

Utjecaj mikrooksigenacije na polifenolni sastav vina

Bekavac, Klara

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:351906>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-23**



Repository / Repozitorij:

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



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno–biotehnološki fakultet**

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Klara Bekavac

7074/PT

**UTJECAJ MIKROOKSIGENACIJE NA POLIFENOLNI
SASTAV VINA**

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Osnove prehrambene tehnologije

Mentor: prof. dr. sc. *Karin Kovačević Ganić*

Zagreb, 2019.

Rad je izrađen u Laboratoriju za kemiju i analitiku vina na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Karin Kovačević Ganić, Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

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

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju i analitiku vina

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Utjecaj mikrooksigenacije na polifenolni sastav vina

Klara Bekavac, 0058206910

Sažetak:

Mikrooksigenacija je tehnika koja se sastoji od kontroliranog dodatka malenih doza kisika, a omogućava poboljšanje kvalitete vina i potencijalno skraćivanje vremena proizvodnje. Naime, primjenom ove tehnike dolazi do promjena u sastavu polifenolnih spojeva, a time i senzorskih karakteristika vina (boje, okusa i trpkocće). Najznačajnije promjene u sastavu polifenolnih spojeva uključuju: (i) smanjenje koncentracije slobodnih antocijana (ii) promjene u stupnju polimerizacije proantocijanidina, (iii) formiranje polimernih pigmenata (etilno vezanih proantocijanidin-antocijan kompleksa) te (iv) formiranje novih spojeva-piranoantocijana. Početne polifenolne karakteristike vina, doza kisika, koncentracija sumporovog dioksida kao i trenutak primjena su faktori koji značajno utječu na ishod mikrooksigenacije, dok je dugoročni učinak ove tehnike na kemijski sastav vina potrebno istražiti.

Ključne riječi: mikrooksigenacija, vino, polifenolni sastav, antocijani, proantocjanidini

Rad sadrži: 23 stranice, 7 slika, 1 tablica, 34 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničnom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: prof. dr. sc. Karin Kovačević Ganić

Datum obrane: 18. rujna 2019.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Food Technology

Department of Food Engineering
Laboratory for Technology and Analysis of Wine

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

The influence of microoxygenation on the polyphenolic composition of wine

Klara Bekavac, 0058206910

Abstract:

Microoxygenation is technique that consists of controlled addition of small amounts of oxygen into wine, with an attempt to improve wine quality and reduce the duration of wine production process. Application of this technique is responsible for changes in polyphenolic composition and furthermore wine sensory characteristics (color, taste and astringency). The most important phenolic changes caused by microoxygenation include: (i) decrease in the concentration of free anthocyanins, (ii) changes in the polymerization degree of proanthocyanidins, (iii) formation of polymeric pigments (ethyl-bridged proanthocyanidin-anthocyanin adducts), and (iv) formation of pyranoanthocyanins. Initial polyphenolic characteristics of wine, doses of oxygen, concentration of sulfur dioxide, as well as moment of application were found to be the most important factors influencing the effectiveness of microoxygenation, while long term effects of these technique remains to be examined.

Keywords: microoxygenation, wine, polyphenolic compounds, anthocyanins, proanthocyanidins

Thesis contains: 23 pages, 7 figures, 1 table, 34 references

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: PhD. Karin Kovačević Ganić, Full professor

Defence date: 18th September 2019

Sadržaj

1. UVOD	1
2. POLIFENOLNI SPOJEVI.....	2
2.1. PODJELA I KEMIJSKA STRUKTURA POLIFENOLNIH SPOJEVA	2
2.1. FLAVONOIDI.....	2
2.1.1. Flavan-3-oli	3
2.1.2. Antocijani.....	3
2.1.3. Flavonoli	4
2.2. NEFLAVONOIDI.....	4
2.2.1. Fenolne kiseline.....	5
2.2.2. Resveratrol.....	5
3. MIKROOKSIGENACIJA	7
3.1. Faze mikrooksigenacije	9
3.1.1. Faza strukturiranja.....	9
3.1.2. Faza harmonizacije	10
3.1.3. Faza zasićenja	10
3.2. Kisik i fenoli	10
3.2.1. Smanjenje koncentracije antocijana i formiranje novih pigmenta	12
3.2.2. Promjene u stupnju polimerizacije proantocijanidina	15
3.3. Faktori koji utječu na ishod mikrooksigenacije.....	17
3.3.1. Početne polifenolne karakteristike vina	17
3.3.2. Doza kisika.....	17
3.3.3. Koncentracija SO ₂	17
3.3.4. Trenutak primjene	18
4. ZAKLJUČAK.....	19
5. LITERATURA	20

1. UVOD

Tehnika mikrooksigenacije je relativno nova tehnologija u proizvodnji vina koja djelovanjem malih doza kisika utječe na promjene u sastavu i strukturi fenolnih spojeva.

Grožđe i vino bogat su izvor različitih fenolnih spojeva koji uključuju neflavonoide (fenolne kiseline i resveratrol) te flavonoide (favan-3-ole, antocijane i flavonole). Postoje brojni dokazi o antioksidacijskim karakteristikama i pozitivnom učinku polifenola na zdravlje čovjeka, međutim ovi spojevi u vinu posebno su važni kao nositelji senzorskih svojstava, u prvom redu boje i okusa vina. Također, navedeni spojevi posebno su osjetljivi na djelovanje kisika.

Najznačajnije promjene u sastavu polifenolnih spojeva djelovanjem mikrooksigenacije uključuju: (i) smanjenje koncentracije slobodnih antocijana (ii) promjene u stupnju polimerizacije proantocijanidina, (iii) formiranje polimernih pigmenta (etilno vezanih proantocijanidin-antocijan kompleksa) te (iv) formiranje novih spojeva-piranoantocijana. Nadalje, sam ishod mikrooksigenacije ovisi o brojnim faktorima kao što su početne polifenolne karakteristike vina, doza kisika, koncentracija sumporovog dioksida kao i trenutak primjene.

Cilj ovog završnog rada je objasniti kako primjenom postupka mikrooksigenacije utjecati na poboljšanje kvalitete vina te skraćivanje vremena dozrijevanja.

2. POLIFENOLNI SPOJEVI

Polifenoli su skupina molekula biljnog podrijetla, čija struktura se sastoji od aromatskog prstena s jednom ili više hidroksilnih skupina. Polifenoli su dio ljudske prehrane koje možemo pronaći u voću, povrću, vinu, voćnim sokovima, čaju i kavi. Tijekom vinifikacije ovi spojevi ekstrahiraju se iz pokožice, sjemenke i pulpe grožđa. Sastav i koncentracija pojedinih polifenola ovisi o sorti grožđa, klimatskim uvjetima, postupcima uzgoja vinove loze i primijenjenoj tehnologiji proizvodnje te enološkim postupcima. (Rastija i Medić-Šarić, 2009).

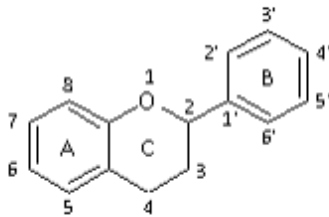
Polifenolni spojevi utječu na senzorske karakteristike vina, a to su: boja, gorčina i trpkoca, a time i na kvalitetu vina. Istraživanja su pokazala da polifenoli utječu pozitivno na zdravlje zbog svojih pozitivnih antioksidacijskih svojstava. Antioksidacijsko djelovanje polifenolnih spojeva, kao i umjerena i redovita konzumacija vina povezana je sa smanjenjem rizika oboljenja od kardiovaskularnih bolesti. Također, postoje i brojni dokazi za antikancerogeno, antimikrobno i protuupalno djelovanje polifenolnih spojeva. Poznato je kako crna vina sadrže više koncentracije polifenolnih spojeva od bijelih vina (1000-4300 mg/L).

