

Kemometrijska karakterizacija vina sorte graševina prema zaštićenoj oznaci izvornosti

Radnić, Marija

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:159:271695>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-11**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2021.

Marija Radnić
1399/MB

**KEMOMETRIJSKA
KARAKTERIZACIJA VINA
SORTE GRAŠEVINA PREMA
ZAŠTIĆENOJ OZNACI
IZVORNOSTI**

Rad je izrađen u Laboratoriju za fizikalno kemijska i mikrobiološka ispitivanja Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo Hrvatske agencije za hranu i poljoprivredu uz stručnu pomoć mr. sc. Renate Leder, i pod mentorstvom prof. dr. sc. Vlatke Petravić Tominac iz Laboratorija za biokemijsko inženjerstvo, industrijsku mikrobiologiju i tehnologiju slada i piva, Zavoda za biokemijsko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

ZAHVALA

Veliko hvala mojoj obitelji, mami, tati i bratu koji su mi bili najveća podrška tijekom svih ovih godina i bez kojih ne bih postigla sve ovo i postala osoba kakva sam sada.

Hvala svim mojim prijateljima koji su bili tu za mene i zbog kojih će mi ovo razdoblje života zauvijek ostati u lijepom sjećanju.

Nadalje, zahvaljujem prof. dr. sc. Vlatki Petravić Tominac na pomoći, strpljenju i vremenu pri izradi rada.

Također, hvala voditeljici Laboratorija za fizikalno kemijska i mikrobiološka ispitivanja Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo Hrvatske agencije za hranu i poljoprivredu, mr. sc. Renati Leder, kao i dr. sc. Ivani Vladimiri Petric, te svim kolegicama iz laboratorija na strpljenju, savjetima i pomoći kod izrade eksperimentalnog dijela rada.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za biokemijsko inženjerstvo
Laboratorij za biokemijsko inženjerstvo, industrijsku mikrobiologiju i tehnologiju piva i slada

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Biotehnologija

KEMOMETRIJSKA KARAKTERIZACIJA VINA SORTE GRAŠEVINA PREMA ZAŠTIĆENOJ OZNACI IZVORNOSTI

Marija Radnić, 1399/MB

Sažetak: *Graševina se smatra autohtonom sortom u Republici Hrvatskoj, a ujedno je i najzastupljenija vinska sorta bijeloga grožđa radi velike rodnosti i kvalitetnog grožđa, mošta i vina. Vino je zelenkasto-žute boje, svježeg i harmoničnog okusa, vrlo ugodne svježine, blage kiselosti i izražene arome. U radu je analizirano 360 uzoraka vina sorte Graševina. Uzorci su podijeljeni prema kategoriji na vrhunsko vino s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom (KZP) i kvalitetno vino KZP sa zaštićenom oznakom izvornosti (ZOI). Cilj rada bio je odrediti fizikalno-kemijske karakteristike vina proizvedenih od sorte Graševina te na temelju toga definirati njihove regionalne karakteristike. Pritom su korištene infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FTIR) i odgovarajuće kemometrijske tehnike poput analize varijance (ANOVA) i analize glavnih komponentata (PCA), koje pružaju mogućnost sistematiziranja podataka dobivenih za vina s različitim ZOI. Dobiveni rezultati su pokazali da postoji razlika u sastavu vina proizvedenih od sorte Graševina iz promatranih podregija sa ZOI.*

Ključne riječi: bijelo vino, Graševina, FTIR, kemometrija

Rad sadrži: 66 stranica, 13 slika, 11 tablica, 72 literaturnih navoda, 20 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: prof. dr. sc. Vlatka Petravić Tominac

Pomoć pri izradi: mr.sc. Renata Leder

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. Prof.dr.sc. Mara Banović
2. Prof.dr.sc. Vlatka Petravić Tominac
3. Prof.dr.sc. Vesna Zechner-Krpan
4. Prof.dr.sc. Senka Djaković

Datum obrane: 23. rujna 2021.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Biochemical Engineering
Laboratory of Biochemical Engineering, Industrial Microbiology, Malting and Brewing Technology

