobiološki čista. Pitka voda ne smije sadržavati eventualne uzročnike bolesti i kvarenja vina. U nekloriranoj ili slabo kloriranoj vodi u kratkom vremenu dolazi do porasta broja mikroorganizama, a uređaji za pripremu vode mogu isto biti potencijalni izvori infekcija te je potrebno i njih mikrobiološki provjeravati. Koliko se šećera dodaje isključivo ovisi o količini željenog alkohola, a može se obaviti i s dozvoljenim vrstama voćnih koncentrata. Pri optimalnim uvjetima računa se na 85% - 90% iskoristivosti šećera, dakle od 10 kg saharoze može se dobiti 59 - 61 L čistog alkohola. Takvo iskorištenje nećemo dobiti budući da tijekom proizvodnje vina dolazi do određenih gubitaka alkohola na razmnožavanje i "disanje" mikroorganizama, a dio i na isparavanje alkohola iz vina. Dodavanje kiseline kod industrijske proizvodnje voćnih vina i desertnih voćnih vina nije uobičajeno, budući da harmonični proizvodi ne smiju imati ukupnu kiselinu veću od 8 g/L. Samo kod jako slatkih desertnih voćnih vina (100-200 g/L) kiselina može biti iznad 8 g/L.

Danas, jedna od najbitnijih preporuka je da se tijekom vrenja masulja dodavaju pektolitički enzimi. Enzimi olakšavaju prešanje i ekstrakciju boje tijekom vrenja i tako povećavaju iskoristivost soka. Tijekom prerade jagodičastog voća poput bazge, jagoda, kupina, ribiza preporuča se obavezno dodavanje pektinaza. Zbog velikog udjela pektina u tom voću dolazi

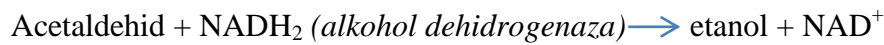
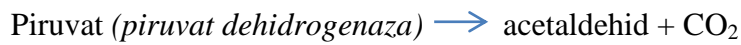
do nastajanja jako viskoznih supstrata koji se teško prešaju. Pektini su ugljikohidrati, polimeri galakturonske kiseline, a ponekad sadrže pentoze. Ubrajamo ih u hidrokoloide, tvari koje posjeduju veliki afinitet vezanja na molekule vode te uzrokuju probleme tijekom prešanja. Pektolitički enzimi moraju djelovati na umanjivanje viskoziteta i povećanje ekstrakcije boja. Maksimalna temperatura za optimalnu aktivnost enzima trebala bi biti 50 °C, a pH oko 4. Za zagrijavanje masulja koriste se posebni sustavi zagrijavanja. Enzim se u masulj dodaje kontinuirano u protok nakon zagrijavanja. U posudama za masulj s integriranim mješalicama masulj se 45-60 minuta podvrgava djelovanju enzima i tek nakon toga preša. Masulj se pomoću crpki od nehrajućeg čelika zatim dostavlja u posude za prvođenje fermentacije (Kolb i sur., 2007).

- Provedba fermentacije

Drugom sredinom 20. st. dolazi do razvoja novih sojeva suhих vinskih kvasaca čija su tehnološka i enološka svojstva imala predvidljiv utjecaj na kvalitetu vina. Svaki od tih sojeva imao je poželjna svojstva čiji je utjecaj na vino bio dobro proučen, poput fermentacije na niskim temperaturama, slabo pjenjenje, dobro taloženje, killer-faktor i proizvodnja aromatičnih spojeva (Degre, 1993). Zato se danas preporuča nacjepljivanje selekcioniranim suhim (liofilizirani) kvascima koji se direktno dodaju (oko 50–100 g/m<sup>3</sup>) zajedno sa amonijevim fostatom kao hranom za kvasce u slučaju ako je sok razrijeđen s vodom. Prema istraživanjima, najmanje 85% proizvođača u svim svjetskim vinskim regijama koristi aktivne suhe kvasce (Fugelsang i Edwards, 2007). Oni onemogućuju razvoj divlje mikroflore, a razmnožavanje kvasaca traje oko 48 sati i poslije nekog vremena potpuno prestaje. Nakon razmnožavanja kvasaca slijedi vrenje. Za proizvodnju desertnih vina potrebna je obavezna primjena starter-kultura zato jer treba postići više koncentracije alkohola. Iako postoji velika mogućnost da će inokulirani *Saccharomyces cerevisiae* dominirati fermentacijom, inokulacija neće nužno jamčiti isključivo njegov doprinos fermentaciji. Značajni čimbenici koji na to utječu su: populacija autohtonih kvasaca već prisutna u soku, a presudan je izbor soja kvasca i njegova prilagodba na okoliš (Krieger–Weber, 2009). Zato, da bi se provela kvalitetna fermentacija prate se određeni postupci poput inaktivacije prirodne ili "divlje" mikroflore (kvasci, plijesni, bakterije) i enzima. A provode se prije dodavanja kvasaca i to zagrijavanjem na 87 °C, 10-20 sekundi.

Početak fermentacije mošta očituje se zamućenjem kvašćeve biomase. Nastaje ugljikov dioksid (CO<sub>2</sub>) mošt se pjeni, sok poprima peckav okus te dolazi do razgradnje šećera i povećavanja udjela alkohola u moštu. Uz djelovanje kvasca *S. cerevisiae*, iz piruvata

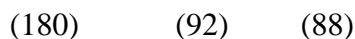
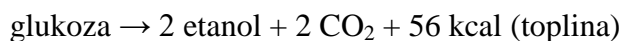
(pirogroždana kiselina) dekarboksilacijom nastaje acetaldehid, čijom redukcijom dolazi do nastajanja etanola pri čemu se istodobno  $\text{NADH}_2$  oksidira u  $\text{NAD}^+$ .



Na samom početku kontakta kvasca i mošta u moštu prevladavaju aerobni uvjeti (uz kisik), a najviše energije se troši na razmnožavanje (porast kvaščeve biomase) čiji su krajnji produkti ugljikov dioksid, voda i energija. U ovim uvjetima kvasac za svoj rast i razvoj troši malo šećera, a oslobađa se velika količina energije (zagrijavanje smjese). Fermentacija u pravom smislu se odvija isključivo u anaerobnim uvjetima (bez kisika) kada kvasac za svoje metaboličke potrebe koristi kisik iz šećera gdje nastaje etanol i  $\text{CO}_2$ . S teoretskog aspekta oslobađa se znatno manje energije (topline), a šećer je u ovom procesu iskorišten, ali nepotpuno.

Završetak fermentacije opaža se po tome što dolazi do sve slabijeg otpuštanja ugljičnog dioksida, a na kraju i potpuno prestaje. Za proizvodnju desertnog voćnog vina od kupine potrebno je nakon mljevenja ili prešanja izvršiti vrenje na komini u trajanju od 2 do 3 dana (Kolb i sur., 2007).

Kemizam i stehiometrija fermentacije (anaerobni proces):  
molekula glukoze se razgrađuje na 2 molekule etanola i  $\text{CO}_2$  uz oslobađanje topline



#### 2.3.4. Pretok, njega i bistrenje vina

Pretakanje je jedan od najčešćih postupaka koji se primjenjuje tijekom čuvanja vina. Svrha pretakanja je pokretanje, ubrzavanje ili djelomični završetak niza fizikalno-kemijskih i biokemijskih procesa odgovornih za formiranje kakvoće vina. Pritom se vrši odvajanje bistrog vina od taloga (kvasci i bakterije, dijelovi grožđa, kalijev bitartarat, željezni fosfat i bakreni sulfid), uklanjanje ugljikova dioksida, aeracija (kisik uklanjanja strane mirise, smanjuje

lomove željeza i bakra, omogućava fermentaciju preostalog šećera, sudjeluje u intenziviranju boje) i homogenizacija vina.

- Pretok

Vrijeme prvog pretoka odredi se na osnovi kontrole vrijednosti ekstrakta, kiselina i organoleptičke ocjene. Ako je nakon završenog vrenja temperatura viša od prosjeka vrši se pretok. Tijekom tog procesa potrebno je obaviti sumporenje, ali samo ako se kemijskom analizom utvrdi da nema potrebe za biološkom razgradnjom kiselina. Jabučno-mliječna fermentacija (JMF) je pojam koji povezujemo sa smanjenjem udjela ukupnih kiselina u vinu i sveukupnim poboljšavanjem arome vina. Preveliko dodavanje sumpora može dovesti do stvaranja sumporovodika koji ima miris po trulim jajima što nije poželjno. Pretok se najčešće radi uz pomoć centrifuga. U tom slučaju kvasaci i talog se odvajaju mehaničkim putem od vina, vrtnjom bubnja. Uređaji koji se pri tome koriste su zatvorenog tipa kako bi se spriječio kontakt sa zrakom.

Nakon pretoka slijedi razdoblje čuvanja vina tako dugo dok se ne izgubi okus kvasca. Posude u kojima se čuva vino moraju biti zatvorene i potpuno pune kako bi se spriječila neželjena oksidacija zbog dotoka zraka. Pretočeno vino čuva se u trajanju od 1 do 3 mjeseca u dobro zatvorenim posudama, nakon čega slijedi drugi pretok. Prilikom ove faze moguće je podešavanje proizvoda po želji tj. podešavanje osnovnih parametara kao što su alkohol, kiseline, ostatak šećera, slobodni SO<sub>2</sub> i dr.

- Njega i bistrenje vina

Njega vina može utjecati na mirisne i okusne osobine voćnog vina. Pod njegom vina podrazumijevamo bistrenje vina dodavanjem određenih tvari koje su za to namijenjene. Bistrenju se pristupa tek kad je vino prevrelo do kraja odnosno kada je završena jabučno-mliječna fermentacija i kada laboratorijskom analizom utvrdimo da je vino zdravo. Bistrenje olakšava filtraciju, uklanja neželjene tvari koje mogu izazvati stvaranje taloga te poboljšava okus i miris vina. Površinskim djelovanjem između čestica dolazi do njihovog taloženja ili mogu nastati fine koloidne pahuljice. Taloženje raznih komponenti u vinu ovisi o sadržaju alkohola, temperaturi i pH. Najčešći talozi su soli vinske kiseline (K i Ca), talozi spojeva s željezom tzv. sivog i plavog loma. Zatim taloženje bjelančevina, te jako bitno taloženje obojenih tvari - primjerice tijekom čuvanja obojenih vina kao što je kupinovo dolazi do taloženja antocijana koji su u kristalnom i koloidnom stanju zbog čega se vino zamućuje i

izlučuju se obojene tvari koje smanjuju intezitet obojenja za 10 do 20%. Takva koloidna frakcija negativnog naboja predstavlja nestabilni oblik antocijana u vinu, a do njegovog taloženja dolazi ako se izloži niskoj temperaturi pri 0 °C.