2.1. PODJELA I KEMIJSKA STRUKTURA POLIFENOLNIH SPOJEVA

Polifenoli se dijele na dvije osnovne grupe: flavonoidi i neflavonoidi. Flavonoide čine flavonoli, flavan-3-oli i antocijani, dok u skupinu neflavonoida ubrajamo hidroksibenzojeve kiseline, hidroksicimetne kiseline i resveratrol.

2.1. FLAVONOIDI

Flavonoidi mogu biti slobodni ili vezani u polimere s drugim flavonoidima, neflavonoidima ili šećerima. Sintetiziraju se u endoplazmatskom retikulumu i pohranjuju u vakuoli stanice. Njihova funkcija u grožđu je obrana protiv mikrobnih patogena, štetnih insekata i biljojeda (Jackson, 2008). U najvećoj koncentraciji u grožđu prisutni su tijekom cvjetanja, dok im se koncentracija smanjuje tijekom rasta i razvoja bobice (Garrido i Borges, 2013). Flavonoidi predstavljaju većinu skupinu fenola u crnom vinu, a u njega dopijevaju ekstrakcijom iz pokožice i sjemenke grožđa tijekom procesa maceracije i fermentacije. (Waterhouse, 2002.) Osnovna struktura flavonoida prikazana je na slici 1.



Slika 1. Osnovna kemijska struktura flavonoida (Kennedy i sur., 2006)

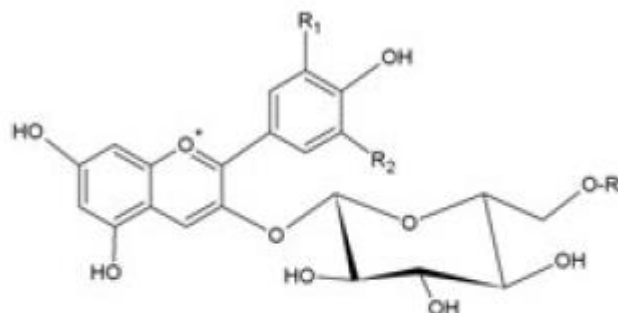
2.1.1. Flavan-3-oli

Najraširenija skupina flavonoida su flavan-3-oli. Oni doprinose gorčini vina, a ekstrahiraju se tijekom maceracije iz čvrstih dijelova grožđa. U grožđu i vinu najznačajniji flavan-3-oli su: (+)-katehin, (-)-epikatehin, (+)-galokatehin, (-)-epigalokatehin. Također, prisutni su kao aglikoni i to najčešće polimeri. Njihovom polimerizacijom nastaju pronatocijanidini, koji su nositelji trpkocće vina (Hornsey, 2007). Njihova koncentracija najvećim djelom ovisi o vremenu i temperaturi maceracije, kao i primijenjenom talku tijekom prešanja.

2.1.2. Antocijani

Antoniji su pigmenti odgovorni za boju crnog vina, koji se ekstrahiraju iz pokožice grožđa. Vrlo su nestabilni, pa je stoga ulaze u različite kemijske reakcije i komplekse s drugim polifenolnim spojevima, čime dolazi do njihove stabilizacije. U sortama crnog grožđa pronađeno je pet vrsta antocijana: cijanidin (narančasta-crvena), peonidin (crvena), delphinidin (plavičasto-crvena), petunidin i malvidin (plavičasto-crvena) (slika 2).

Postoje četiri različite strukture antocijana u kiselom ili neutralnom mediju: flavijev kation (crveni), kinonska baza (plava), hemikelat ili karbinol pseudo-baza (bezbojna) i halkon (blijedo žuti) (Brouillard i Dangles, 1994; He i sur., 2010). Boja i struktura antocijana ovisi o pH vrijednosti. Pri jako niskoj pH vrijednosti su crveni, a pri visokom pH dolazi do narušavanja njihove strukture i gubitka boje.



$R_1, R_2 = \text{H, OH, OCH}_3$
 $R = \text{H, acethyl, p-coumaryl, caffeoyl}$

Major anthocyanin
 Malvidin 3-glucoside: $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3, R = \text{H}$

Slika 2. Kemijska struktura antocijana (Anli i Cavuldak, 2012)

2.1.3. Flavonoli

Flavonoli imaju C2-C3 dvostruku vezu te na položaju C4 vezanu keto skupinu. Tri su skupine flavonola u grožđu: kvercetin, miricetin i kampferol. Količina flavonola u grožđu ovisi o stupnju zrelosti te genetičkim i ekološkim faktorima. Njihova biosinteza započinje tijekom cvjetanja te ponovno nakon zrenja bobice, nakon čega je zabilježen konstantan rast koncentracije (Moreno-Arribas i Polo, 2009). Također količina sunčeve svjetlosti koja doprije na bobicu povećava razinu flavonola iz čega proizlazi da biljka proizvodi ove sastojke kako bi se zaštitila od sunca (Price i sur., 1995).

2.2. NEFLAVONOIDI

Najzastupljenije neflavonoide vina čine hidroksibenzojeve kiseline, hidroksicimetne kiseline i resveratrol. Strukturno, ovi spojevi sastoje se od C6-C3 kostura. Iako su nebojeni, stabiliziraju boju vina te mogu pridonijeti i okusu, a pokazuju visoku biološku aktivnost (Moreno-Arribas i Polo, 2009) Nalaze se uglavnom u vakuolama stanica grožđa odakle se ekstrahiraju tijekom maceracije i pređašnja grožđa (Jackoson, 2008).

2.2.1. Fenolne kiseline

Fenolne kiseline dijelimo na derivate hidroksibenzojevih kiselina i derivate hidroksicimetnih kiselina (tablica 1).

Hidroksibenzojeve kiseline (slika 3) imaju C1-C6 kostur u svojoj strukturi te su u grožđu prisutne u manjoj koncentraciji od hidroksicimetnih kiselina. U slobodnom obliku nađene su galna, gentizinska, protokatehinska, *p*-hidroksibenzojeva i salicilna kiselina. Galna kiselina je najzastupljenija u sjemenkama grožđa (Kashif 2010, Teixeira 2013).

Hidroksicimetne kiseline imaju C3-C6 kostur u svojoj strukturi (slika 3) te su u grožđu zastupljenije od hidroksibenzojevih kiselina, posebice u pulpi i pokožici grožđa. Treća su najzastupljenija skupina fenolnih spojeva u bobicama grožđa. Doprinosu posmeđivanju pri oksidaciji s nefenolnim spojevima u bijelom vinu. Najzastupljenije hidroksicimete kiseline su: *p*-kumarinska, kafeinska, ferulinska kiselina prisutne kao *trans*-izomeri, a obično su esterificirane s vinskom kiselinom, a u slobodnom obliku ih ima manje. Najzastupljenije fenolne kiseline vina prikazane su u tablici 1.

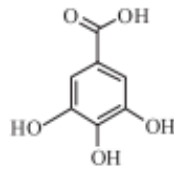
Tablica 1. Hidroksibenzojeve i hidroksicimetne kiseline prisutne u vinu (Garrido i Borges, 2013)

	R	R ₁
HIDROKSIBENZOVJE KISELINE		
Galna kiselina	OH	OH
<i>p</i> -Hidroksibenzojeva kiselina	H	H
Protokatehinska kiselina	OH	H
Siringinska kiselina	OCH ₃	OCH ₃
Vanilinska kiselina	OCH ₃	H
HIDROKSICIMETNE KISELINE		
Kafeinska kiselina	OH	H
<i>p</i> -Kumarinska kiselina	H	H
Ferulinska kiselina	OCH ₃	H
Sinapinska kiselina	OCH ₃	OCH ₃

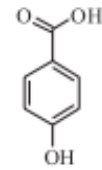
2.2.2. Resveratrol

Osnovna molekulska struktura stilbena je C6-C2-C6 kostur, a resveratrol je dominantni spoj u grupi stilbena (slika 3). Iako su prisutni u malim količinama imaju pozitivan učinak na zdravlje čovjeka. Stilbene uglavnom nalazimo u pokožici, ali može ih se naći i u peteljci. Resveratrol možemo naći u dva izomerna oblika. *Trans*-resveratrol služi kao prekursor za oligo- i polimerne stilbene kao što je viniferin (Kashif 2010; Teixeira 2013). Stilbeni služe kao antioksidansi i pokazuju snažno antikancerogeno djelovanje.