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Biotechnology

CHEMOMETRIC CHARACTERIZATION OF GRAŠEVINA WINES ACCORDING TO THE PROTECTED INDICATION OF ORIGINALITY

Marija Radnić, 1399/MB

Abstract: *Graševina is an autochthonous variety in the Republic of Croatia. It is the most represented wine variety of white grapes due to high yields and quality grapes, must and wine. The wine is greenish-yellow in color and has a fresh and harmonious taste, very pleasant freshness, mild acidity and pronounced aroma. In this work 360 samples of Graševina wine were used. The samples were grouped into categories on quality wine with controlled geographical origin and high quality wine with protected designation of origin (PDO). The aim of this study was to determine the physico-chemical characteristics of wines produced from the Graševina variety and on that basis to define their regional characteristics. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and appropriate chemometric techniques such as analysis of variance (ANOVA) and principal components analysis (PCA) were used, which provide the possibility of systematizing the data obtained for wines with different PDO. The obtained results showed that there is a difference in the composition of wines produced from the Graševina variety from the observed subregions with PDO.*

Keywords: white wine, Graševina, FTIR, chemometry

Thesis contains: 66 pages, 13 figures, 11 tables, 72 references, 20 supplements

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: Vlatka Petravić Tominac, Full Professor

Technical support and assistance: Renata Leder, M.Sc.

Reviewers:

1. Mara Banović, Full Professor
2. Vlatka Petravić Tominac, Full Professor
3. Vesna Zechner – Krpan, Full Professor
4. Senka Djaković, Full Professor

Thesis defended: 23 September 2021

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. VINO	2
2.2. TEHNOLOGIJA PROIZVODNJE BIJELIH VINA.....	2
2.2.1. Berba i prevoženje grožđa	3
2.2.2. Runjenje – muljanje	4
2.2.3. Sumporenje.....	4
2.2.4. Prešanje (tiještenje).....	5
2.2.5. Hlađenje mošta.....	5
2.2.6. Taloženje mošta	5
2.2.7. Fermentacija istaloženog mošta	5
2.2.8. Pretakanje vina.....	7
2.2.9. Bistrenje i stabilizacija	7
2.2.10. Filtriranje	8
2.2.11. Punjenje u boce	8
2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA	9
2.3.1. Voda.....	10
2.3.2. Alkohol.....	10
2.3.3. Kiseline vina	10
2.3.4. Ugljikohidrati.....	11
2.3.5. Mineralne tvari.....	11
2.4. OZNAKE ZEMLJOPISNOG PODRIJETLA VINA	11
2.4.1. Vinogradarska zona.....	16
2.5. GRAŠEVINA.....	18
2.5.1. Botanička obilježja Graševine.....	19
2.5.2. Vино sorte Graševina	19
3. EKSPERIMENTALNI DIO	21
3.1. MATERIJALI	21
3.1.1. Uzorci za analizu.....	21

3.1.2. Kemikalije	22
3.1.3. Oprema	22
3.2. METODE	24
3.2.1. Određivanje alkoholne jakosti, pH, ukupne i hlapive kiselosti, smjese glukoze i fruktoze i reducirajućih šećera FTIR-spektroskopijom.....	24
3.2.2. Određivanje relativne gustoće 20/20 °C	26
3.2.3. Određivanje alkoholne jakosti NIR spektrometrijom	27
3.2.4. Određivanje ukupnog suhog ekstrakta.....	28
3.2.5. Određivanje reducirajućih šećera automatskim titratorom.....	29
3.2.6. Određivanje pepela.....	30
3.2.7. Određivanje ukupne kiselosti titracijom uz indikator	31
3.2.8. Određivanje pH-vrijednosti pH-metrom.....	32
3.2.9. Određivanje hlapive kiselosti.....	32
3.2.10. Određivanje slobodnog sumpornog dioksida	33
3.2.11. Određivanje ukupnog sumpornog dioksida.....	35
3.2.12. Analiza glavnih komponenata (PCA).....	36
3.2.13. Analiza varijance (Fischerova analiza varijance ili ANOVA)	36
4. REZULTATI I RASPRAVA	37
4.1. FIZIKALNO-KEMIJSKE KARAKTERISTIKE VINA SORTE GRAŠEVINA	40
4.2. FIZIKALNO–KEMIJSKE KARAKTERISTIKE VINA SORTE GRAŠEVINA PODIJELJENE PO PODREGIJAMA	45
4.3. PCA ZA UTVRĐIVANJE SLIČNOSTI (GRUPIRANJE) VINA SORTE GRAŠEVINA OBZIROM NA ZOI.....	54
5. ZAKLJUČCI.....	60
6. LITERATURA.....	61
7. PRILOZI	

1. UVOD

Vino je poljoprivredno-prehrambeni proizvod, dobiven potpunom ili djelomičnom alkoholnom fermentacijom masulja ili mošta, od svježeg i, za preradbu u vino, pogodnoga grožđa. Tijekom alkoholne fermentacije šećer iz grožđa se potpuno ili djelomično prevodi u etanol i CO₂. Osim konverzije šećera u alkohol, vino je rezultat mnogih kemijskih reakcija koje se događaju tijekom proizvodnje do dobivanja konačnog proizvoda (Hrvatska enciklopedija, 2021; Waterhouse, 2016).