Tvari koje se koriste za bistrenje su organska bistrila (bjelančevinaste tvari, tanini, agar-agar) i mineralna bistrila koja se u vinu ponašaju kao koloidi sa više ili manje izraženim adsorptivnim svojstvima kao što su bentoniti, španjolska zemlja i kaolin, kremična kiselina, čista silicijeva sol, kalijev heksacijanoferat, aktivni ugljen, inertna filtracijska sredstva, perlit i celuloza. Bentonit je vrsta gline koja se sastoji od više minerala od kojih je najvažniji montmorilonit i koja se najčešće koristi pri obradi proteina. Eliminacijom većeg dijela bjelančevina smanjuje se mogućnost pojave lomova (sivi i plavi lom).

U ovoj fazi postiže se slijedeće: olakšava se buduća filtracija, uklanjaju se tvari koje kasnije mogu uzrokovati mutnoću te se poboljšava okus i boja vina.

Filtracija se provodi da bi se odstranile najfinije čestice koje su zaostale nakon bistrenja. Vršiti se uz pomoć sloja poroznog materijala koji omogućava protok vina, ali ne i čestica taloga. Veliku ulogu kod izbora materijala za filtriranje ima iskorištenje koje ovisi o vrsti materijala za filtriranje, tlaku kojim se filtrira te obliku i količini čestica taloga. Kako zahtjevi potrošača sve više rastu, u prodaji se očekuju potpuno bistra vina pa se sva voćna vina moraju obavezno filtrirati. Materijali moraju imati svojstvo inertnosti. Vrste filtracije koje se najčešće koriste su različite i ovise o svojstvima vina, a mogu biti: membranska filtracija, naplavna filtracija, pločasta filtracija ili cross-flow filtriranje.

Centrifugiranje je grubo bistrenje ili tzv. fino bistrenje. Povećanjem broja okretaja povećava se sposobnost odvajanja čestica, pa se pri 6500 okretaja po minuti mogu uklanjati mikroorganizmi iz vina s malim brojem čestica (manje od 8%).

Za bistrenje se može koristiti i primjena dekantera.

Gotovo u svim slučajevima njege vina dolazi do izbljeđivanja boje i promjene arome vina (okusa i mirisa). Stoga postupke s voćnim vinom treba usmjeriti na razvoj pozitivnih i sprječavanja pojave negativnih značajki kvalitete vina (Kolb i sur., 2007).

### **2.3.5. Punjenje i zatvaranje boca**

Prije punjenja voćnog vina, jako bitno je voditi računa o čistoći boca. Danas, u industriji postoje različiti uređaji za pranje koji rade na sljedeće načine: čišćenje namakanjem i četkanjem boca, čišćenje prskanjem boca, čišćenje namakanjem i prskanjem boca. U praksi se

najčešće koriste ovi uređaji: kotači za namakanje, uređaji na principu prskanja i izduženi uređaji.

Sredstva za pranje korištena u procesima pranja ne smiju mijenjati sastojak boce, moraju biti dobre topljivosti, neotrovna, imati sposobnost otapanja i uklanjanja nečistoća, razgradnje masti i ulja, sprječavanje korozije, uništavanje mikroorganizama, te moraju biti biorazgradiva. Klasična sredstva koja se koriste kod pranja boca, natrijeva lužina i soda (natrijev hidrogen karbonat), ispunjavaju samo dio uvjeta jer uzrokuju koroziju uređaja i pogona. Danas se sve češće dodaju i polifosfati koji kod visokih temperatura prelaze u ortofosfate koji stvaraju probleme pri obradi otpadnih voda. Još se dodaju poliglicerin i glikanat koji pri visokim temperaturama sprječavaju taloženje kamenca. Silikati se dodaju jer njihovo djelovanje pruža anti-korozivnu zaštitu. Da bi smanjili površinsku napetost vode i na taj način poboljšali čišćenje dodajemo detergente, a sredstva na bazi klora dodaju se zbog njihovog antimikrobnog djelovanja.

Nakon što voćno vino odleži i uklone se čestice taloga ono je spremno za punjenje. Boce prije punjenja moraju biti prikladno očišćene i oprane. Važno je da proces bude sterilan. Vinima, koja zbog bolje kvalitete moraju biti podvrgnuta procesu starenja, povećava se koncentracija SO<sub>2</sub>. Držeći se industrijskih pravila proizvodnje za očuvanje kvalitete voćnih vina potrebno je spriječiti kontakt vina sa zrakom i očuvati željenu razinu CO<sub>2</sub>. Postoje različiti načini punjenja kao što su hladno punjenje i pasterizacija punih boca, vruća punjenja s hlađenjem, hladno-sterilno punjenje, hladno sterilno punjenje nakon kratkog zagrijavanja na visokim temperaturama. Zbog šećera koji sadržavaju voćna i desertna voćna vina moraju biti punjena vruća ili sterilno ili pasterizacijom. Prije toga se vino mora odgovarajućim načinom testirati na toplinsku stabilnost (Kolb i sur., 2007).

Voćna se vina zatvaraju aluminijskim zatvaračima na navoj koji funkcionira kao prstenasti osigurač i omogućava potrošaču da vidi je li boca originalno zatvorena ili je već bila otvarana. Za zatvaranje boca voćnih vina koriste se tzv. "*gasdih*" zatvarači. Kod takvih zatvarača u unutrašnjosti čepa nalazi se pločica koja nakon zatvaranja prijanja za otvor i onemogućava protok plina (Kolb i sur., 2007). Dobro prijanjanje osigurava zaštitu od ulaska zraka ili vode u bocu zbog djelovanja vakuuma. Opasnost koja se može javiti kod procesa zatvaranja je nastanak tlaka zbog sekundarne fermentacije vina. Budući da zatvarači onemogućuju protok plina odnosno CO<sub>2</sub>, može doći do pucanja boce. Zbog toga se danas razvijaju zatvarači koji zadržavaju vakuum, ali kod pojave tlaka propušta se zrak prema van. Ako postoji sumnja da zatvarači ne omogućuju protok, potrebno je napraviti kontrolu dubine prijanjanja koja se vrši posebnim uređajem (Kolb i sur., 2007).

## 2.4. Vino od kupine

Vino od kupine je jako cijenjeno zbog svojeg ljekovitog i terapijskog djelovanja, a ta svojstva su posljedica visokog udjela vitamina, velike raznovrsnosti minerala te bogatstva polifenolnih spojeva sa antioksidacijskim svojstvima. U smislu prehranbene vrijednosti, dnevna konzumacija kupinovog vina u preporučenim količinama (250 ml) može biti značajan nutritivni izvor esencijalnih minerala i može poboljšati zdravlje (Amidžić, 2011). Bitne mineralne tvari su zastupljene u kupini osobito željezo, magnezij, kalcij, kalij, cink, molibden i mangan. Nadalje, neki opasni i toksični metali su isto prisutni u ultratragovima u vinima i voćnim vinima poput kadmija, arsena i olova (Naughton, 2008). Jedna od najznačajnijih karakteristika je povećani udio magnezija, ali i željeza, čime vino od kupine ulazi u sam vrh prehranbenih proizvoda koji se odlikuju sa najvećim udjelom organskog željeza koje se brzo apsorbira u tijelo. Zato je konzumacija preporučena za slabokrvne osobe, osobe oboljele od anemije, trudnice, dojilje, davatelje krvi i sve ostale sa pomanjkanjem željeza.

### 2.4.1. Kupina

Divlja kupina (*Rubus caesius L.*) u prirodi raste slobodno, najčešće uz poljske putove kao samonikla i daje vrlo ukusne plavo-crno obojene plodove različite veličine i vrijednosti. Općenito, kupina je pojam vezan za nekoliko vrsta biljaka penjačica iz roda *Rubus* koje su zbog hibridizacije često taksonomski pogrešno svrstavane. Kultivirana kupina koja se koristi u proizvodnji voćnog vina je višegodišnja biljka iz porodice *Rosaceae* i pripada rodu *Rubus fruticosus L.* Raspostranjena je većinom po sjevernoj polutki našeg planeta te podnosi hladnoću od -17 °C, a pod snijegom može i do -25 °C. Kupina se troši i prodaje kao svježe voće, a postoji mogućnosti smrzavanja, konzerviranja i proizvodnje voćnih vina. Pored konzumacije svježih kupina, značajan udjel ovog voća se odmah prerađuje u džem, sok ili vino (Amidžić Klarić i sur., 2011). Ako se voće treba obraditi kasniji datum, skladišti se pod pravilnim rashladnim i okolišnim uvjetima. Također, zahtijeva puno svjetla i sunčanih dana te je otporna na većinu štetočina i bolesti. Ne podnosi sušu i olujne vjetrove. Sazrijeva kroz srpanj i kolovoz do rujna kada je i najpogodije vrijeme za berbu. Za vina, treba koristiti zdravo i jednolično obojeno voće bez tragova kvarenja.

Kupina je pogodna za proizvodnju težih vina tzv. medicinskih vina. Izrazito je cijenjena zbog svojeg povoljnog utjecaja na zdravlje te sadrži visoki udio dijetalnih vlakana, vitamina, folne kiseline, esencijalnih minerala poput magnezija, mangana i željeza te mnoštvo bioaktivnih komponenti (Sariburun i sur., 2010). Preporuča se za slabokrvne osobe, osobe u oporavku te starije osobe.

Svježi plod kupine sastoji se od: 87.5 % vode, 6.8 % ekstrakta, 1.5 % celuloze, šećera kao invert oko 5.7 % , 1,3 % kiselina (kao jabučna), pektina 1.5 % i 0.5 % pepela.



Slika 2. Kupina (Anonymous 1, 2016)

U svijetu postoji oko 300 sorti kupina koje su svrstane u četiri skupine: sorte puzajućeg i uspravnog rasta te sorte s bodljama i bez bodlji. U Hrvatskoj postoji oko 15 sorti, redovite i visoke rodnosti, a kupina bez bodlji koja se većinom uzgaja u našim krajevima traži pjeskovito-ilovasta i dobro drenirana tla sa mnogo humusa, pH vrijednosti od 5,5 do 6,5. Daju plodove visokog sadržaja šećera (6,3-12,5%), organskih kiselina (0,30-1,47%), pektina, celuloze, mineralnih tvari i vitamina. Uzgaja se u manjim nasadima kao samostalni grm i bere se ručno. Plodovi se koriste svježi, mogu se zamrzavati i prerađivati, a relativno visoka cijena ploda te visoki prinosi čine tu kulturu vrlo zanimljivom i s ekonomskog stajališta (Anonymous 2, 2016).



## 2.4.2. Bioaktivni sastojci kupine

Nutricionisti preporučuju jesti samonikle, divlje kupine u velikim količinama, jer djeluju umirujuće i poboljšavaju imunitet. U narodnoj medicini poznati je lijek protiv dijareje, a da je dobar za grlobolju, zubobolju, migrenu, groznicu i kašalj spominje ih i sveta Hildegard još u srednjem vijeku. Također, listovi kupine koriste se za pripremu čaja koji ima blagotvorno djelovanje na snižavanje krvnog tlaka i razine šećera u krvi, a od njega se mogu raditi i oblozi za liječenje nateklina.