FENOLNE KISELINE
PHENOLIC ACIDS

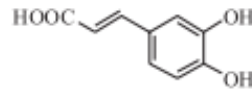


galna kiselina
gallic acid

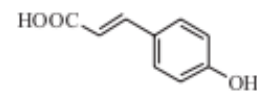


p-hidroksibenzojeva kiselina
p-hydroxybenzoic acid

Hidroksibenzojeve kiseline
Hydroxybenzoic acids



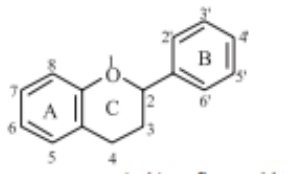
kavena kiselina
caffeic acid



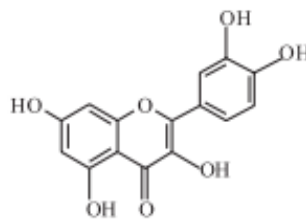
p-kumarinska kiselina
p-coumaric acid

Hidroksicimetne kiseline
Hydroxycinnamic acids

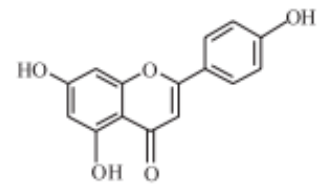
FLAVONOIDI
FLAVONOIDS



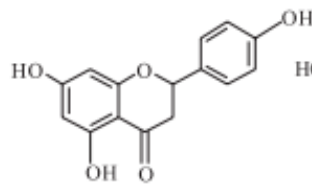
osnovna struktura flavonoida
basic flavonoid structure



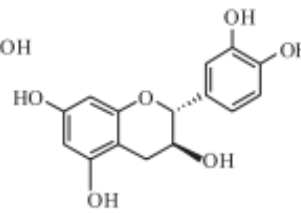
kvercetin (flavonol)
quercetin (flavonol)



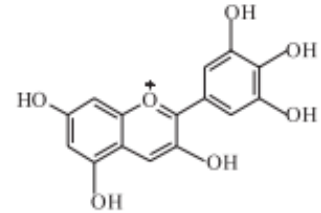
apigenin (flavon)
apigenin (flavone)



naringenin (flavanon)
naringenin (flavanone)

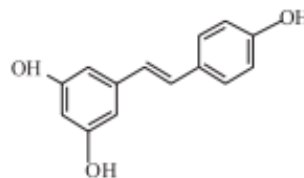


katehin (flavanol)
catechin (flavanol)



delfinidin (antocijanidin)
delphinidin (anthocyanidin)

STILBENI
STILBENES



resveratrol
resveratrol

Slika 3. Prikaz strukture polifenola (Rastija i Medić-Šarić, 2009)

3. MIKROOKSIGENACIJA

Vrhunskim crnim vinima potrebno je određeno vremensko razdoblje sazrijevanja u hrastovoj bačvi i boci, nakon čega su spremna za konzumaciju. Tijekom tog vremena dozrijevanja dolazi do određenih modifikacija senzorskih svojstava vina, kao što su: smanjenje trpkocće i stabilizacija boje. Brojne regulative kod proizvodnje vrhunskih vina određuju minimalni vremenski period dozrijevanja vina u hrastovoj bačvi i boci kako bi postigla specifična senzorska svojstva. Međutim, dozrijevanje u boci izaziva veliki financijski trošak za industriju. Stoga je potrebno razumjeti mehanizme trpkocće i promjene boje tijekom navedenog perioda.

Trpkocća je taktilni osjet, uglavnom izazvan reakcijom kemijskih spojeva nositelja ovog osjeta s proteinima sline bogatim prolinom, što smanjuje vlažnost usne šupljine. U komponente vina koje su odgovorne za trpkocću spadaju: proantocijanidini (PAs) te hidrolizirajući tanini (galotanini i elagitanini).

Boja crnog vina potječe od antocijana i kopigmenata. Iako su poznate glavne reakcije koje utječu na stabilizaciju boje, utjecaj reakcija koje se događaju tijekom sazrijevanja i koje u sebe involviraju proantocijanidine i antocijane na smanjenje trpkocće vina, nisu u potpunosti razjašnjene. Smatra se kako smanjenje prosječne molekulske mase, odnosno veličine polimera proantocijanidina smanjuje i trpkocću vina (Chira i sur., 2011).

Djelovanjem kisika dolazi do brojnih kompleksnih promjena u sastavu polifenolnih spojeva. Difuzija kisika niz dužice bačve rezultira brojnim kemijskim reakcijama koje izazivaju smanjenje trpkocće vina i stabilizaciju boje. Obzirom na visoku cijenu hrastovih bačava te dugi vremenski period dozrijevanja, kao alternativni postupak razvijena je mikrooksigenacija. Unatoč intenzivnim istraživanjima mikrooksigenacije, mali broj istraživanja proveden o dugoročnom utjecaju ove tehnike na kakvoću vina, posebice nakon dužeg vremena sazrijevanja u hrastovim bačvama i boci (Caille i sur., 2010).

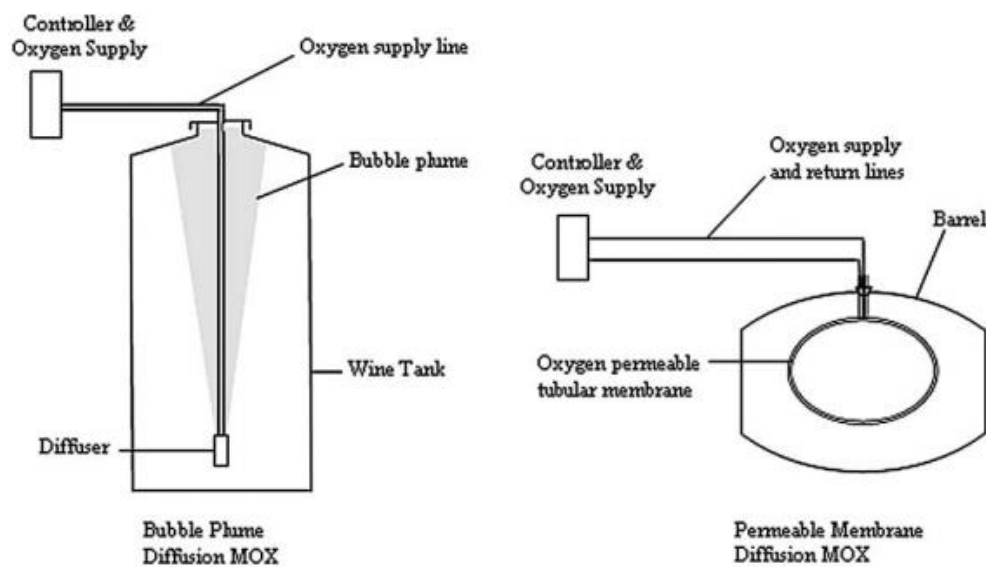
Tehnika mikrooksigenacije se razvila u Francuskoj (Maderian) početkom 90-tih godina. Razvili su je Patrick Ducournau i Michael Moutounet. Tehnika mikrooksigenacije počela se upotrebljavati u nekoliko zemalja: Španjolska, Italija, Francuska, Australija, Novi Zeland, SAD, Čile i konačno je bila odobrena od europske komisije 1996. godine.