Graševina je gospodarski najvažnija i najraširenija hrvatska sorta vinove loze, a u svijetu se po raširenosti nalazi na 15. mjestu te je isključivo nalazimo u kontinentalnim vinogorjima gdje je pronašla drugu domovinu. Dobre je i redovite rodnosti, što posebno valja naglasiti, jer daje prilično ujednačenu kakvoću. Stoga istoimeno vino po količini proizvodnje, prodaje i konzumacije zauzima vodeće mjesto u Hrvatskoj te je najviše šticeo vino. Vina Graševine se u sastavu čak i znatnije razlikuju, ovisno o podrijetlu, ali im je zajednička prepoznatljiva ugodna aroma, zelenkasto-žuta boja te svjež i skladan okus. Graševina je sorta koja može dati brojne i međusobno različite vrste vina, od svježih i aromatičnih jednostavnih vina do strukturiranih i izvanrednih predikatnih vina kasnih berbi ili ledenih vina (Sokolić, 2011).

Zemljopisna oznaka označava vino u smislu smještaja vinograda koji se koriste u vinarstvu, ali također predstavlja i broj propisa koji se odnose na samu proizvodnju vina, poput sorte grožđa koja se koristi u vinarstvu, odležavanja vina, uporabe bačve i dr. Ovaj niz propisa jamči da je vino proizvedeno na najpovoljniji način za postizanje optimalne kvalitete. Kako bi vrijedni proizvodi poput vina sorte Graševina ostali izvorni i da bi potrošaču bilo zajamčeno da zaista pije ono što je navedeno na etiketi, regulirana je cjelokupna proizvodnja vina i zaštita kontroliranog podrijetla vina. Geografska klasifikacija koristi se u cijelosti u vinskom svijetu, s propisima koji se temelje na istoj vrsti parametara, tj. vrsti grožđa, odležavanju vina i uporabi hrastovih bačvi (Basalekou i sur., 2020).

Cilj rada je bio odrediti fizikalno-kemijske karakteristike vina proizvedenih od sorte Graševina te na temelju toga definirati regionalne karakteristike ovog vina. Pritom su korištene infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FTIR) i odgovarajuće kemometrijske tehnike poput analize varijance (ANOVA) i analize glavnih komponenata (PCA), koje pružaju mogućnost sistematiziranja podataka dobivenih iz različitih zaštićenih oznaka izvornosti (ZOI).