Sok koji se dobiva od kupine djeluje poticajno na rad jetre, a zbog visokog sadržaja kalija i malog udijela natrija utječe na sniženje krvnog tlaka pa je korisna za oboljele od hipertenzije. Također, opažen je povoljan utjecaj kalcija i magnezija na regulaciju rada srčanih mišića (Gropper, 2009). Kupina je nabogatiji prirodni izvor apsorbljivog željeza. Željezo je sastavni dio hemoglobina, proteina koji je odgovoran za transport kisika do stanica. Pomanjkanjem željeza usporen je transport kisika odnosno stanice ga ne dobivaju u dovoljnoj količini, a rezultat toga je umor, gubitak apetita, vrtoglavica i opća slabost. Unos željeza procijenjen prema RDA (Recommended Dietary Allowance) iznosi 14 mg za muškarce i 28 mg za žene, a uočeno je da dnevna konzumacija voćnog vina od kupine u preporučenim dozama može obuhvatiti do 15 % RDA za ovaj esencijalni mineral. Nadalje, kupinovo vino sadrži spojeve kao što su askorbinska, limunska i jabučna kiselina, karotenoide, fruktozu i alkohol koji dodatno poboljšavaju apsorpciju samog željeza. Zbog toga kupinovo vino se često naziva "željezno vino" (Amidžić i sur., 2011). Iako većina crnog i tamnog voća i povrća sadrži visok udio antocijana, brojna istraživanja pokazuju da je djelovanje antocijana iz kupine najdjelotvornije u prevenciji karcinoma grla. Nadalje, prema usporedbi s drugim voćem, sadržaj antocijana kupine nalazi se u jako povoljnijem omjeru (Skrede i Wrolstad, 2002). Golatanin je specifični sastojak kupine koji uništava bakterije, među kojima je najznačajnija *Escherichia coli* i *Salmonella enteritidis*, a također djeluje antivirusno. Kiseline iz kupinova vina pomažu kod probave hrane naročito bjelančevina, a sok i meso bobica kupine bogati su karotenima. Karoteni se u organizmu pretvaraju u vitamin A, koji štiti vezivno tkivo i stijenke žila. Prehrana bogata karotenima povezana je sa smanjenim rizikom za nastanak nekih zloćudnih bolesti. Karotenoidi tipa lutein i zeaksantin koji se nalaze u kupini, pružaju zaštitu od pojave "žute pjege" kod ljudi starije dobi. Laboratorijski testovi pokazali su utjecaj kupine na prevenciju srčanih bolesti i smanjeno stvaranje LDL kolesterola tzv. lošeg kolesterola (Wu, 1995). Ljekovito kupinovo vino preporuča se kod anemije, iscrpljenosti, slabe uhranjenosti, za

reguliranje probave, tlaka ili slabe cirkulacije. Također, pojačava apetit te doprinosi boljem izlučivanju žuči i mokraće, a djeluje i kao afrodizijak.

Bobice ovog delikatesnog voća čak su 10 puta bogatije antioksidansima nego rajčica ili brokula, a sadrže i specifični antioksidans *elagitanin*, kojeg nema gotovo ni u jednoj drugoj namirnici te su odgovorni za gotovo 50% antioksidativnog djelovanja kupine. Skupina nizozemskih znanstvenika provela je rad o bioaktivnim spojevima u kupinama, o njihovoj biokemiji te o utjecaju skladištenja i industrijske prerade na kvantitetu antioksidansa. Rezultati su pokazali da bobice kupine sadrže bogatstvo sastojaka: eterično ulje, tanin i pektin, jantarnu, jabučnu, oksalnu, mliječnu, salicilnu kiselinu i veliku količinu vitamina. Antioksidativna aktivnost kupine se povezuje s njenim bogatim sadržajem antocijana, galne kiseline i kvercetina (Wang i Ling, 2000; Hager, 2008). Bogata je provitaminima A, P, E, vitaminima iz skupine B, C, K i H (biotin) te niacinom. Na 100 g kupina dolazi čak 21 g vitamina C. Vitamin C je jako poznat kao hvatač slobodnih radikala i obnavljač antioksidacijske sposobnosti vitamina E nakon njegove reakcije sa slobodnim radikalima. Pomaže u jačanju kapilara i staničnih membrana, dok vitamin E sprječava oksidaciju polizasićenih masnih kiselina, a nužan je i za stvaranje kolagena. Danas se zna da je jedan od najdjelotvornijih polifenolnih sastojaka u vinu tanin, koji iz vina veže proteine virusa i drugih mikroorganizama te ih na taj način inaktivira, a doprinosi i aromi vina. Od minerala sa antioksidativnim djelovanjem najznačajniji su mangan, željezo, kalcij i cink koji čuvaju DNA od oštećenja prouzročenih slobodnim radikalima i koji pomažu u borbi protiv antioksidativnog stresa.

Kupina sadrži visoki udjel polifenola kao što su antocijani, karoteni, flavanoli, elagitanini koji doprinose njenom ogromnom antioksidativnom i bioaktivnom potencijalu (Kaume i sur., 2012). Antioksidacijski kapacitet je važno svojstvo voća i direktno je povezano sa djelovanjem antioksidativnih spojeva, a veliki broj istraživanja ukazuje da je oksidacijski stres uzrok mnogih bolesti uključujući starenje, rak, dijabetes, staračku mrenu, kardiovaskularne bolesti, Alzheimerovu bolest i ostale neurodegenerativne poremećaje (Huang, 2012). ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) je metoda mjerenja antioksidativnog kapaciteta na uzorcima *in vivo*. Kupina ima ORAC vrijednost od 5347 na 100 g, što je svrstava među voća s najvećom ORAC vrijednosti.

### 3.1. Materijali

Uzorci voćnih vina i desertnih voćnih vina od kupine proizvedeni su od strane domaćih proizvođača na prostoru RH. Za istraživanja u ovom radu odabrano je po šest vina od obje kategorije iz berbe 2015. godine. Fizikalno-kemijska analiza odabranih uzoraka provedena je u skladu sa zahtjevima službenog nadzora koji se provodi prije puštanja voćnih vina u promet. U svrhu ovog rada određene su vrijednosti za sljedeće parametre: ukupni i stvarni alkohol, ukupni ekstrakt i ekstrakt bez ukupnih šećera, ukupni i reducirajući šećeri, ukupna kiselost, pepeo i pH vrijednost voćnih vina.

### 3.2. Primanje, označavanje i čuvanje uzoraka

Poznato je da su još u starom Rimu vinske posude imale na sebi oznake za podatke o vlasniku, vrsti i količini vina. Na grlu amfore bio je obješen poseban listić „*Pittacium*“ u prijevodu "oznaka" sa svim podacima o vinu. Danas se vina označavaju i obrađuju naprednim mehanizmima koji su propisani reguliranim pravilnicima. Prije puštanja vina u promet potrebno je provesti detaljnu analizu uzoraka vina s ciljem određivanja čistoće i kvalitete te ostalih uvjeta koje zahtijeva tržište.

**Primanje uzorka.** Podnositelj zahtjeva za stavljanje vina u promet dostavlja propisno označen prosječan uzorak koji se mora nalaziti u posudi sa originalnim zatvaračem te mora biti spreman za plasiranje na tržište. Za vina i voćna vina dostavljaju se 4 boce (minimalni volumen 3 litre). Uzorak voćnog vina za stavljanje u promet mora predstavljati prosječni uzorak cjelokupne količine predmetnoga vina za koje se podnosi zahtjev. Podnositelj zahtjeva uzorkuje vino (prosječni uzorak) na način da ukoliko je vino smješteno unutar nekoliko bačvi ili tankova, iz svake bačve ili tanka, ovisno o zapremini uzima onu količinu vina koja će u ukupnoj količini uzorka (minimalno 3 litre) predstavljati ukupan omjer stvarne količine koja je predmet zahtjeva za rješenje za promet. Radi bolje reprezentativnosti, preporuka je ujednačiti uzorak na najmanje 5 litara. Troškove analize i krajnje organoleptičke ocjene snosi podnositelj zahtjeva.

**Označavanje uzorka.** Nakon zapremanja uzorci se označavaju sukladno s pravilima:

- tvrtka (naziv) odnosno ime i prezime vlasnika proizvoda
- oznaka posude u kojem se nalazi proizvod od kojeg je uzet uzorak
- opis proizvoda i ambalaže u kojem se nalazi proizvod
- opis uzorka (oznake na uzorku i način osiguravanja originalnosti uzorka)
- redni broj evidencije (broj šifre uzorka)
- datum i mjesto uzimanja uzorka
- popis službenih osoba koje su prisustvovala šifriranju uzorka
- naziv konzervansa ako je upotrebljen

Provjerava se osnovanost podnesenog zahtjeva te po utvrđenoj osnovanosti, uzorak se kodira i prosljeđuje na fizikalno-kemijsko ispitivanje. Analitički nalaz se potom "dekodira", kontrolira i ukoliko je proizvod u skladu sa Zakonom o vinu i pratećim Pravilnicima, odnosno odgovara propisanim vrijednostima, uzorak se dostavlja na senzorsko (organoleptičko) ispitivanje gdje mu se određuje konačna kvaliteta.

**Čuvanje uzorka.** Uzorci se čuvaju prema sporazumu stranaka, a tijelo službene kontrole koje je uzelo uzorke dužno je čuvati drugi primjerak uzorka poslanog na analizu, odnosno osigurati njegovo čuvanje onoliko vremena koliko je to moguće i koliko je potrebno radi eventualne superanalize. Uzorci se skladište na sobnoj temperaturi prije početka analize. O uzorcima koji se pod šifrom dostavljaju na analizu i ocjenjivanje vodi se posebna evidencija (HCPHS, 2016).

Voćno vino koje se stavlja u promet mora imati odgovarajuća organoleptička svojstva, da je bistro i čisto bez stranog mirisa i okusa. U promet se pušta samo voćno vino koje odgovara temeljnim zahtjevima Pravilnika iz tablice 1.