U procesu mikrooksigenacije kroz keramičku membranu, smještenu na dnu tanka od nehrđajućeg čelika, difuzno prelazi čisti kisik. Višak kisika može dovesti do negativnih učinaka pa dodatak kisika mora biti strogo kontroliran. Negativni učinci su gubitak voćnosti, pojava

oksidacije i trpkocē te negativno djelovanje na rast i razmnoŹavanje nepoŹeljnih mikroorganizama. Na slici 4 prikazana je shema mikrooksidacije vina.

Proces mikrooksidacije dodatak je malih, kontroliranih, kontinuiranih doza kisika u vino kako bi se poboljšala njegova kakvoća. Time se omogućava izbjegavanje pojave nepoŹeljnih reduktivnih promjena vina. Također, ovim procesom potpomaŹe se strukturiranje tanina i dozrijevanju vina na talogu od kvasca. Primjena ove tehnike pokazala se posebno učinkovitom kod izrazito trpkih vina, bogatim taninima vina. Također, mikrooksidacije se danas primjenjuje ne samo kao alternativa sazrijevanju u hrastovim bačvama, već je također postala i snaŹno oruđe vinara za poboljšanje kvalitete vina te smanjenje vremena proizvodnog procesa.

Glavne tvrdnje o utjecaju mikrooksidacije na vina su: sprječavanje umiranja kvasca tijekom alkoholne fermentacije, stabilizacija boje, poboljšanje okus i strukture vina te poboljšanje arome. Dodavanjem komadića hrasta u čelične bačve, mikrooksidacija moŹe oponašati sazrijevanje vina u hrastovim bačvama (Gomez- Plaza i Cano-Lopez, 2011.)



Slika 4. Prikaz sheme mikrooksidacije vina (Parish i sur., 2000)

Također, mikrooksidacija nam moŹe pomoći i kod kontroliranja fermentacije. Naime, glavni cilj dodavanja kisika tijekom alkoholne fermentacije su kvasci. Oksidativni stres se smatra glavnim razlogom rane smrt kvasca. Ispravno dodavanje kisika moŹe dovesti do veće otpornosti na etanol, veću fermentacijsku aktivnost i smanjenje proizvodnje sumpornih spojeva za vrijeme završetka alkoholne fermentacije (du Toit i sur., 2006). Kvasac proizvodi lipidne membrane kada raste u prisustvu kisika. Pravilno doziranje kisika povećava kvašćevu toleranciju na etanol. Za optimalan rast u inicijalnoj fazi, kvascu je potrebno 8-10 mg/L kisika

(Zoecklein, 2007). Na početku vinifikacije mošt je zasićen kisikom i nije potrebno dodavati kisik, no na kraju faze rasta kvascu je potrebno dodati 5-10 mg/L kisika te je ovo najbolji trenutak dodavanja kisika. Ako se kisik dodaje ranije, kvasac će ga upotrijebiti za umnožavanje, a ne za formiranje željenih spojeva. Nije preporučljivo dodavanje kisika nakon što mošt dosegne razinu alkohola od 10 % obzirom da kvascu tada nisu potrebni nutrijenti pa tako i kisik (Comfort, 2008). Kombinacija kisika i dušika u pravom trenutku može smanjiti probleme fermentacije za 50 %. Naime, nedostatak kisika može utjecati na nakupljanje kiselina u kvascu, a time i zaustavljanje fermentacije (Bardi u sur., 1999) te formiranje nepoželjnih sumpornih spojeva.

3.1. Faze mikrooksigenacije

Sam tijek mikrooksigenacije možemo podijeliti u tri dijela: faza strukturiranja, faza harmonizacije i faza zasićenja.

3.1.1. Faza strukturiranja

Tijekom faze strukturiranja, reduktivne note koje su uglavnom prisutne u mladim vinima lako se uklanjaju ili sprječavaju. Vrijeme početka mikrooksigenacije je vrlo važno jer omogućava znatno intenzivniju završnu strukturu vina u ranoj fazi, što dovodi do boljeg konačnog proizvoda. Ovu fazu dijelimo na još dva dijela: prije i nakon jabučno-mliječne fermentacije. Faza strukturiranja može različito trajati, što je uvjetovano samim postupkom mikrooksigenacijom i prirodom vina. Duljina ove faze ovisi o sastavu tanina i antocijana.

Prva faza strukturiranja započinje odmah nakon alkoholnog vrenja. Ova faza mikrooksigenacije presudna je za strukturu i stabilnost crnih vina. U ovoj fazi djelovanje mikrooksigenacije je najveće i s njom moramo početi vrlo brzo, posebice obzirom da na malu koncentraciju SO₂ i visoku koncentraciju fenolnih spojeva. Proces se prati višestrukim kušanjem, što je ključno u ovoj fazi proizvodnje (Parish i sur., 2001).

Druga faza strukturiranja slijedi nakon završetka jabučno-mliječne fermentacije i dodatka SO₂. Količina apsorbiranog kisika desetostruko se smanjuje, dok se strukturiranje tanina nastavlja. U ovoj fazi preporučuje se intenzivna kontrola koncentracije acetaldehida. Kisik u ovoj fazi uzrokuje djelomičnu polimerizaciju i omekšavanje tanina te smanjenje reduktivnih i travnatih mirisa. Naime, kisik indirektno reagira s fenolima, te formira kinone i H₂O₂, što katalizira reakciju oksidacije etanola u acetaldehid. Formiranje „etilnih mostova" između tanina i antocijana i olakšava fazu polimerizacije (Parish i sur., 2001).

3.1.2. Faza harmonizacije

U fazi harmonizacije dolazi do mekšanja tanina, strukturiranja okusa i uklanjanja vegetativnih karakteristike vina. Vino dobiva voćnu notu s karakterističnim mirisom bobičastog voća. U ovoj fazi traži se krajnja točka mikrooksigenacije koja nastaje kada dosegne kompleksnost aromei odgovarajuću mekoću tanina. Bilo kakve pogreške u ovoj fazi mogu biti kobne za konačnu kvalitetu vina. Duljina trajanja faze harmonizacije ovisi o duljini faze strukturiranja. Naime, što je dulja faza, strukturiranja, dulja je i faza harmonizacije. U pravilu, faza harmonizacije može trajati i dvostruko duže od faze strukturiranja. Određivanje krajnje točke mikrooksigenacije vrlo je teško, ali presudno, jer nastavkom mikrooksigenacije dolazi do pogoršanja kvalitete vina s pojavom suhih tanina zbog njihove prekomjerne polimerizacije (Parish i sur., 2001).

3.1.3. Faza zasićenja

Ovo je faza u kojoj dolazi do daljnje polimerizacije tanina zbog nedostatka antocijana, što rezultira povećanjem trpkocće i suhocće vina. Također, u ovoj fazi može doći i do pojave oksidacije vina (Parish i sur., 2001).

3.2. Kisik i fenoli

Fenolni spojevi su važne komponente vina zbog svoje visoke koncentracije i zbog ključne uloge koje imaju u determiniranju organoleptičkih svojstava vina. (Cheynier i sur., 1997). Najznačajniji polifenolni spojevi su antocijani te flavan-3-ol monomeri, oligomeri i polimeri. Antocijani su najznačajnija komponenta te su odgovorni za ljubičasto crvenu boju mladih vina. Nestabilni su i sudjeluju u mnogim reakcijama tijekom proizvodnje vina te formiraju kompleksne pigmente. Ti kompleksni pigmenti nastaju interakcijom između antocijana i ostalih fenolnih spojeva, osobito flavan-3-ola. Postoji nekoliko mehanizama koji potvrđuju formiranje tih novih pigmenata: direktna reakcija između antocijana i flavanola, reakcije između antocijana i flavanola s acetaldehidom i formiranje piranoantocijana kroz reakciju između antocijana i ostalih spojeva kao što su pirogroždana kiselina, vinilfenol i vinilflavanol u koje može biti involviran acetaldehid. Sve te reakcije rezultiraju formiranjem novih pigmenata (otpornih na djelovanje pH i SO₂), a time i stabilizacijom boje vina. Monomerni i polimerni flavan-3-oli (tanini ili proantocijanidini) su odgovorni za gorčinu i trpkocću crnih vina (Hayasaka i Kennedy, 2003).