2. TEORIJSKI DIO

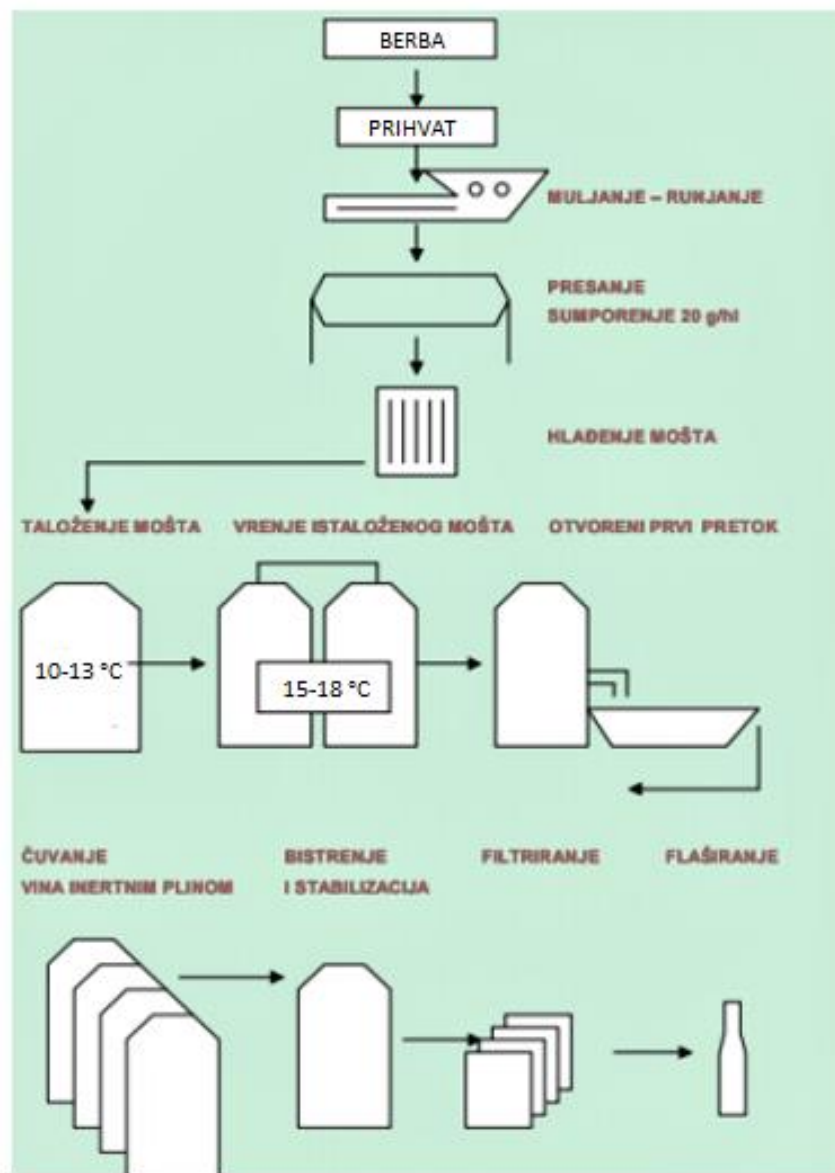
2.1. VINO

Prema Zakonu o vinu iz 2019. godine vino je proizvod od vinove loze i podrazumijeva sljedeće kategorije, a to su: mlado vino u fermentaciji, likersko vino, pjenušavo vino, kvalitetno pjenušavo vino, kvalitetno aromatično pjenušavo vino, gazirano pjenušavo vino, biser vino, gazirano biser vino, vino od prosušenog grožđa, vino od prezrelog grožđa. Voda i etanol su dva najzastupljenija spoja u vinu, a ostali kemijski spojevi koji su prisutni u vinu su nastali iz grožđa (primarna aroma), metabolizmom mikroorganizama i tehnikama proizvodnje (sekundarna aroma), tijekom dozrijevanja (tercijarna aroma) te odležavanjem vina (kvartarna aroma). Od spojeva arome prisutnih u vinu, najzastupljeniji su viši alkoholi, hlapive kiseline i esteri (Jackson, 2014; Waterhouse, 2016).

Vina se dijele u kvalitetne kategorije ovisno o kakvoći prerađenog grožđa, prirodu po hektaru, stupnju zrelosti grožđa, preradi i njezi, randmanu, količini alkohola i ostalih sastojaka kao i po senzorskim svojstvima. Vina se dijele u četiri kategorije; u užem smislu su to mirna vina, pjenušava vina, biser vina i gazirana vina, dok su specijalna vina desertna vina, liker vina i aromatizirana vina. Po boji se dijele na bijela, ružičasta i crna. Nadalje, po kakvoći se dijele na stolna vina, kvalitetna vina i vrhunska vina, a po sadržaju neprevrelog šećera se dijele na mirna vina - suha, polusuha, poluslatka i slatka te pjenušava, biser i gazirana vina - vrlo suha, suha, polusuha, poluslatka i slatka kako stoji u Zakonu o vinu (NN 96/2003).

2.2. TEHNOLOGIJA PROIZVODNJE BIJELIH VINA

Bijelo vino proizvodi se fermentacijom mošta. Kakvoća budućeg vina osim o kakvoći grožđa, uvelike ovisi i o brzini prerade. Dakle, od berbe grožđa, muljanja, tiještenja do fermentacije mošta mora proći što manje vremena. Brzina prerade i zaštita mošta od oksidacije, kao i odstranjivanje sveukupnih nečistoća prije fermentacije, uvjet je za proizvodnju bijelog vina svijetložute do zelenkasto-žute boje te čistog vinskog okusa i mirisa. Na Slici 1 prikazan je tehnološki proces proizvodnje bijelog vina (Zoričić, 1996).



Slika 1. Shema proizvodnje bijelog vina (Grgić, 2015)

2.2.1. Berba i prevoženje grožđa

Pravilno određeno vrijeme berbe jedan je od uvjeta za proizvodnju vrsnog vina. U svrhu tehnologije proizvodnje vina mora se pratiti sazrijevanje grožđa u periodu od 15 dana prije berbe. Trenutak dozrelosti prepoznaje se po vanjskom izgledu bobica, a kod bijelih sorata, zelena boja zamjenjuje žutu. Sama berba se odvija tijekom suhog vremena. Grožđe se stavlja u sanduke volumena 20 – 30 kg jer tako neoštećeno dolazi u podrum na preradu (Zoričić, 2003).