**Tablica 1.** Temeljni zahtjevi Pravilnika o voćnim vinima (NN 73/06)

DOPUŠTENO	NIJE DOPUŠTENO
sadržaj stvarnog alkohola od 1,2% vol. do 13% vol., kod desertnog voćnog vina više od 13% vol. i kod aromatiziranog voćnog vina više od 4% vol.	po zdravlje štetno voćno vino
ukupne kiseline najmanje 3,5 g/L izražene kao jabučna kiselina	patvoreno voćno vino

ekstrakta bez šećera najmanje 15 g/L	pokvareno voćno vino
pepela najmanje 1 g/L	pokvareno voćno vino mješavina voćnog vina s patvorenim ili po zdravlje štetnim voćnim vinom
slobodnog sumpor dioksida najviše 30 mg/L	mješavina voćnog vina s pokvarenim voćnim vinom

### 3.3. Metode analize

Fizikalno-kemijske i analitičke metode koje se koriste u procesu analize vina i mošta, pa tako i voćnog vina su brojne te kako se tehnologija razvija sve se više usavršavaju. Danas se nekolicina parametara kvalitete vina može određivati na više načina, a otvara se i mogućnost slobodnog razvoja vlastitih metoda određivanja nekih parametara. Zbog ekonomskih razloga i veće pouzdanosti, moderni laboratoriji koriste već prihvaćene referentne metode analize vina koje je odabrala i propisala Europska zajednica (OIV, 2014).

Metode ispitivanja koje su primjenjene u radu:

- Metoda određivanja relativne gustoće elektronskom denzimetrijom
- Metoda određivanja alkoholne jakosti NIR spektrometrijom (Anton Paar)
- Metoda određivanja šećera RS-metodom
- Metoda titracije uz indikator
- Metoda destilacije s vodenom parom
- Metoda isparavanja
- Metoda žarenja

Vino se prije analize mora filtrirati preko naboranog filter papira kako ne bi bilo prisutnih nečistoća koje mogu ometati točnost metoda. Analizira se bistro vino.

Sve navedene analize provedene su prema metodama koje propisuje Međunarodna organizacija za lozu i vino (OIV, 2015.), a kemijsko-fizikalna analiza je izvršena u laboratoriju Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo koje se nalazi u sklopu Hrvatskog centra za poljoprivredu, hranu i selo u Zagrebu.

### 3.3.1. Određivanje alkohola

Kod određivanja alkohola određuje se stvarni i ukupni alkohol.

**Stvarni alkohol** izražen volumenom je broj litara etanola u 100 l otopine voda-alkohol, a čija gustoća odgovara gustoći destilata vina. Alkoholna jakost se dobiva iz relativne gustoće destilata na 20 °C određene piknometrijskom metodom i očitavanjem iz Reichard-ovih tablica. Očitava se stvarni alkohol izražen u g/L.

**Ukupni alkohol** izražen volumenom je suma stvarne i potencijalne alkoholne jakosti koja je jednaka umnošku vrijednosti za reducirajuće šećere i 0,059. Međutim, ukupni alkohol kod voćnih vina računa se s obzirom na ukupni šećer, a ne reducirajući.

**Potencijalna alkoholna jakost** je alkoholna jakost izražena u volumnim % u proizvodu pod pretpostavkom prelaska ukupne količine šećera vrenjem u alkohol.

Treba napomenuti da se određivanje relativne gustoće vina, količine alkohola i količine ekstrakta u jednom uzorku vina najčešće izvodi u kontinuitetu sa istom količinom uzorka koja je unesena u piknometar još pri određivanju relativne gustoće destilata. Za potrebe ovog rada pri određivanju gustoće destilata korišten je denzimetar koji radi na principu oscilirajuće U-cijevi (frekventni oscilator) i nalazi se ugrađen unutar uređaja Anton Paar DMA 4500, gdje se gustoća uzorka računa iz rezonantne frekvencije.

**Postupak:** odmjernu tikvicu od 100 mL napuni se uzorkom nešto iznad oznake i temperira u vodenoj kupelji na sobnoj temperaturi (20 °C) oko 30 minuta. Zatim se namjesti količina uzorka do oznake na tikvici i kvantitativno prebaci u automatsku destilacijsku jedinicu te se doda par kapljica sredstva za spriječavanje pjenjenja. Uzorak se destilira do 85 mL volumena destilata, nadopuni do 100 mL u tikvicu sa destiliranom vodom i stavi na dodatno temperiranje pri 20 °C. Takav destilat je spreman za analizu Anton Paar DMA uređajem.

### 3.3.2. Određivanje ekstrakta

Kod analize ekstrakta u voćnim vinima razlikujemo:

**Ukupni suhi ekstrakt** ili ukupna suha tvar uključuje sve nehlapljive sastojke vina pod specifičnim fizičkim uvjetima. Fizički uvjeti moraju biti takvi da tvari pretrpe što je manje moguće promjena tokom postupka.

**Ekstrakt bez ukupnih šećera** je razlika između ukupnog suhog ekstrakta i ukupnih šećera. U vinima nereducirajući ekstrakt (ekstrakt bez šećera) čine glicerol, organske kiseline, mineralne tvari, tvari sa dušikom, tvari boje, tanini te manje količine drugih nehlapljivih sastojaka.

**Rezidualni ekstrakt** je ekstrakt bez šećera i nehlapive kiselosti izražene kao vinska kiselina.

Za izračunavanje ekstrakta koristi se uređaj Anton Paar Alkolyzer DMA 4500. Primjenom programa koji je ugrađen u instrument (Alkolyzer), ekstrakt se dobije preko Tabarievih formula iz već određenih podataka za alkohol i gustoću. Rezultati se prikazuju zajedno sa podacima za relativnu gustoću i alkohol na ekranu uređaja. Ekstrakt se izražava u g/L na jedno decimalno mjesto i mora biti određen sa točnošću do 0,05 g/L. Važna napomena je da se kod voćnih vina izračunava i ekstrakt bez ukupnih šećera.

### 3.3.3. Određivanje šećera

Za određivanje šećera korištena je "RS" metoda ili metoda reducirajućih supstanci.

**Reducirajući šećeri** (prirodni invert) se odnose na sve šećere koji sadrže keto i aldehidne funkcionalne skupine, a okarakterizirani su svojim reducirajućim djelovanjem na alkalnu otopinu bakrene soli.

Princip ove metode se temelji na oksidaciji svih reducirajućih šećera uz istodobnu redukciju dvovalentnog iona bakra ( $\text{Cu}^{2+}$ ) iz alkalne otopine u jednovalentni ( $\text{Cu}^+$ ). Zatim se jednovalentni ion bakra ( $\text{Cu}^+$ ) oksidira sa kalij jodidom (KI) u kiseloj sredini i nastali jod ( $\text{I}_2$ ) se titrira 0,1 mol/L otopinom natrijiosulfata ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) uz indikator škrob do završne točke.

Prije izvođenja metode reducirajućih supstanci jako bitna je priprema, označavanje te čuvanje volumetrijskih otopina koje se koriste u postupku:

- ✓ otopina bakar-sulfata pentahidrata (Fehlingova otopina I)
- ✓ otopina kalij-natrijtartrata (Fehlingova otopina II)
- ✓ otopina kalij jodida (30%-tna)
- ✓ sulfatna kiselina (26%-tna)
- ✓ otopina škroba (1%-tna)

✓ otopina natrij tiosulfata (0,1 mol/L)

**Priprema uzorka:** prije analize važno je provjeriti da li se radi o vinu/voćnom vinu sa sadržajem šećera do 25 g/L koje se tada ne mora razrjeđivati dok vina/voćna vina sa sadržajem šećera većim od 25 g/L će se morati razrjediti prije određivanja. Također, ako se radi o crnom vinu potrebno je pomoću aktivnog ugljena (2-3 g) ukloniti obojene tvari (pigmente), taninske tvari, pektine i druge redukcijske tvari koje mogu smetati pri analizi. Takvo vino se dobro promućka i ostavi stajati 10 minuta, zatim se filtrira, da se dobije bistar i bezbojan filtrat koji ide dalje na analizu.

**Postupak:** 2 mL tako priređenog uzorka vina/voćnog vina doda se u Erlenmyerovu tikvicu od 200 mL zajedno sa 10 mL Fehlingove I. otopine, 5 ml Fehlingove II. otopine i nekoliko kuglica za vrenje. Na vrh tikvice stavi se lijevak i zagrijava 2 minute te se potom smjesa ohladi tekućom vodom. Posljedica ove reakcije je crveno-smeđi talog netopljivog bakrenog oksida ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ). Sada se u otopinu dodaje po 5 mL otopine kalij-jodida, sulfatne kiseline i škroba te se takva smjesa titrira s otopinom natrij-tiosulfata do promjene boje iz plave u mliječno-svijetlu boju. Titracija se provodi s originalnom Rebelein biretom sa koje se direktno očitava sadržaj šećera u g/L. Ako se radi o razrijeđenom uzorku onda se vrijednost šećera još množi sa faktorom razrijeđenja. Točna količina reducirajućih šećera u uzorku vina/voćnog vina, izražena na jedno decimalno mjesto, računa se iz razlike između vrijednosti očitanoj na Rebelein-ovoj bireti za uzorak i vrijednosti dobivene nakon titracije slijepe probe. Svrha slijepe probe je da se odredi standardna količina potrebnih kemikalija za provođenje postupka.

**Ukupni šećeri** (ukupni invert) se definiraju kao suma svih reducirajućih šećera i "nereducirajućih" šećera (saharoza, oligo- i polisaharidi) koji tek nakon hidrolize reduciraju metalne (bakrene) ione. Postupak određivanja ukupnih šećera obuhvaća procese hidrolize šećera s mineralnim kiselinama, neutralizacije s NaOH (20%-tna otopina) i zatim kuhanja s Luffovom otopinom (vodena otopina Cu-sulfata, Na-citrata i Na-karbonata koje reagiraju sa aldozama i pentozama). Ostatak procesa je sličan kao i kod određivanja reducirajućih šećera RS-metodom.

### 3.3.4. Određivanje pepela

Ostatak dobiven potpunim sagorijevanjem organske tvari na visokoj temperaturi nazivamo pepelom. Sadržaj pepela je definiran kao ukupnost svih produkata koji ostaju nakon žarenja taloga preostalog nakon isparavanja vina. Princip metode je potpuna oksidacija organske tvari



na temperaturi između 500-550 °C gdje se svi kationi (osim amonija) pretvore u karbonatne ili druge bezvodne anorganske soli. Određivanje količine pepela je važno jer se iz cjelokupne količine i sastava pojedinih komponenti u pepelu, ili iz njihovog kvantitativnog odnosa, može procijeniti ispravnost i kakvoća bilo kojeg proizvoda. Kod određivanja pepela tekućih namirnica, ili namirnica s većim sadržajem vode, odvagana količina uzorka mora se prethodno sušiti na vodenoj kupelji, osušiti u sušioniku, a tek tada spaljivati.

**Postupak:** potrebne su nam platinske zdjelice koje. U zdjelice izrađene od platine (mogu izdržati visoke temperature) otpipetira se 10 mL uzorka vina/voćnog vina te upari do suha na vodenoj kupelji odnosno do formiranja žute, smolaste otopine. Takav ostatak se zagrije u električnoj peći na 200 °C do početka karbonizacije. Slijedi spaljivanje u pećnici na temperaturi od 500 °C. Kada pepeo postane mliječno-bijele boje formiran kao tanki film na stijenci zdjelice spaljivanje je završeno. Nakon hlađenja u eksikatoru uzorak pepela se važe na analitičkoj vazi i oduzima od mase prazne platinske zdjelice. Masa pepela se izražava u g/L na dva decimalna mjesta i množi sa 100.