Kisik ima važnu ulogu u proizvodnji vina budući da utječe na kemijska i senzorska svojstva vina, promjene u aromi, boji i organoleptičkim svojstvima. Preniska ili previsoka

koncentracija kisika može imati negativan efekt na boju vina jer uzrokuje smanjenje intenziteta, razvoj nepoželjnih aroma te negativna organoleptička svojstva pa je stoga umjereno i kontrolirano izlaganje vina kisiku ključno za njegovu kvalitetu.

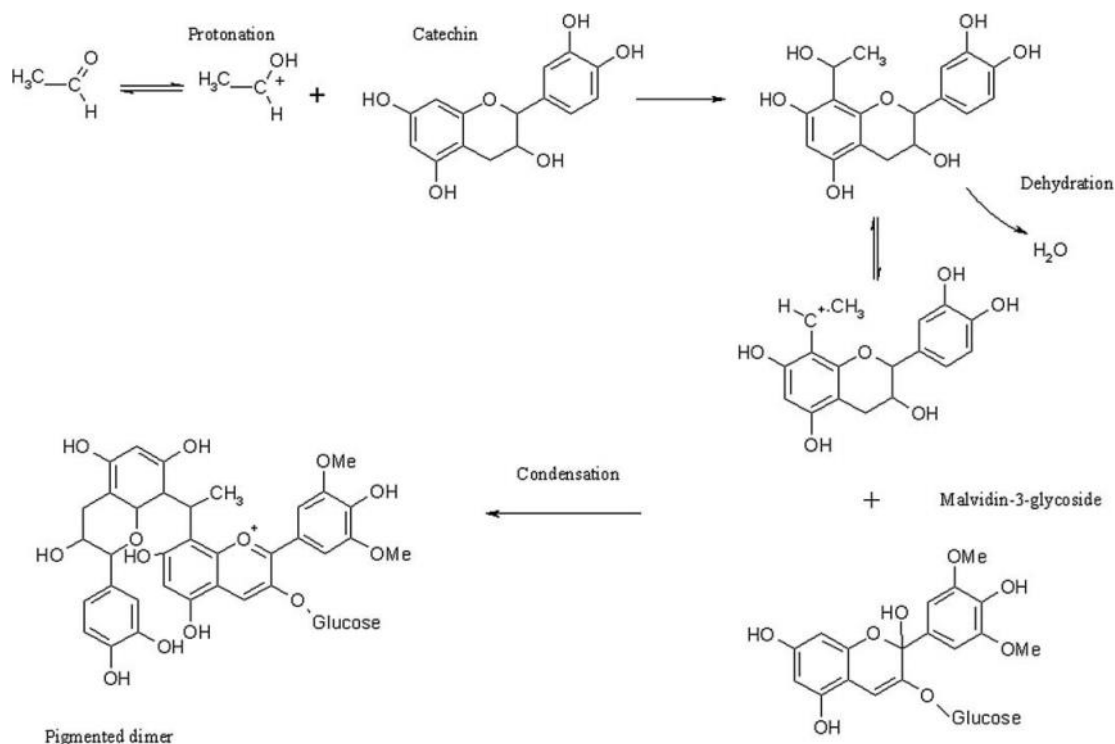
Tijekom proizvodnje vina dolazi do kontakta vina sa zrakom, što znači da u vinu mogu biti prisutne različite koncentracije O_2 (Schneider, 1998). Naime, kisik sudjeluje u reakcijama oksidacije polifenolnih spojeva u brojim fazama proizvodnje od same fermentacije, primjene mikrooksigenacije, dozrijevanja vina u bačvama, ali i dozrijevanje vina u bocama. U doticaju s vinom, kisik se brzo otopi te reagira s fenolnim spojevima formirajući vrlo reaktivne kemijske oblike kao što su kinoni, radikali i hidrogen peroksidi koji dalje potiču reakcije oksidacije. Posljedica toga su brojne modifikacije polifenolnih spojeva, smanjenje otopljenog kisika i koncentracije SO_2 . Vino koje je zasićeno kisikom ono sadrži oko 6-8 mg/L O_2 .

3.2.1. Smanjenje koncentracije antocijana i formiranje novih pigmenta

Slobodni antocijani su izrazito nestabilne molekule, uslijed čega tijekom mikrooksigenacije i tijekom dozrijevanja dolazi do smanjenja njihove koncentracije. Naime, ovi spojevi odgovorni su boju mladih vina, dok tijekom mikrooksigenacije i dozrijevanja dolazi do formiranja novih, stabilnijih pigmenta. Navedeni pigmenti mogu nastati direktnom kondenzacijom antocijana i flavanola, kondenzacijom antocijana i flavanola uz posredovanje acetaldehida te sintezom piroantocijana (Cano- Lopez i sur., 2007).

Reakcije direktne antocijan-flavanol kondenzacije uključuju dva različita mehanizma reakcije čiji su produkti antocijan-flavanol (A^+-F) i flavanol-antocijan ($F-A^+$) kondenzati. Ove reakcije su u manjoj mjeri favorizirane procesom mikrooksigenacije. Reakcija direktne antocijan-flavanol (A^+-F) kondenzacije počinje s nukleofilnim napadom na položaju C6 ili C8 flavanola na C4 položaj antocijana u strukturi flavilijevog kationa pri čemu nastaje bezbojni međuprodukt, flaven. Navedeni međuprodukt oksidacijom prelazi u odgovarajući flavilijev kation i na kraju dehidracijom u žutu ksantilijevu sol ili u bezbojni biciklički produkt (Remy-Tanneau i sur., 2003; Fulcrand i sur., 2006). Kod reakcija direktne flavanol-antocijan ($F-A^+$) kondenzacije, karbokationi nastali cijepanjem interflavanske veze, djeluju kao elektrofilni te se vežu na položaju C6 ili C8 antocijana u hidratiranoj hemiketalnoj formi, pri čemu nastaje bezbojni dimer koji se može dehidratirati u odgovarajući crveni flavilijev kation ovisno o pH-vrijednosti vina ili o njegovom vlastitom pK_a (Remy-Tanneau i sur., 2000; Fulcrand i sur., 2006).

Reakcije kondenzacije antocijan-flavanol uz posredovanje acetaldehid izrazito su favorizirane djelovanjem mikrooksigenacije. Naime, acetaldehid je metabolit kvasca, koji je prisutan u vinu kao rezultat alkoholne fermentacije. Sama mikrooksigenacija potiče stvaranje acetaldehida oksidacijom etanola u prisutnosti polifenola, a vrlo slične reakcije odvijaju se i tijekom starenja vina u hrastovim bačvama (Atanasova i sur., 2002; Fulcrand i sur., 2006). Prema predloženom mehanizmu, acetaldehid u strukturi karbokationa reagira s flavanolom (ili taninom) na položaju C6 ili C8. Dehidratacijom flavanol-acetaldehida spoj prelazi u novi karbokation koji reagira s antocijanom (na položaju C8). Nastali spoj se stabilizira deprotonacijom tvoreći kinonsku bazu ljubičaste boje. U predloženoj strukturi flavanol i antocijan su povezani etilnim mostom. Produkti povezani etilnim mostom obično podliježu polikondenzaciji čime nastaju novi, polimerizirani pigmenti. Kasnije je demonstrirano da je reakcija moguća i na položaju C6 antocijana (Es-Safi i sur., 1999; Atanasova i sur., 2002).