2.2.2. Runjenje – muljanje

Runjenje – muljanje prva je radnja u procesu prerade grožđa. Obavlja se da bi se bobica odvojila od peteljke i zgnječila da se oslobodi sok - mošt. Mošt se najvećim dijelom sastoji od vode (75 - 80 %), šećera (glukoza i fruktoza) i kiselina (vinska, limunska, jabučna, jantarna itd.). Ostali sastojci prisutni u vinu su spojevi koji sadrže dušik, mineralne tvari, tvari boje, tvari arome i vitamini. Runjenje je odvajanje bobice od peteljke bez gnječenja. Strojevi runjače rade na principu centrifuge pa su istodobno i runjače i muljače. Muljanje je gnječenje grožđa ako je prethodno uklonjena peteljka. Na modernim strojevima, runjača – muljača odvaja se runjenjem u bubnju s rupicama bobica od peteljkovine, a zatim se na valjcima mulja (gnječi) bobica te se tako dobiva smjesa soka i krutih dijelova bobice (sjemenka i kožica) zvana masulj. Odvajanjem peteljkovine vino se oslobađa gorčine i trpkosti, a do većeg izražaja dolaze mirisna svojstva sorte (Zoričić, 1996; Zoričić, 2003).

2.2.3. Sumporenje

Sumporenje se stoljećima koristi u vinarstvu. Kod proizvodnje bijelih vina, čija je proizvodnja zahtjevnija u odnosu na crna vina, dobiveni mošt, uz prisustvo kisika, podložan je oksidaciji i nekontroliranom razvoju mikroflore. Sumporenje ima višestruki učinak: djeluje antimikrobno na različite vrste plijesni i bakterija te nepoželjne vrste kvasaca, te ima antioksidacijsko i antiseptičko djelovanje, izaziva koagulaciju proteina sluznih tvari, taloži polifenole, kao i čestice zdrobljenih dijelova bobice i peteljkovine i pospješuje razvoj arome te sprječava razvitak nepovoljnih mirisa. Antimikrobno djelovanje sulfita u vodenim otopinama ovisi o pH, temperaturi i vremenu izlaganja. Sulfiti postoje u otopinama u tri oblika, odnosno kao molekularni oblik (SO_2) te kao HSO_3^- , SO_3^{2-} , a međusobni omjer navedenih oblika ovisi o pH. Dodatak SO_2 u mošt mora biti strogo kontroliran. Primijenjena doza trebala bi inhibirati rast nepoželjnih vrsta, ali istodobno omogućiti rast kvasca koji provodi fermentaciju. Zdravi masulj, dobiven od zdravog grožđa sumpori se s 20 g hL^{-1} kalijevog-metabisulfita ili 2 dcL SUMPOvina (komercijalni proizvod, 5 - 6 % sumporasta kiselina koja se primarno koristi za zaštitu vina od kvarenja i omogućava postizanje njegove vrhunske kvalitete bez utjecaja na organoleptička svojstva). Masulj dobiven od bolesnog i oštećenog grožđa sumpori se s $30 - 35 \text{ g hL}^{-1}$ K-metabisulfita ili 3 - 3,5 dcL sumpovina. Količina dodanog sumpora ovisi o zdravstvenom stanju i dozrelosti grožđa, ali i temperaturi grožđa (veća temperatura znači jače sumporenje) (Zoričić, 2003; Petravić-Tominac i sur., 2017).

2.2.4. Prešanje (tiještenje)

Kod proizvodnje bijelog vina tiještenje neprevrelog masulja provodi se odmah nakon runjenja – muljanja. Tiještenjem se određuje kakvoća mošta, a time je uvjetovana i kakvoća vina. Osnovno pravilo je da se mora osigurati paralelno povećanje i održavanje pritiska da bi se spriječilo naglo smanjenje volumena kanala za istjecanje mošta između krutih čestica masulja. Prešanje se treba odvijati u što kraćem vremenu da bi se izbjegla nepoželjna oksidacija masulja i mošta (Zoričić, 1996; Zoričić, 2003).

2.2.5. Hlađenje mošta

Da bi se spriječila oksidacija, ali i druge negativne posljedice nakon prešanja, mošt se mora ohladiti na temperaturu optimalnu za kontroliranu fermentaciju ili za taloženje, odnosno temperatura mora biti ispod 18 °C. Fermentacijom na spomenutoj temperaturi, mošt se ne zagrijava, a šećer ravnomjerno prelazi u alkohol pa mirisne tvari ostaju u mladom vinu (Zoričić, 2003).