### 3.3.5. Određivanje ukupne kiselosti

Ukupna kiselost vina/voćnog vina je suma svih kiselina i njihovih soli koje se neutraliziraju do pH 7 sa standardnom otopinom baze. Udio ugljičnog dioksida nije uključen u ukupnu kiselost. Princip metode za određivanje ukupne kiselosti temelji se na titraciji uzorka uz indikator bromtimol plavo i usporedba sa bojenim standardnom u završnoj točki titracije.

**Postupak:** Prije titracije vrši se priprema uzorka tako da se eliminira ugljični dioksid što se može učiniti na više načina: zagrijavanjem, korištenjem vakuum pumpe ili ultrasoničnih uređaja. U čašu od 400 mL odpipetira se 10 mL uzorka vina/voćnog vina iz kojeg je zagrijavanjem uklonjen CO<sub>2</sub> i doda 2 mL (2-3 kapi) otopine indikatora bromtimol plavo. Potom se titrira otopinom 0,1 mol/L NaOH do plavo-zelene (tamne) boje.

Rezultati se iskazuju na dva načina s obzirom da li se radi o vinu ili voćnom vinu:

**Područje vina:** ukupna kiselost se izražava kao vinska kiselina u g/L na dva decimalna mjesta gdje se vrijednost utrošenog NaOH za titraciju množi sa faktorom 0,75.

**Područje voćnih vina:** ukupna kiselost se izražava kao jabučna kiselina u g/L na dva decimalna mjesta gdje se vrijednost utrošenog NaOH za titraciju množi sa 0,6.

### 3.3.6. Određivanje pH vrijednosti

pH vrijednost je definirana kao negativan logaritam koncentracije vodikovih iona.

Direktno određivanje pH otopine nije moguće pa se ustvari mjeri razlika potencijala između dvije elektrode uronjene u ispitivanu tekućinu. Potencijal jedne elektrode ovisi o pH vrijednosti otopine, dok druga elektroda ima konstantan i poznat potencijal te predstavlja referentnu elektrodu. Za svrhu određivanja pH vrijednosti vina/voćnog vina koristili smo pH metar sa skalom kalibriranom u pH jedinicama da bi se omogućila točnost od najmanje +/- 0,01 pH jedinice. Mjerenje se provodi sa kombiniranom elektrodom koja integrira staklenu elektrodu i referentnu elektrodu u istom kućištu pa kod mjerenja pH nije potrebno koristiti posebnu referentnu elektrodu. Prije samog određivanja pH uzorka potrebno je kalibrirati pH metar. pH metar se kalibrira sa 3 standardne pufer otopine u vrijednosti od: pH 1,68, pH 4,01, pH 7,00.

Određivanje pH u uzorku vina/voćnog vina je jednostavno. Kalibrirana kombinirana staklena elektroda se uroni u uzorak te se očita vrijednost pH izravno sa skale pH metra. Mjerenje se ponovi dva puta i kao konačni rezultat se uzima aritmetička sredina, a brojčanu vrijednost se izrazi na dva decimalna mjesta.

Za potrebe ovog rada odabrano je po 6 reprezentativnih uzoraka voćnih vina i desertnih voćnih vina proizvedenih u 2015. godini. Sukladno Zakonu o vinu (NN br. 96/03, 25/09, 22/11, 55/11, 82/13 i 14/14), Zakonu o uređenju tržišta poljoprivrednih proizvoda, Pravilnikom o voćnim vinima (NN br. 73/06, 28/11, 62/11, 82/11) te ostalim pripadajućim zakonskim i podzakonskim propisima koji su usklađeni s pravnom stečevinom EU (OIV-a) u području vinogradarstva i vinarstva provedene su analize sljedećih osnovnih parametara voćnih vina: ukupni i stvarni alkohol, ukupni ekstrakt i ekstrakt bez ukupnih šećera, ukupni i reducirajući šećer, pepeo, ukupna kiselost i pH vrijednost. Na osnovi prosječnih vrijednosti parametara, vina su svrstana u kategorije kvalitete te je provedena usporedba vrijednosti fizikalno - kemijskih parametara ispitivanih voćnih i desertnih voćnih vina.

Rezultati su prikazani tabelarno i grafički.

U tablicama 2 i 3 prikazane su dobivene numeričke vrijednosti fizikalno-kemijskih parametara u odabranim uzorcima i njihove prosječne vrijednosti.

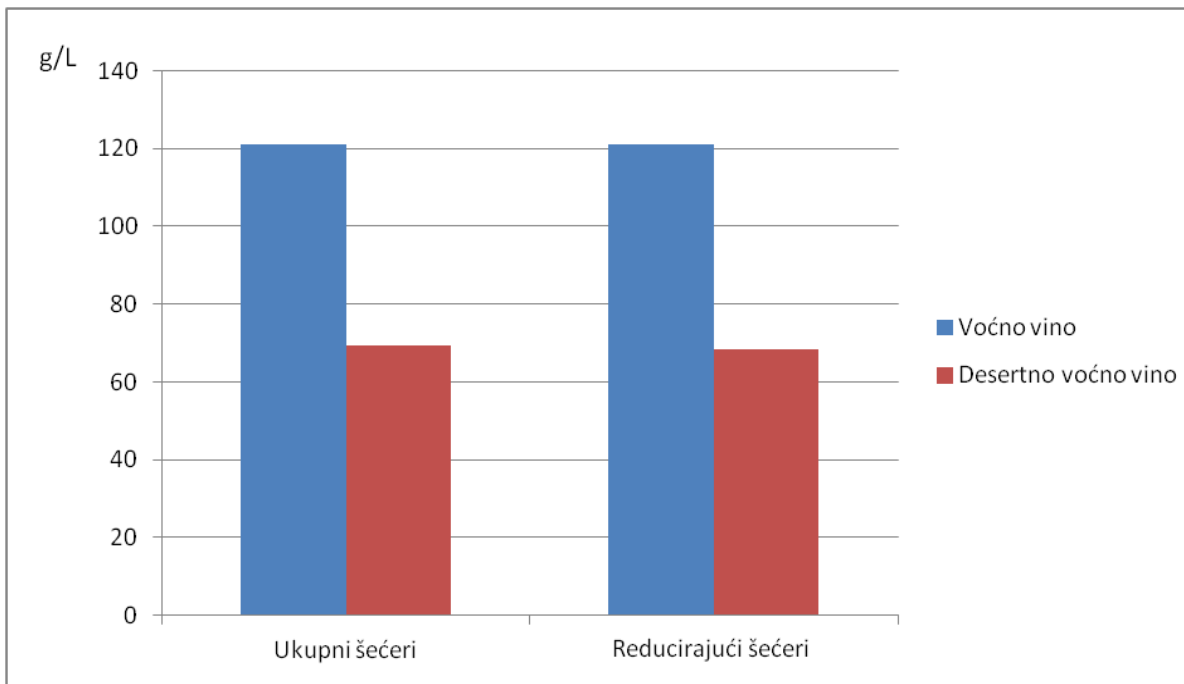
Slike 2 - 7 predstavljaju grafički prikaz usporedbe prosječnih vrijednosti za pojedine parametre voćnih i desertnih voćnih vina.

Tablica 2. Vrijednosti fizikalno-kemijske analize za voćna vina.

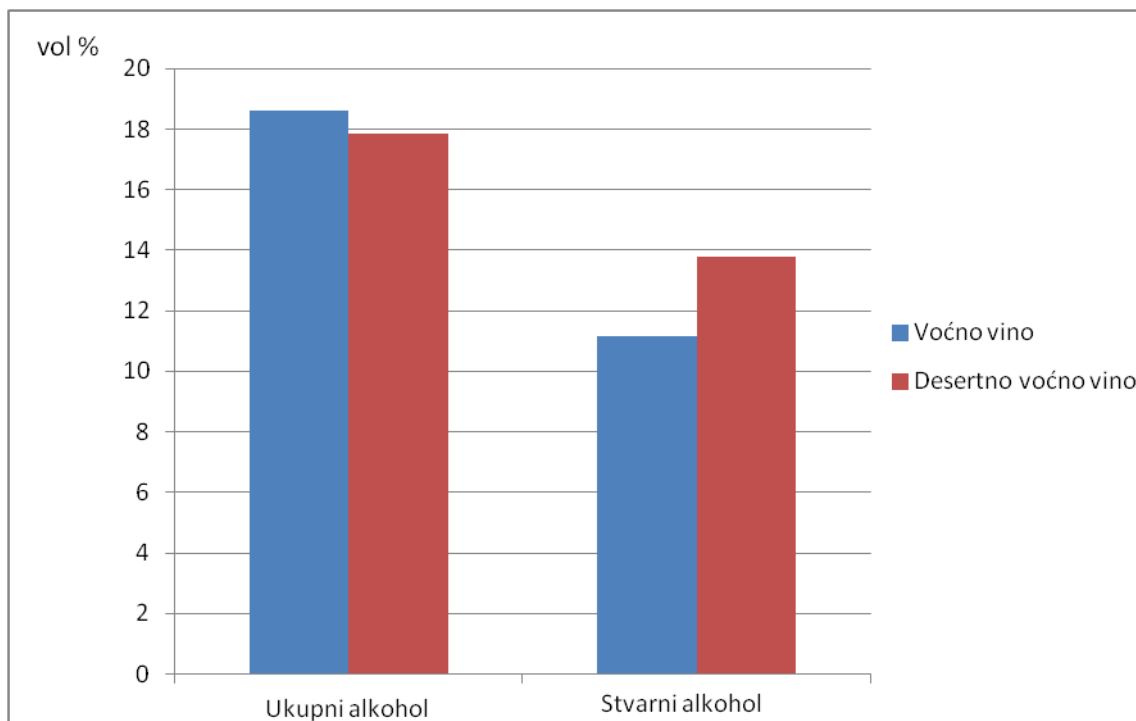
Parametri kvalitete	Uzorci voćnih vina						Prosjek
	V.V. 1	V. V. 2	V.V. 3	V.V. 4	V.V.5	V.V.6	
<b>Ukupni alkohol (vol%)</b>	11,6	16,2	18,9	19,6	21,5	23,8	18,6
<b>Stvarni alkohol (vol%)</b>	11,5	10,4	12,5	7,1	12	13,5	11,16
<b>Ukupni ekstrakt (g/L)</b>	37,7	135,5	154,2	257,1	200	215,9	166,73
<b>Ukupni šećeri (g/L)</b>	12,6	97,6	108,6	211,5	161	174,7	121,06
<b>Reducirajući šećeri (g/L)</b>	2,6	78,3	107,5	206,7	158,1	173,2	121,07
<b>Ekstrakt bez ukupnih šećera (g/L)</b>	36,1	38,9	46,6	46,6	40	42,2	41,73
<b>Pepeo (g/L)</b>	3,3	3,8	4,4	2,6	3,2	3,1	3,4
<b>Ukupna kiselost (kao jabučna) (g/L)</b>	11,7	10,6	12,1	16,5	11,1	12,2	12,37
<b>pH vrijednost</b>	3,35	3,51	3,55	3,19	3,32	3,36	3,38

Tablica 3. Vrijednosti fizikalno-kemijske analize za desertna voćna vina.