Slika 5. Reakcija kondenzacije između katehina i malvidin-3-glikozida uz posredovanje acetaldehida (Schmidtke i sur., 2011.)

Piranoantocijani nastaju reakcijom antocijana sa spojevima male molekulske mase kao što su 4-vinilfenol, piruvat i flavonol (Castañeda-Ovando i sur., 2009). Za razliku od antocijana, piranoantocijani su puno stabilniji pri različitim pH-vrijednostima. Do strukture piranoantocijana dolazi ciklizacijom između C-4 ugljikova atoma i 9 hidroksilne grupe na C-5 ugljikovom atomu čime dolazi do stvaranja još jednog aromatskog prstena koji daje dodatnu stabilnost strukturi (Castañeda-Ovando i sur., 2009). Koncentracija piroantocijana ovisi o koncentraciji antocijana, piruvata, acetaldehida, temperaturi, pH. Istraživanja su pokazala da je koncentracija piranoantocijana i hidroksifenil-piranoantocijana veća u tretiranim vinima, što je povezano sa stabilizacijom boje.

Sinteza piranoantocijana može se odvijati na različite načine, a s obzirom na produkte nastanka razlikujemo četiri tipa reakcije. Ti produkti su hidroksifenil-piranoantocijani, flavanil-piranoantocijani, karboksi-piranoantocijani i vinilpiranoantocijanski pigmenti. U reakcijama kondenzacije antocijan-vinilfenol i antocijan-hidroksicimetna kiselina dolazi do sinteze hidroksifenil-piranoantocijana. Ovi spojevi nastaju cikloadicijom etilenskog dijela molekule 4-vinilfenola na položaje C4 i C5 antocijana, čime nakon oksidacije nastaje piranski prsten, po čemu su piranoantocijani i dobili ime. U reakcijama hidroksicimetne kiseline i antocijana, nukleofilni C2 položaj hidroksicimetne kiseline veže se na elektrofilni C4 položaj antocijana te

nastaje pozitivno nabijeni među spoj, karbenijev ion. Hidroksilna skupina na položaju C5 antocijana onda može intramolekularno zarobiti karbenijev ion, tvoreći piranski prsten. Konačni produkt nastaje oksidacijom i dekarboksilacijom međuprodukta (Fulcrand i sur., 2006; Schwarz i sur., 2003). Reakcijom kondenzacije antocijan-vinilflavanola nastaje flavanil-piranoantocijan. Vinilflavanoli mogu nastati cijepanjem flavanol-etil-flavanol oligomera ili dehidracijom flavanol-etanola. Mehanizam sinteze flavanil-piranoantocijana sličan je mehanizmu sinteze hidroksifenil-piranoantocijana (Mateus i sur., 2003; Moreno-Arribas i Polo, 2009). Karboksi-piranoantocijani nastaju reakcijom kondenzacije antocijana i enolizaciji podložnih ketona i aldehida koji su obično sekundarni produkti metabolizma kvasca tijekom fermentacije. Jedan od glavnih prekursora za ovaj tip reakcije kondenzacije je pirogroždana kiselina (Moreno-Arribas i Polo, 2009). Mehanizam ovog tipa kondenzacije također je sličan mehanizmu sinteze hidroksifenil-piranoantocijana. Prekursori za sintezu vinilpiranoantocijanskih pigmenata su karboksi-piranoantocijani, vinilfenoli i vinilflavanoli. Prema predloženom mehanizmu nastanka flavanil-vinilpiranoantocijanskih pigmenata karboksi-piranoantocijan reagira na C10 položaju s vinilnom skupinom vinilflavanola. Zadnji korak u sintezi je odcjepljenje karboksilne skupine i oksidacija, čime nastaje plavi pigment (Mateus i sur., 2003).

U prvoj fazi mikrooksidacije razina hidroksifenil-piranoantocijana u vinima se smanjuje. Kasnije, razina hidroksifenil-piranoantocijana se povećava i doseže razinu hidroksifenil-piranoantocijana u kontroliranim vinima i nastavlja se povećavati kako se povećava razina dodanog kisika. U krajnjem mjerenju, mikrooksidizirana vina imaju znatno veću količinu hidroksifenil-piranoantocijana od kontroliranih vina, iako u nekim vinima tijekom starenja dolazi do smanjenja koncentracije hidroksifenil-piranoantocijana.

3.2.2. Promjene u stupnju polimerizacije proantocijanidina

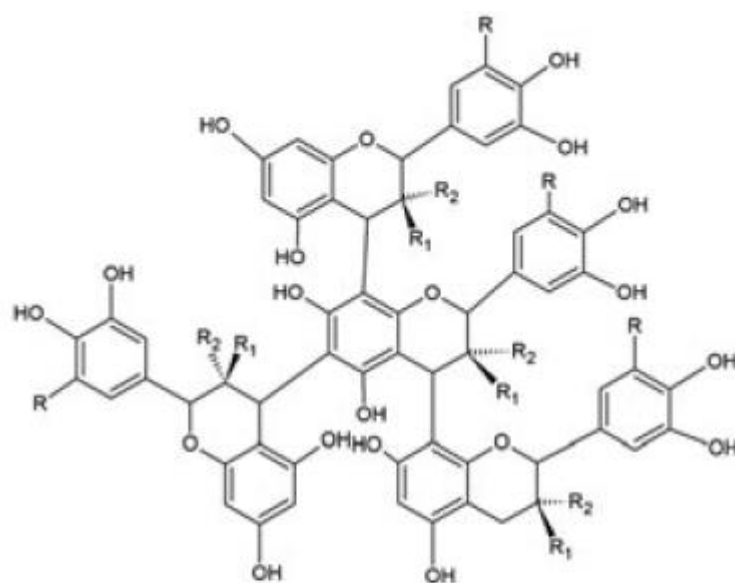
Flavanoli u grožđu postoje kao monomeri, ali kao oligomeri i polimeri. Proantocijanidini se sintetiziraju u biljkama kao oligomeri ili polimeri flavan-3-ola u biosintetskom putu flavonoida. (He i sur., 2008.) Glavne strukturne jedinice proantocijanidina su (+)-katehin i (-)-epikatehin. Proantocijanidini pokazuju veliku raznolikost u strukturi, od jednostavnih dimera do kompleksnih molekula. Polimeri od 80 jedinica su zabilježeni u pokožici grožđa.

U sjemenkama grožđa pronađeni su proantocijanidini koji se sastoje samo od procijanidina čije su osnovne monomerne podjedinice (+)-katehin i (-)-epikatehin, i (-)-katehin-galat, dok se u pokožici grožđa nalaze procijanidini i prodelfinidini sastavljeni od (-)-epigalokatehina. Proantocijanidini koji se nalaze u pokožici imaju veći stupanj polimerizacije u odnosu na proantocijanidine sjemenke. Kemijska struktura proantocijanidina prikazana je na slici 6.

Proantocijanidini su najvećim dijelom koncentrirani u sjemenci (80 %), zatim peteljci (12 %) i pokožici (8 %). Koncentracija proantocijanidina u crvenom grožđu varira od 1-4 g/L ovisno o sorti i procesu proizvodnje vina (Ribereau- Gayon i Stonestreet, 2006), a među sorte bogate proantocijanidinima ubrajamo Cabernet Sauvignon, Merlot i Pinot crni. S druge strane, koncentracija proantocijanidina u bijelom vinu značajno je niža od one crnog vina (Teixeira i sur., 2013).