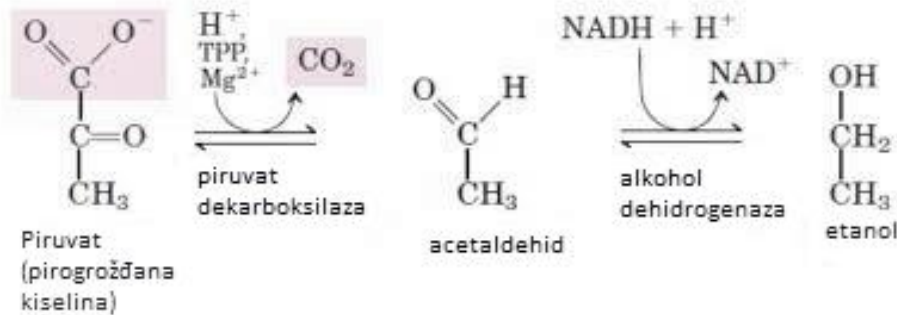
2.2.6. Talozenje mošta

Taloženje traje između 10 - 24 h, nakon čega se mošt pretoči u bačve ili cisterne i istodobno se dodaje već pripremljeni selekcionirani vinski kvasac (Zoričić, 2003).

2.2.7. Fermentacija istaloženog mošta

U pretvorbi mošta u vinu odvijaju se 2 procesa, a to su alkoholna fermentacija, izazvana kvascima i malolaktička fermentacija koju provode bakterije. Alkoholnu fermentaciju izazivaju kvasci koji su u mošt dospjeli s bobicama grožđa (spontana fermentacija) ili smo ih dodali (selekcionirani vinski kvasci). Tijekom razgradnje šećera djelovanjem enzima kvasaca nastaju produkti poput alkohola, CO₂, octene kiseline, jantarne kiseline i dr.

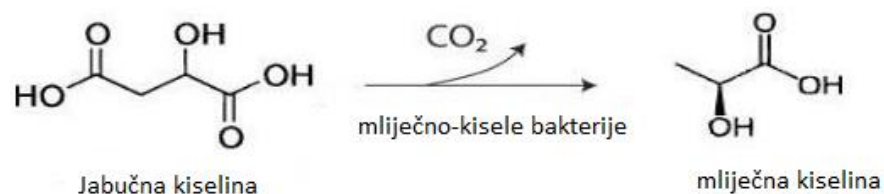
Alkoholna fermentacija – to je složen biokemijski proces tijekom kojeg nastaju sekundarni spojevi i međuspojevi kao što su pirogroždana kiselina, glicerol itd. Dekarboksilacijom pirogroždane kiseline uz enzim piruvat dekarboksilazu javljaju se CO₂ i acetaldehid iz kojeg enzimom alkohol dehidrogenazom nastaje etanol (Slika 2).



Slika 2. Alkoholna fermentacija(vlastita izrada)

Ova faza je poznata i kao burna fermentacija i traje 5 - 6 dana te predstavlja razdoblje s najintenzivnijom pretvorbom šećera u etanol i CO₂ koji pri izlasku izaziva turbulentno kretanje mošta. Ukoliko koncentracija prirodno prisutnih mikroorganizama u moštu nije dovoljna za uspješnu provedbu fermentacije, potrebno je inokulirati mošt selekcioniranim vinskim kvascima. Da bi se ostvarila zadovoljavajuće burna fermentacija, potrebno je izabrati vrstu kvasca koja ima visoku sposobnost previranja šećera iz grožđa u alkohol. Selekcionirani vinski kvasci su odabrani kvasci s bobica grozda i vinskog taloga nakon fermentacije, a potom su u mikrobiološkim laboratorijima selekcionirani tako da kod budućeg vina pridonose razvoju svih osobitosti sorte od koje vino potječe. Čimbenici koji utječu na alkoholnu fermentaciju su fizikalni (temperatura, tlak, koncentracija šećera), kemijski (dušične tvari, organske kiseline, metali) i biološki (ostali mikroorganizmi koji su konkurencija vinskim kvascima, posebice kada su u fazi razmnožavanja) (Zoričić, 2003).

1. Jabučno mliječna fermentacija (malolaktička fermentacija) – može se odvijati kao spontani ili potaknuti proces pretvorbe opore dikarboksilne jabučne kiseline u monokarboksilnu mliječnu kiselinu i CO₂ uz pomoć mliječno-kiselih bakterija kao što su *Oenococcus oeni*, *Lactobacillus* i *Pediococcus* (Slika 3).