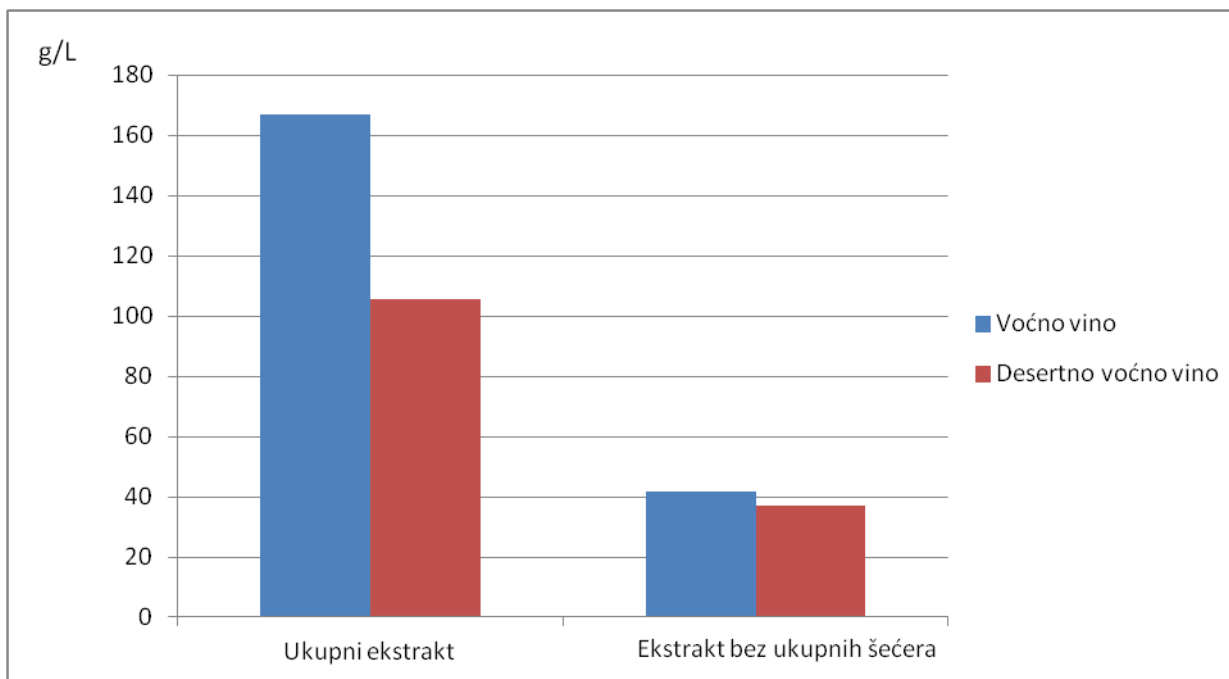
	Uzorci desertnih voćnih vina						
<b>Parametri kvalitete</b>	D.V.V.1	D.V.V.2	D.V.V.3	D.V.V.4	D.V.V.5	D.V.V.6	Prosjek
<b>Ukupni alkohol (vol%)</b>	15,3	16,1	17,7	18,4	19,2	20,3	17,83
<b>Stvarni alkohol (vol%)</b>	13	14,3	14,1	13,1	14,8	13,3	13,77
<b>Ukupni ekstrakt (g/L)</b>	59	63,9	92,1	150,3	113,6	154,5	105,66
<b>Ukupni šećeri (g/L)</b>	39,8	30,8	62,2	89,1	75,7	118,8	69,42
<b>Reducirajući šećeri (g/L)</b>	38,5	29,4	60,2	88,9	74,3	118,8	68,35
<b>Ekstrakt bez ukupnih šećera (g/L)</b>	20,2	34,1	30,9	62,2	38,9	36,7	37,16
<b>Pepeo (g/L)</b>	1,2	2,7	2,5	3,3	3,2	2,4	2,55
<b>Ukupna kiselost (kao jabučna) (g/L)</b>	5,4	9	7,2	11,9	13,2	12,6	9,88
<b>pH vrijednost</b>	3,16	3,51	3,49	3,38	3,41	3,16	3,35



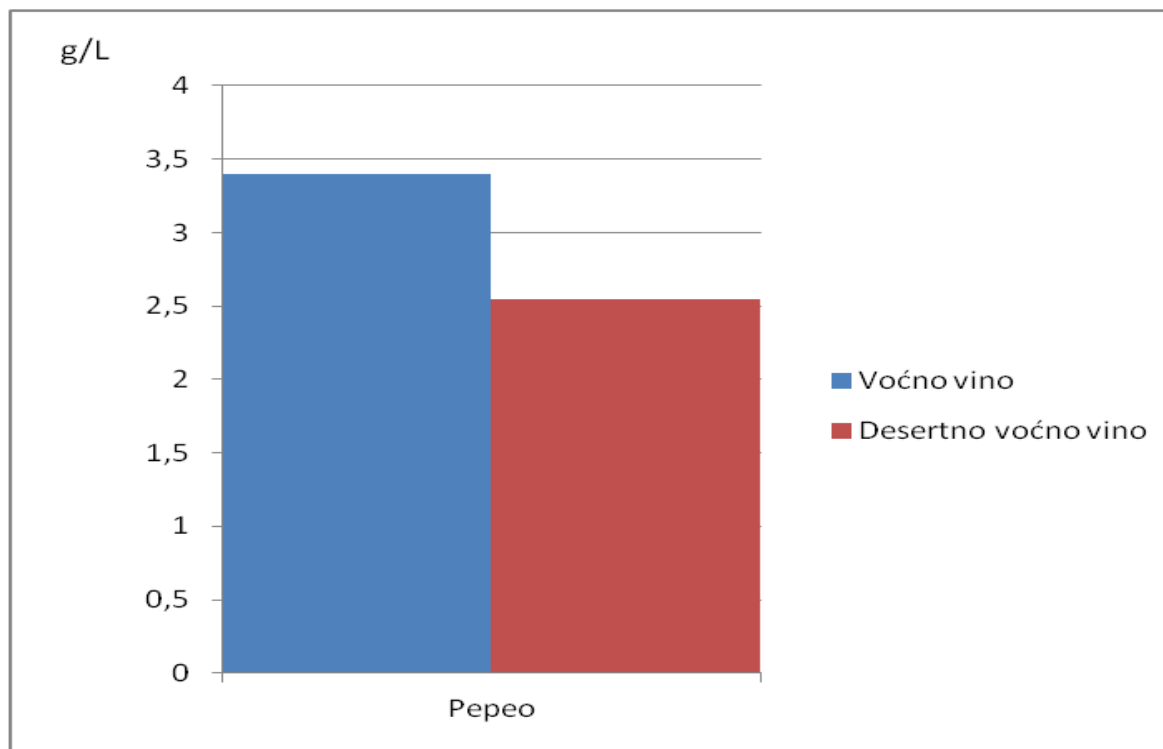
Slika 2. Grafički prikaz usporedbe prosječnih vrijednosti za ukupni i reducirajući šećer (g/L) u voćnim vina i desertnim voćnim vinima



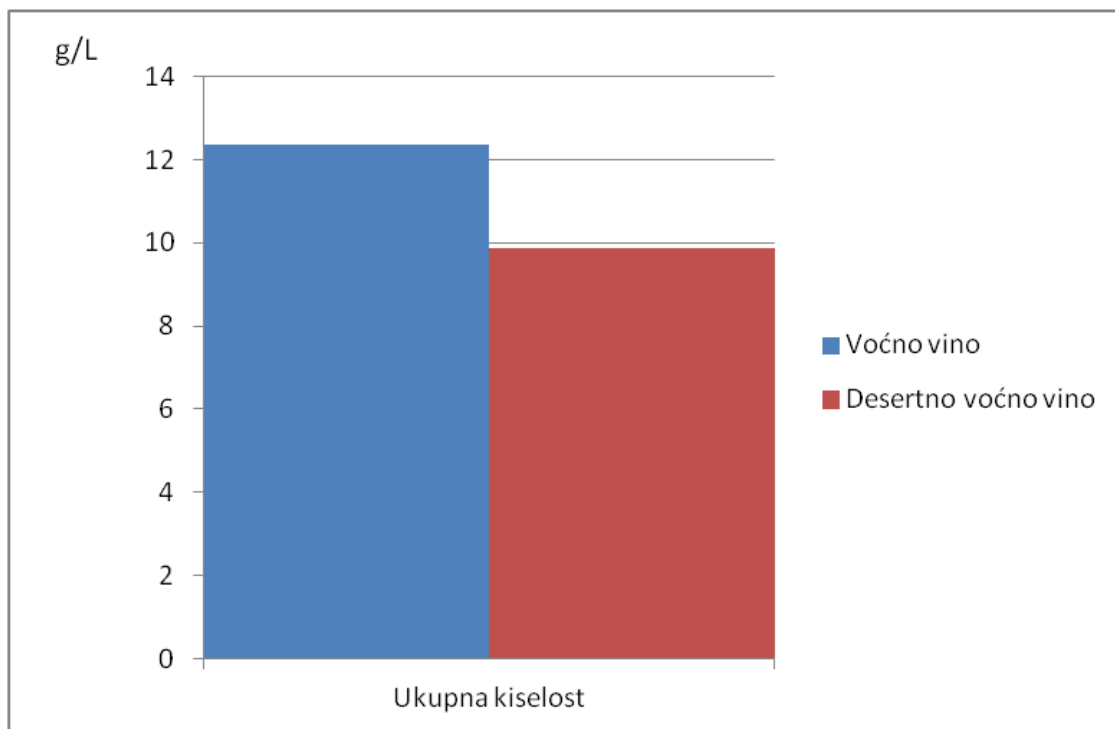
Slika 3. Grafički prikaz usporedbe prosječnih vrijednosti za ukupni i stvarni alkohol (%) u voćnim i desertnim voćnim vinima