Promjene u sastavu fenolnih spojeva povezane s proizvodnjom vina počinju ekstrakcijom ovih spojeva iz grožđa u mošt prilikom prešanja ili maceracije. Prilikom proizvodnje crnog vina tijekom maceracije dolazi do ekstrakcije antocijana i proantocijanidina (tanini) iz grožđa. Ekstrakcija antocijana i proantocijanida iz pokožice značajno je brža od ekstrakcija proantocijanida iz sjemenke. Ranija istraživanja pokazala su kako maceracija na niskoj temperaturi prije fermentacije povećava koncentraciju antocijana i proantocijanida u moštu. Količina slobodnih antocijana se smanjuje već nakon nekoliko dana, obzirom da navedeni spojevi sudjeluju u formiranju novih stabilnijih polimernih pigmenata. Veličina molekule proantocijanidina proporcionalna je njihovoj trpkoci, dok je smanjenje trpkoci tijekom starenja rezultat su reakcija polimerizacije proantocijanidina i antocijana.

Dva su glavna procesa tijekom kojih dolazi do promjena u stupnju polimerizacije proantocijanidina u vinima. Prvi je tipično kiselinski katalizirano pucanje C-C veza, a drugi je taloženje polimera kada dosegnu toliku veličinu da više nisu topljivi. Na ovaj način tijekom mikrooksigenacije i dozrijevanja dolazi smanjenja trpkoci (Figueiredo-Gonzales i sur., 2014).



procyanidins: R = H; prodelfinidins: R = OH

Major constitutive units

(+)- catechin:	R = H, R ₁ = OH, R ₂ = H
(-)- epicatechin:	R = H, R ₁ = H, R ₂ = OH
(-)- epicatechin 3-gallate:	R = H, R ₁ = H, R ₂ = O-G
(-)- epigallocatechin:	R = OH, R ₁ = H, R ₂ = OH

Slika 6. Kemijska struktura proantocijanidina (Anli i Cavuldak, 2012.)

Mikrooksigenacija promiče polimerizaciju proantocijanidina, stoga je srednji stupanj polimerizacije (mDP) mikrooksigeniranih vina veći od kontroliranih vina. Acetaldehid, koji može reagirati s taninima i formirati mostove između tanina, može stvoriti makromolekularne strukture i talog, što rezultira smanjenjem trpkocće. Ipak, kako bi se izbjegao razvoj viška gorčine, dodavanje kisika mora biti kontrolirano.

Gambuti i sur. (2013) istražili su utjecaj mikrooksigenacije na koncentraciju proantocijanidina. U svom istraživanju primijenili su dva režima mikrooksigenacije. Prvo doziranje kisika (MO1) sastojalo se od primjene 2 mL/L O₂ za 8 tjedana, a drugo doziranje (MO2) od primjene 2 mL/L O₂ za 8 tjedana, nakon čega je uslijedila primjena 1,5 mL/L O₂ za još 8 tjedana (temperatura vina je 11,5 °C). Rezultati su pokazali najvišu koncentraciju proantocijanidina nakon 3 mjeseca u vinu s primijenjenim MO1, dok je nakon 42 mjeseca starenja u boci najveća je koncentracija proantocijanidina utvrđena kontrolnom vinu.

3.3. Faktori koji utječu na ishod mikrooksigenacije

3.3.1. Početne polifenolne karakteristike vina

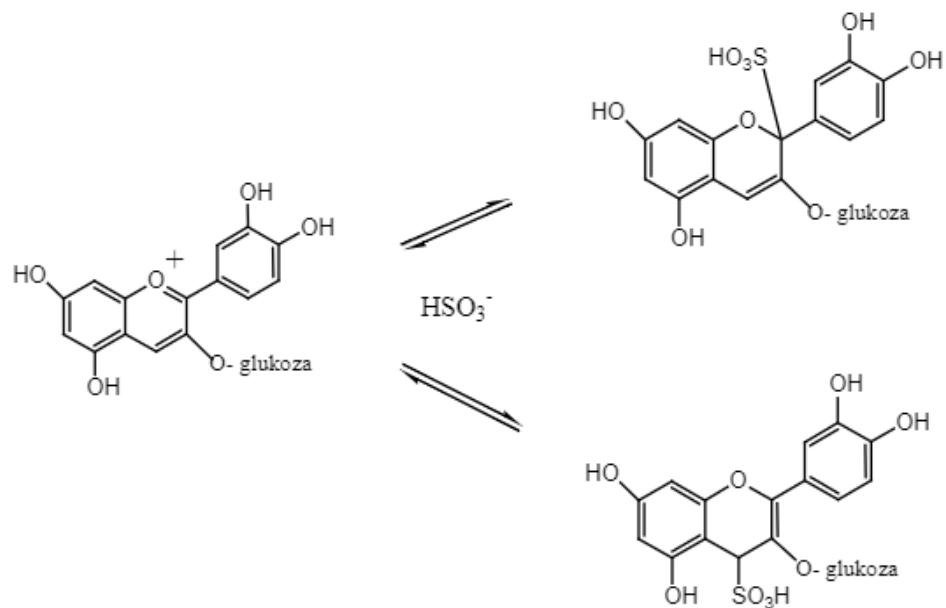
Primjena mikrooksigenacije je najučinkovitija u vinima s ukupnim omjerom flavonoida i antocijana pet naprema sedam. Za vina s nižim sadržajem tanina može se koristiti dodatak egzogenih tanina.

3.3.2. Doza kisika

Doziranje kisika prilikom provođenja mikrooksigenacije važno je uspješnost mikrooksigenacije. Izuzetno je važno da se prilikom provođenja mikrooksigenacije kisik uvodi brzinom jednakom ili manjom od brzine kojom ga vino može primiti kako ne bi došlo do nakupljanja otopljenog kisika. Pokusi s mikrooksigenacijom mladih vina pokazali su kako pažljivo dozirana količina kisika u ranoj fazi proizvodnje vina smanjuje osjetljivost na oksidaciju u kasnijem razdoblju dozrijevanja. Koncentracija dodanog kisika se izražava u mililitrima na litru vina mjesečno te ne može biti unaprijed određena ovisno o koncentraciji polifenola i senzorskim karakteristikama vina. Preporučena doza kisika za crna vina pri temperaturi od 15 °C iznosi oko 1,5 mL/L.

3.3.3. Koncentracija SO₂

Jedna od specifičnih reakcija antocijana je reakcija sa SO₂. Utjecaj sadržaja SO₂ na mikrooksigenaciju je prikazan u reakcijama s H₂O₂, acetaldehidima ili aldehidima i antocijanima, gdje se reakcije oksidacije i kondenzacije između tanina i antocijana usporavaju. Visok sadržaj slobodnog SO₂ u vinu ograničava učinak mikrooksigenacije, što objašnjava zašto je početak mikrooksigenacije prije jabučno-mliječne fermentacije toliko važan. Reakcija promjene boje antocijana zbog vezanja bisulfitnih iona prikazan je na slici 7.



Slika 7. Reakcija promjene boje antocijana zbog vezanja bisulfitnih iona (Ribereau-Gayon i Stonestreet, 2006)

3.3.4. Trenutak primjene

Kao što je već ranije u radu navedeno, trenutak primjene mikrooksigenacije je ključan za uspješnost procesa. Naime, kasna primjena mikrooksigenacije se može negativno odraziti na kvalitetu vina. Mikrooksigenaciju je najbolje provesti prije alkoholne ili jabučno-mliječne fermentacije. Dodavanje kisika u pravom trenutku može smanjiti probleme fermentacije za 50 % i omogućava znatno bolju strukturu vina u ranoj fazi, što dovodi do boljeg konačnog proizvoda.