Slika 3. Malolaktička fermentacija (vlastita izrada)

Zbog povećanog sadržaja alkohola i smanjenog sadržaja šećera smanjuje se aktivnost kvašćevih stanica. U toj fazi izumire značajan broj kvašćevih stanica (20 – 30 %) što rezultira opadanjem intenziteta fermentacije pa se ova faza naziva i fazom tihe fermentacije koja traje 10 - 20 dana. Nakon razgradnje, vino postaje pitkije i harmoničnije. To je poželjan proces u bijelim vinima od sorata s povećanim sadržajem ukupnih kiselina, kao što je to slučaj s bijelim vinima kontinentalne Hrvatske. Na razmnožavanje bakterija mliječne kiseline u vinu i njihov metabolizam utječu razni fizikalno-kemijski čimbenici (pH, temperatura, koncentracija SO₂ i etanola. Malolaktička fermentacija na kakvoću vina može djelovati pozitivno (smanjenje kiselosti, modifikacija mirisa i okusa, mikrobiološka stabilnost), ali i negativno (promjene mirisa, boje i tvorba biogenih amina) (Plavša, 2010).

2.2.8. Pretakanje vina

Pretakanje vina postupak je odvajanja bistrog mladog vina od taloga (drop, drožđe, kom, komina, trop). Postupkom se pridonosi izgradnji stabilnosti i kakvoći vina jer će se pretakanjem razgraditi tvari koje sprječavaju bistrenje vina (pektin i dr.). Prvi pretok se radi 7 - 14 dana nakon završetka fermentacije, a u prvoj godini vino se može pretoči 2 - 3 puta. Ako je vino podložno posmeđivanju prije pretoka se sumpori, a zatim se pristupa pretoku (Zoričić, 1996).

2.2.9. Bistrenje i stabilizacija

Primjenom bistrila i pročišćavanja vina dobijemo bistro i stabilno vino. Uzroci zamućenja vina su biološkog ili fizikalno-kemijskog podrijetla. Fizikalno-kemijsko djelovanje bistrila zasniva se na pojavi neutralizacije suprotno nabijenih električnih naboja između čestica bistrila koje se unose u vino i čestica koje zamućuju vino. Proteini i različite sluzi vina posjeduju pozitivan naboj, dok koloidi metala željeza i bakra posjeduju negativan naboj. Od bistrila pozitivan električni naboj imaju želatina, riblji mjehur i bjelanjak, a negativni tanin, betonit i agar-agar. Da bi se bistrenje pravilno obavilo potrebno je odabrati odgovarajuće bistrilo, odrediti potrebnu količinu bistrila, pravilno ga pripremiti prije bistrenja, umiješati ga u cjelokupnu količinu vina te pravodobno odvojiti bistro vino od taloga. Uobičajeni postupci bistrenja su sedimentacija (taloženje), bistrenje pomoću separatora, filtracija, centrifugiranje i dodatak enzima. Unazad 15-ak godina, sve je prisutnija tehnologija flotacije koja se umjesto klasičnog bistrenja koristi za pripremu mošta iz bijelih sorata grožđa. U praksi se to provodi tako da se prvo uz dodatak odgovarajućih enzima provede enzimska depektinizacija grožđa, masulja ili mošta, a potom se moštu u flotacijskom tanku dodaje želatina te se uvodi plinoviti dušik. Time se postiže efekt flotacije, odnosno na površinu mošta se uzdižu koloidne čestice. Na ovaj način se značajno

skraćuje postupak pripreme mošta, uz još neke prednosti kao što je sprečavanje neželjenih oksidacijskih procesa uzrokovanih oksidazama, neželjenih mikrobioloških procesa (razmnožavanje mikroorganizama kao što su kvasci roda *Brettanomyces* te bakterije rodova *Lactobacillus* ili *Pediococcus*) i sprečavanje spontanog početka fermentacije uzrokovanog prisutnim sojevima kvasaca roda *Saccharomyces*. Promatrano s tehnološko-enološkog aspekta, postupkom flotacije postiže se znatno veće iskorištenje mošta uz značajno bolju kvalitetu bijelih vina, a pritom ne dolazi do prekomjernog bistrenja mošta kao što to može biti slučaj kod taloženja (Zoričić, 1996; Petravić-Tominac i sur., 2017).