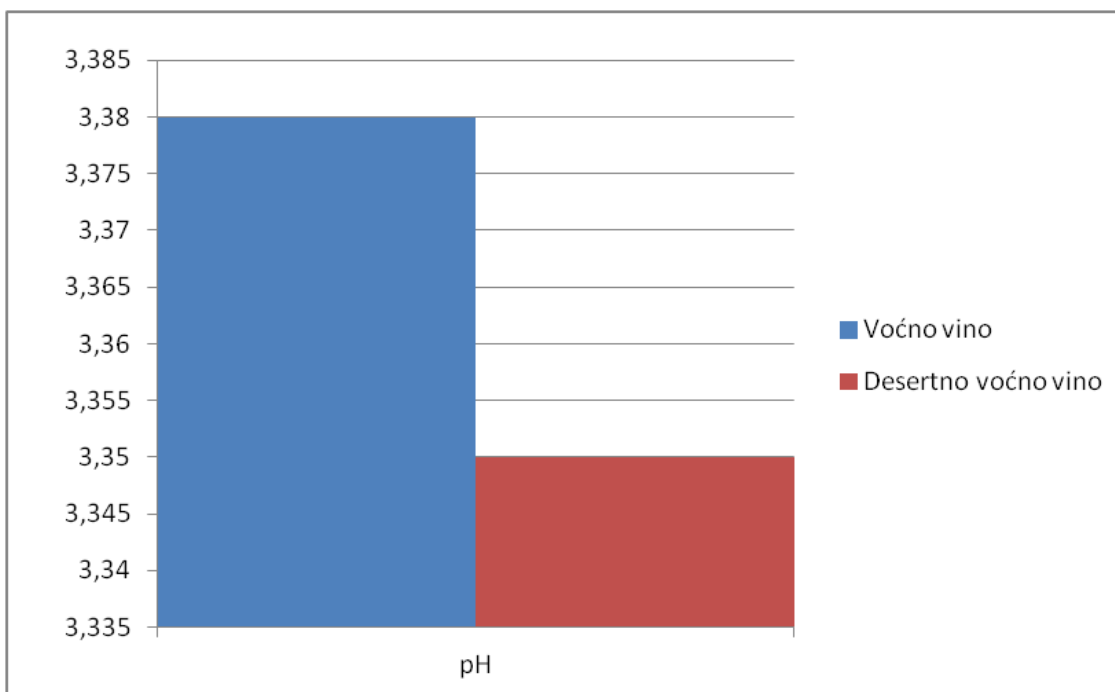
Slika 4. Grafički prikaz usporedbe prosječnih vrijednosti za ukupni ekstrakt i ekstrakt bez ukupnih šećera (g/L) u voćnim i desertnim voćnim vinima



Slika 5. Grafički prikaz usporedbe prosječnih vrijednosti za pepeo (g/L) u voćnim i desertnim voćnim vinima



Slika 6. Grafički prikaz usporedbe prosječnih vrijednosti za ukupnu kiselost (g/L) u voćnim i desertnim voćnim vinima



Slika 7. Grafički prikaz usporedbe prosječnih vrijednosti za pH u voćnim i desertnim voćnim vinima



S obzirom na ritam današnjeg života, sve više se uočava važnost kakvoće obroka i pića koje se konzumira, te se stoga i sve više obraća pozornost na njihove zdravstvene učinke (O'Brien i Davies, 2007). Kupinovo vino je voćno vino koje se tradicionalno proizvodi u kontinentalnom dijelu Hrvatske (Amidžić Klarić i sur., 2011), a obično se poslužuje kao aperitivno vino i tradicionalno se koristi kao popularni lijek za anemiju te za otklanjanje nesanice. Načini proizvodnje voćnog vina imaju važnu ulogu u formiranju kvalitete dobrog vina iz voća, kao i njihovoj ulozi u naknadnoj stabilizaciji vina, prešanju, vremenu maceracije i fermentacije, dozrijevanja, bistrenja i sazrijevanja u bocama. Jako bitno za očuvanje kvalitete voćnog vina je i njegovo pravilno skladištenje. Određena istraživanja su pokazala da uvjeti skladištenja uvelike utječu na promjenu udjela fenolnih spojeva unutar proizvoda (Recamales i sur., 2006). Kupina je bogata vitaminima, taninima i mineralima, poput željeza i mangana koji ju svrstavaju među voće sa najvišom antioksidacijom aktivnosti (Amidžić i sur., 2011).

Fizikalno-kemijskom analizom voćnih vina i desertnih voćnih vina proizvedenih od kupine kroz 2015. godinu od strane domaćih OPG-ova utvrđeni su parametri njihove kvalitete, a zatim je provedena usporedba određivanih parametara. Ukupni šećeri u voćnim vinima kretali su se u rasponu 12,6 do 211,5 g/L, a za reducirajuće šećere u istim uzorcima zabilježeno je od 2,6 do 206,7 g/L (Tablica 2). Kod desertnih voćnih vina od kupine vrijednosti ukupnih šećera kretale su se između 30,8 i 118,8 g/L, a reducirajućih 29,4 do 118,8g/L (Tablica 3). Uočen je puno veći udio ukupnih i reducirajućih šećera u voćnom vinu sa oko 121 g/L nego kod desertnih voćnih vina, gdje je iznosi 68 odnosno 69 g/L (Slika 2). Ove vrijednosti se kreću u opsegu vrijednost hrvatskih voćnih vina od kupine objavljenih u znanstvenim radovima (Amidžić Klarić i sur., 2010b; Alpeza i sur., 2014). Veći udio suhe stvari (šećera) u voćnom vinu povezan je s većim ekstraktom i boljom kvalitetom.

Voćna vina s puno ekstrakta po okusu su punija i harmoničnija, a ako imaju jako visok udio ekstrakta onda mogu biti teška i gusta. Vina s nižim ekstraktom su prazna i neharmonična. U formiranju ekstrakta voćnog vina sudjeluju nehlapljivi sastojci različitog kemijskog sastava i prirode koji su prisutni u vinu kao otopine ili koloidi (Riberreau-Gayon i sur., 2006). Ukupni ekstrakt obuhvaća sve teško hlapljive sastojke vina, a kod voćnih vina vrijednosti za ekstrakt su išle od 37,7 do 257,1 g/L (Tablica 2), dok su za desertna vina imala raspon od 59 do 154,5 g/L (Tablica 3). Slika 4 prikazuje da je prosječna vrijednost za voćna vina veća i iznosi 166.73 g/L, dok je za desertna 105,66 g/L. Ovi rezultati su u skladu s drugim istraživanjima u kojima se navode vrijednosti ekstrakta u intervalu od 44,3 g/L do 174,9 g/L (Alpeza i sur., 2014).

Alkohol u vinima, nastaje u procesom alkoholne fermentacije, pri čemu se stvaraju manje količine drugih alkohola, aldehida, ketona estera i kiselina koje se međusobno spajaju, kemijski mijenjaju i vinu daju specifičnu aromu (Tanay i Draganović, 1997). Količina etanola ovisi o količini fermentiranog šećera, kvascima, temperaturi i ostalim uvjetima fermentacije (Grainger, 2009). Treba napomenuti da se ukupni alkohol kod voćnih vina računa s obzirom na ukupni šećer, a ne reducirajući. Prema Pravilniku o voćnim vinima (NN 73/06) u voćnom vinu je dopušteno najviše 22,0 % vol ukupnog alkohola. Ukupni alkoholi kod ispitivanih voćnih vina varirali su od 11,6 do 23,3 % vol. (Tablica 2), a kod desertnih od 15,3 do 20,3 % vol. (Tablica 3). Prosječne vrijednosti ukupnog alkohola za voćna i desertna voćna vina kreću se oko 18 % vol. (Slika 3). Dobiveni podaci odgovaraju drugim vrijednostima dobivenim kod voćnih vina od kupine, proizvedenih u Hrvatskoj (Mudnić i sur., 2012; Alpeza i sur., 2014). Navedena prosječna vrijednost za ukupne alkohole predstavlja aritmetičku sredinu 6 reprezentativnih uzoraka odabranih pri pripremi ovog rada. Ako pogledamo podatke određivanja za stvarni alkohol, vrijednosti za voćna vina se kreću od 7,1 do 13,5 % vol. (Tablica 2), a kod desertnih najmanja vrijednost iznosi 15,3 te najveća čak 20,3 % vol. alkohola (Tablica 3). Sa Slike 3 uočavamo da prosječna vrijednost za desertna voćna vina iznosi 13,77 %, a za voćna vina 11,16 % vol. Kako je maksimalna dopuštena alkoholna vrijednost za voćna vina 13 % vol., a za desertna minimalno 13 % vol., možemo zaključiti da su rezultati u očekivanom intervalu vrijednosti (Pravilnik o voćnim vinima, NN 73/06). Da su desertna voćna vina alkoholnija prepisuje se postupku proizvodnje u kojem je dopušteno dodavati alkohol voćnog podrijetla ili voćne rakije. Moguće je dodavanje voćnog soka ili koncentriranog voćnog soka, a najčešće se primjenjuje dodavanje šećera.

Kod analize voćnih vina važno je računati ekstrakt bez ukupnih šećera koji je definiran kao razlika svih nehlapljivih sastojaka vina i ukupnih šećera. Za voćna vina ekstrakt bez ukupnih šećera kreće se od 36,1 do 46,6 g/L (Tablica 2), a za desertna od 20,2 do čak 62,2 g/L (Tablica 3). Prosječne vrijednosti se kreću oko 41 g/L za voćna i 37 g/L za desertna vina (Slika 4).

Pepeo u vinu predstavlja mineralne sastojke vina koji se dobiju sagorijevanjem suhog ekstrakta vina (Riberreau-Gayon i sur., 2006). Vrijednosti za pepeo kod ispitivanih voćnih vina nalaze se u intervalu od 2,6 do 4,4 g/L (Tablica 2), a kod desertnih od 1,2 do 3,3 g/L (Tablica 3). Vrijednosti su veće kod voćnih vina pa su tako prosječna mjerenja za pepeo veća za voćna vina nego za desertna voćna vina, a kreću se od 3,5 g/L za voćna i 2,45 g/L za desertna (Slika 5). Ipak, može se reći da se obje vrijednosti kreću u granicama vrijednosti

propisanih Pravilnikom prema kojem prosječni udio pepela treba iznositi oko 3 g/L pepela (NN 73/06).

Ukupna kiselost predstavlja kombinaciju nehlapljivih kiselina, među kojima prevladavaju jabučna i vinska kiselina, a kod nas se izražava kao jabučna kiselina u gramima po litri vina (Grainger, 2009). Ove kiseline utječu na kakvoću, sazrijevanje i sposobnost za starenje vina (Ribéreau-Gayon, i sur. 2006), te su uz alkohol najvažniji konzervansi za vino. S obzirom na ukupnu kiselost vina mogu biti tupa (vino s malo kiseline), kiselkasta (umjerena količina), kisela (povišena količina) i vrlo kisela (obično s visokim udjelom kiselina i malo alkohola) (Law, 2006). Ukupne kiseline u ispitivanim voćnim vinima kretale su se u rasponu od 10,6 do 16,5 g/L (Tablica 2) te od 5,4 do 13,2 g/L ko desertnih voćnih vina (Tablica 3). Prosječna vrijednost za voćna vina je 12,37 g/L, dok za desertna iznosi 9,88 g/L (Slika 6). Vrijednosti ukupnih kiselina u kupinovom vinima kod hrvatskih proizvođača kreću se od 8 do 16 g/L, te od 6 do 16,2 g/L tako da se može zaključiti da su dobivene vrijednosti u skladu s rezultatima drugih istraživača (Alpeza i sur., 2014; Amidžić Klarić i sur., 2011).