4. ZAKLJUČAK

Fenolni spojevi su važne komponente vina zbog svoje visoke koncentracije i zbog ključne uloge koje imaju u determiniranju organoleptičkih svojstava vina. Najvažniji polifenolni spojevi u vinu su antocijani i tanini, budući da su odgovorni za boju, strukturu i okus crnih vina. Navedeni polifenolni spojevi, a posebice antocijani izrazito su nestabilni te tijekom proizvodnje vina sudjeluju u brojnim reakcijama formirajući kompleksne pigmente. Postoji nekoliko mehanizama koji potvrđuju formiranje novih pigmenata, a utvrđeno je kako primjena mikrooksigenacije promovira reakcije između antocijana i tanina s acetaldehidom te formiranje piranoantocijana. Navedene reakcije odgovorne su stabilizaciju boje, kao i smanjenje trpkocće.

Početne polifenolne karakteristike vina, doza kisika, koncentracija sumporovog dioksida kao i trenutak primjena su faktori koji značajno utječu na ishod mikrooksigenacije. Pokusi s mikrooksigenacijom mladih vina pokazali su kako pažljivo dozirana količina kisika u ranoj fazi proizvodnje vina smanjuje osjetljivost na oksidaciju tijekom dozrijevanja. Mikrooksigenacija započinje prije fermentacije, a dodavanje kisika u pravom trenutku je bitno jer dovodi do boljeg konačnog proizvoda.

5. LITERATURA

Anli E., Cavuldak Ö. A. (2012) A review of microoxygenation application in wine. *Journal of the Institute of Brewing* **118**: 368–385.

Atanasova, V., Fulcrand, H., Cheynier, V., Moutounet, M. (2002) Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. *Analytica Chimica Acta* **458**: 15–27.

Bardi, L., Cocito, C., Marzona, M. (1999) *Saccharomyces cerevisiae* cell fatty acid composition and release during fermentation without aeration and in absence of exogenous lipids. *International Journal of Food Microbiology* **47**: 133–140.

Brouillard R., Dangles, O. (1994) Anthocyanin molecular interactions: the first step in the formation of new pigments during wine aging? *Food Chemistry* **51**: 365-371.

Caille, S.; Samson, A.; Wirth, J.; Dieval, J.-B.; Vidal, S.; Cheynier, V. (2010) Sensory characteristics changes of red Grenache wines submitted to different oxygen exposures pre and post bottling. *Analytica Chimica Acta* **660**: 35–42.

Cano-López, M., Pardo-Minguez, F., López-Roca, J. M., Gómez-Plaza, E. (2007) Chromatic characteristics and anthocyanin profile of a micro-oxygenated red wine after oak or bottle maturation. *European Food Research Technology* **225**: 127-132.

Castaneda-Ovando, A., de Lourdes Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., Galán-Vidal, C. A. (2009) Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry* **113**: 859-871.

Cheynier, V., Prieur, C., Guyot, S., Rigaud, J., Moutounet, M. (1997). The structures tannins in grapes and wines and their interactions with proteins. U: Wine: Nutritional and therapeutic benefits, 1 izd., Watkins T. R. ur., American Chemical Society, str. 81–93.

Chira, K., Pacella, N., Jourdes, M., Teissedre, P. L. (2011) Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet-Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age. *Food Chemistry* **126**: 1971–1977.

Comfort, S. (2008). An introduction to understanding oxygen and fermentation. The Yeast Whisperer, <<http://www.theyeastwhisperer.com>> Pristupljeno 02.rujna 2019.

- du Toit, W. J., Marais, J., Pretorius, I. S., du Toit, M. (2006) Oxygen in must and wine: A review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, **27**: 76–94.
- Es-Safi, N., Fulcrand, H., Cheynier, V., Moutounet, M. (1999) Studies on the acetaldehyde induced condensation of (-)-epicatechin and malvidin 3-O-glucoside in a model solution system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47**: 2096–2102.
- Figueiredo-González, M., Cancho-Grande, B., Simal-Gándara, J., Teixeira, N., Mateus, N., De Freitas, V. (2014) The phenolic chemistry and spectrochemistry of red sweet wine-making and oak aging. *Food Chemistry* **152**: 522-530.
- Fulcrand, H., Dueñas, M., Salas, E., Cheynier, V. (2006) Phenolic reactions during winemaking and aging. *American Journal of Enology and Viticulture* **57**: 289-297.
- Gambutì A., Rinaldi A., Ugliano M., Moio L. (2013) Evolution of Phenolic Compounds and Astringency during Aging of Red Wine: Effect of Oxygen Exposure before and after Bottling. *Food Chemistry* **61**: 1618–1627.
- Garrido, J., Borges, F. (2013) Wine and grape polyphenols- A chemical perspective. *Food Research International* **54**: 1844-1858.
- Gómez-Plaza E., Cano-López M. (2011) A review on micro-oxygenation of red wines: Claims, benefits and the underlying chemistry. *Food Chemistry* **125**: 1131–1140.
- Hayasaka, Y., Kennedy, J. A. (2003) Mass spectrometric evidence for the formation of pigmented polymers in red wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **9**: 210–220
- He, F., Mu L., Yan G. L., Liang, N. N., Pan, Q. H., Wang J., Reeves M. J., Duan, C. Q. (2010) Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules* **15**: 9057–9091.
- Jackson, R. S. (2008) *Wine Science: Principles and Applications*, 3. izd., Elsevier-Academic Press. str. 287-295.
- Kashif, A., Maltese, F., Choi, Y.H., Verpoorte, R. (2010) Metabolic constituents of grapevine and grape- derived products. *PhytochemistryReviews* **9**: 357-378.
- Kannedy J. A., Saucier, C., Glories, Y. (2006) Grape and Wine Phenolics: History and Perspective. *American Journal of Enology Viticulture* **57**: 239–248.

- Mateus, N., Silva, A.M.S., Rivas-Gonzalo, J.C., Santos-Buelga, C., de Freitas, V. (2003) A new class of blue anthocyanin-derived pigments isolated from red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**: 1919-1923.
- Parish, M., Wollan D., Paul, R. (2000) Micro-oxygenation – a review. *Wine Network Australia Pty Ltd* 1: 1-20.
- Moreno-Arribas, M. V., Polo, M. C. (2009) Wine Chemistry and Biochemistry, 1.izd., Springer. str. 437-595.
- Price, S.F., Breen , P. J., Valladao , M., Watson, B. T. (1995) Cluster sun exposure and quercetin in Pinot noir grapes and wine. *American Journal of Enology Viticulture* **46**: 187–194.
- Rastija V., Medić-Šarić M. (2009) Kromatografske analize polifenola, *KemijaskaIndustrija* **58**: 121–128.
- Remy-Tanneau, S., Fulcrand, H., Labarbe. B., Cheynier, V., Moutounet, M. (2000) First confirmation in red wine of products resulting from direct anthocyanin-tannin reactions. *Journal of the Science of Food and Agricultural* **80**: 745–751.
- Ribereau-Gayon, P., Stonestreet, E. (2006) Determination of anthocyanins in red wine. *Bulletin de la Société Chimique de France* **9**: 2649- 2652.
- Schmidtke L. M., Clark A. C., Scollary G. R. (2011) Microoxygenation of red wine: Techniques, Applications, and Outcomes. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **51**: 115-131.
- Schneider V. (1998) Must hyperoxidation: a review. *American Journal of Enology and Viticulture* **34**:157-162.
- Schwarz, M., Wabnitz, T. C., Winterhalter, P. (2003) Pathway leading to the formation of anthocyanin-vinylphenol adducts and related pigment sin red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**: 3682-3687.
- Teixeira, A., Eiras-Dias, J., Castellarin, S.D., Gerós, H. (2013) Berry Phenolics of Grapevine under Challenging Environments. *International Journal of MolecularSciences* **14**: 18711-18739.
- Waterhouse, A. L. (2002) Wine Phenolics. *Annals of the New York Academy of Sciences* **957**: 21-36.

Zoecklein, B. (2007) Factors impacting sulfur-like off odors in wine and winery options. Proceedings of the 8th annual enology and viticulture British Columbia wine grape council conference. Penticton, str. 1-16.

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Klara Bekarac

Ime i prezime studenta