Vrijednosti za pH za voćna vina idu od 3,19 do 3,55 (Tablica 2), a za desertna voćna vina od 3,16 do 3,49 pH (Tablica 3). Prosječna vrijednost iznosi oko 3,36 pH za oba vina (Slika 7). pH vrijednosti voćnih vina od kupine koja su dobivena procesima fermentacije uz korištenje komercijalnih kvasaca (Fermol Rogue i Fermol Mediterranee) u Hrvatskoj iznose 3,34 i 3,33 (Petraović-Tominac i sur., 2013), što je u skladu dobivenim vrijednostima.

Premda se podaci za ukupni alkohol kod odabranih voćnih i desertnih voćnih vina iz 2015. godine nalaze unutar sličnih intervala i dalje se mogu uočiti glavne razlike između ova dva tipa voćnih vina. Stvarni alkohol sa prosječnim iznosom oko 11% vol. (Tablica 2) čini voćna vina laganim i osvježavajućim napitkom. Veće vrijednosti kod voćnih vina za ukupni i reducirajući šećer u prosječnom iznosu od 121 g/L (Slika 2), ukupni ekstrakt sa 166 g/L (Slika 4) kao i vrijednosti za pepeo od 3,4 g/L (Slika 5) upućuju na bogatiji sadržaj organske suhe tvari koja tom piću daje puniju i bogatiju aromu. Vrijednosti ukupne kiselosti za voćna vina prelaze 12 g/L što značajno prelazi propisanu vrijednost kod voćnih vina (8 g/L). Povišena koncentracija kiselina dovodi do promjene senzorskih karakteristika, posebice do pojave neharmoničnosti kod voćnih vina. Osim prosječno nižih vrijednosti za većinu određivanih parametara, najbitnija značajka koja ih razlikuje desertna od voćnih vina je veći udio stvarnog alkohola, koji je nastao iz dodavanog šećera ili prirodnog alkohola pri proizvodnji.

1) Primjenom standardnih metoda analize određeni su osnovni parametri u voćnim i desertnim voćnim vinima od kupine koja su zaprimljena na laboratorijsku analizu radi provjere kvalitete prije puštanja na tržište.

2) Prikazana je usporedba prosječnih vrijednosti za ispitivane parametre u voćnim vinima i desertnim voćnim vinima od kupine.

3) Rezultati su pokazali da se radi o manjim odstupanjima s obzirom na kvalitetu ispitivanih uzoraka. Voćna vina imaju veće vrijednosti za šećere, ekstrakte, pepeo i ukupnu kiselost od desertnih voćnih vina u kojima je zabilježen veći volumen stvarnog alkohola.

4) Dobivene vrijednosti određivanih parametara u skladu su s vrijednostima koje su dobili drugi istraživači analizom vina i desertnih vina od kupine.

5) S obzirom na fizikalno-kemijske parametre ispitivani uzorci u najvećoj mjeri odgovaraju zahtjevima koje moraju zadovoljiti voćna vina i desertna voćna vina prije puštanja u promet.

1. Alpeza, I., Varga, T., Kubanović, V. (2014) Composition and content of selected elements of Croatian blackberry wines. *J. Food Agr. Environ.* **12**, 100-103.
2. Amidžić, D. (2011) Utjecaj ekološkog uzgoja kupine na udio nutritivnih i biološki aktivnih sastavnica kupinovog vina. Disertacija, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, str. 170.
3. Amidžić Klarić, D., Klarić, I., Velić, D. i Vedrina Dragojević, I. (2011) Evaluation of mineral and heavy metal contents in Croatian blackberry wines. *Czech J. Food Sci.* **29**, 260-267.
4. Amidžić Klarić, D., Klarić, I., Velić, D. i Vedrina Dragojević, I. (2010b) Physicochemical characteristics of the Croatian blackberry wine.
5. Amidžić Klarić, D., Klarić, I., Velić, D., Vedrina Dragojević, I. (2010a) Physicochemical characteristics of the Croatian blackberry wine. 13th Ružička days. "Today science – tomorrow industry" 16th and 17th September 2010, Vukovar, Croatia.
6. Anonymous 1 (2016) Kupina <[http://www.thompson-morgan.com/medias/sys\\_tandm/8796967436318.jpg](http://www.thompson-morgan.com/medias/sys_tandm/8796967436318.jpg)>. Pristupljeno 1.8. 2016.
7. Anonymous 2 (2016) AgroKlub <<http://www.agroklub.com/>>. Pristupljeno 4.9. 2016.
8. Appel, J. (2008) Physicians are not Bootleggers: The short, particular life of the medicinal alcohol movement. *B. Hist. Med.* **82**, 355-386.
9. Boulton, R. B., Singleton, V. L., Bisson, L. F. Kunkee, R. E. (1996) Principles and practice of winemaking, Chapman Hall, New York.

10. Degre, R. (1993) Selection and commercial cultivation of wine yeast and bacteria. U: Wine microbiology and biotechnology, (Fleet, G. H., ured.), *Harwood Acad. Chur.* str. 421-447.
11. Fugelsang, K. C., Edwards C. G. (2007) Wine microbiology: Practical applications and procedures, 2. izd., *Springer Sci. Bus. Media, LLC*, New York.
12. Grainger, K. (2009) Wine quality: Testing and selection, Food industry Breathing Series, A John Wiley & Sons, Ltd. Publication, New York.
13. Gropper, S. S., Smith, J. L. i Groff, J. L. (2009) Advanced Nutrition and Human Metabolism. 5. izdanje. Wadsworth, *Cengage Learn.*, Belmont, CA. str. 443-450.
14. HCPHS (2016) Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo <<http://www.hcphs.hr/>>. Pristupljeno 15. 8. 2016.
15. Hager, T. J., Howard, L. R., Liyanage, R., Lay, J. O. i Prior, R. L. (2008) Ellagitannin composition of blackberry as determined by HPLC-ESI-MS i MALDI-TOF-MS. *J. Agric. Food Chem.* **56**, 661-669
16. Huang, W. Y., Zhang, H. C., Liu, W. X., Li, C. Y. (2012) Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry and strawberry in Nanjing. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* **2**, 94-102.
17. Jackson, R.S. (2014) Wine science – principles and applications. 4. izd., *Acad. Press*, San Diego, USA.
18. Kaume, L., Howard, R. L. i Devareddy, L. (2012) The blackberry fruit: A review on its composition and chemistry, metabolism and bioavailability and health benefits. *J. Agric. Food Chem.* **60**, 5716-5727.

19. Kolb, E., Demuth, G., Schurig, U. i Sennewald, K. (2007) Voćna vina (Proizvodnja u kućanstvu i obrtu); Fruitwine (Production of household and crafts). *ITD Gaudeamus d.o.o.*, Požega.
20. Krieger-Weber, S. (2009) Application of yeast and bacteria as starter cultures. U: *Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine*, (König, H., Uden, G., Fröhlich J., ured.), *Springer-Verlag, Berlin Heidelberg*, str. 489-512.
21. Lachman, J., Sulc, M. i Schilla, M. (2007) Comparison of the total antioxidant status of Bohemian wines during the wine-making process. *Food Chem.* **103**, 802–807.
22. Law, J. (2006) *Od vinograda do vina, Priručnik za uzgoj grožđa i proizvodnju vina*, Veble Commerce, Zagreb.
23. Mudnić, I., Budimir, D., Modun, D., Gunjača, G., Generalić, I., Skroza, D., Katalinić, V., Ljubenkov, I., i Boban, M. (2012) Antioxidant vasodilatory effects of blackberry and grape wines. *J. Med. Food.* **15**, 315-321
24. Naughton, D. P. i Petroczi, A. (2008) Heavy metal ions in wines: Meta-analysis of target hazard quotiens health risks. *Chem. Cent. J.* **2**, 22
25. OIV (2014) International Organisation of Vine and Wine <<http://www.oiv.int/>>. Pristupljeno 14. 8. 2016.
26. OIV (2015) Compendium of International Methods of Analysis of Wines and Musts (2 vol.) <<http://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/methods-analysis/compendium-international-methods-analysis-wines-and-musts-2-vol>>. Pristupljeno 5. 9. 2016.
27. O'Brien, G., Davies, M., 2007, Nutrition knowledge and body mass index, *Health Educ. Res.* **22**, 571–575.

28. Petravić-Tominac, V., Mesihović, A., Mujadžić, S., Lisičar, J., Oros, D., Velić, N., Srećec, S., Zechner-Krpan, V., i Petrović, Z. (2013) Production of blackberry wine by micro fermentation using commercial yeasts Fermol Rouge and Fermol Mediterranee. *Agric. Conspec. Sci.* **78**, 49-55.
29. Pravilnik o voćnim vinima (2006) *Narodne novine* **73**, Zagreb (NN 73/06)
30. Ribereau-Gayon, P., Glories, J., Maujean, A., Dubourdieu, D. (2006) Handbook of enology Vol. 2, The Chemistry of Wine, Stabilization and Treatments, 2. izd., John Wiley & Sons, Chichester, England.
31. Rivard, D. (2009) The Ultimate Fruit Winemaker's Guide, 2. izd., *Bacchus Enterprises Ltd.*, str. 11.
32. Recamales, A., Sayago, A., Gonzales-Miret, M. L., Hernanz, D. (2006) The effect of storage conditions on the phenolic composition and colour of white wine. *Food Res. Int.* **39**, 220-229.
33. Sariburun, E., Sahin, S., Demir, C., Türkben, C. i Uylaşer, V. (2010) Phenolic content and antioxidant activity of raspberry and blackberry cultivars. *J Food Sci.* **75**, 328-335.
34. Schneider, D. (2007) Ripe Time for Fruit Wine <<http://www.sfgate.com/wine/>>. Pristupljeno 15. 8. 2016.
35. Skrede, G. i Wrolstad, R. E. (2002) Flavonoids from berries and grapes. U: Shi, J., Mazza, G. Le Maguer M. Functional foods. Vol. 2. Biochemical and processing aspects. *Boca Raton, Fla., CRC Press.* str. 71–133.
36. Tanay, L.J., Draganović, E. (1997) Tehnologija s ekologijom, Školska knjiga, Zagreb.
37. Zakon o vinu (2003) *Narodne novine* **96**, Zagreb (NN 96/03)



38. Wang, S. Y., i Ling, H. S. (2000) Antioxidant activity in fruit and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivar and development stage. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 140–6.
39. Wu, W.L., Gu, Y. (1995) Blackberry introduction and cultivation. *Hort. Abs.* **65**, 5.
40. Wilson, B. (2008) Swindled: the dark history of food fraud, from poisoned candy to counterfeit coffe. *Princeton U. Press*, Princeton.