Cilj stabilizacije je spriječiti mutnoću i taloženje, a nestabilnost u vino unose dušikovi spojevi, polifenoli, metali, mikroflora te soli kiselina i kiseline. Postupci stabilizacije vina su bistrenje, taloženje, sumporenje i filtracija. Kalijeve i kalcijeve soli vinske kiseline (tartarati) se mogu taložiti te da bi se to spriječilo vino se hladi do $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ tijekom 8 dana nakon čega se formiraju kristali, a pročišćeno vino se puni u boce. Nadalje, druga metoda je da se vino ohladi na $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ i dodaju se sitno mljeveni tartarati uz snažno miješanje nakon čega se formiraju kristali i cijeli proces traje samo 24 h (Zoričić, 2003; Grainger i Tattersall, 2005).

2.2.10. Filtriranje

Filtriranje je postupak čišćenja vina od grubih i finih čestica mutnoće u tijeku kojega se na filtracijskom sloju kroz koji prolazi vino zadržavaju sve nečistoće vina. Filtracija može biti mehanička i membranska. Mehaničkom filtracijom se ovisno o stupnju zamućenja vina koriste filteri za odvajanje taloga (filter preše), naplavni filteri, filteri za finu filtraciju i mikrofilteri. Membranska filtracija se radi nakon mehaničke i koristi se neposredno prije punjenja vina u boce. Membranski filteri konstruirani su od plastičnih i keramičkih materijala koji su propusni za vodu i spojeve male molekulske mase poput alkohola, boja, aroma i dr. tvari koje se nalaze u vinu, no nisu propusni za velike molekule poput proteina. Razlikujemo nekoliko membranskih procesa, a to su: mikrofiltracija, ultrafiltracija, nanofiltracija i reverzna osmoza. Međusobno se razlikuju po mehanizmu i principu separacije, a zajednička im je membrana među dvjema fazama. Za filtraciju vina koristi se membranska mikrofiltracija. Tri su značajna faktora koja utječu na kapacitet: otpor koji pruža materijal od kojeg je načinjena membrana, otpor zbog začepljenja pora membrane te otpor taloga koji se prilikom procesa filtracije stvara na površini membrane (Zoričić, 2003; Grainger i Tattersall, 2005; Pozderović i sur., 2010).

2.2.11. Punjenje u boce

Vrijeme punjenja u boce različito je za pojedina vina, a to se odvija kad je vino bistro, postojano na zraku, na niskoj i visokoj temperaturi i mikrobiološki stabilno. Etiketa koja ukrašava bocu

osobna je vinska iskaznica koja sadrži obvezne oznake, a to su ime proizvođača, kakvoća (stolno, kvalitetno i čuvano vino) te zaštićeno ime (Zoričić, 2003).

2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA

Broj spojeva identificiranih u vinu slijedi napredak analitičke tehnologije. Istraživanjima je dokazano da u vinu ima preko 1300 hlapivih organskih tvari te nekoliko stotina anorganskih sastojaka. Raznolikost tako velikog broja uvjetovana je s nekoliko faktora, a to su prirodni čimbenici, klima, tlo i sorta (kultivar). Nadalje, raznolikost nastaje i utjecajem čovjeka, gnojidbom, zaštitom od štetnika i od bolesti, berbom i dr. te tehnološkim postupkom proizvodnje vina, od prerade grožđa do konačnog proizvoda. Kemijski gledano, vino je mješavina vode, alkohola, različitih kiselina i njihovih nusproizvoda koji su nastali alkoholnom fermentacijom. Voda i etanol, dvije su osnovne komponente koje čine vino. Glicerol, drugi viši alkoholi poput izoamil-alkohola, izobutil-alkohola i propan-1-ola, ugljikohidrati, sumporov (IV) oksid, jabučna, mliječna i limunska kiselina, fenoli, vitamini i minerali samo su neki od sastojaka radi kojih vino postiže autentična svojstva arome i okusa. U Tablici 1 prikazan je kemijski sastav tipičnog suhog stolnog vina (Zoričić, 1996; Priewe, 2007; Jackson, 2014; Waterhouse, 2016).

Tablica 1. Kemijski sastav tipičnog suhog stolnog vina (Waterhouse, 2016).

SASTOJCI	KONCENTRACIJA	KONCENTRACIJA (g L ⁻¹)	GLAVNE ULOGE U VINU
Voda	85-89 %		taktilna (osjećaj u ustima), najzastupljenija komponenta
Etanol	9-13 %		taktilna (oštar okus/ osjećaj topline, osjećaj u ustima) okus (trpkost, gorčina, slatkoća)
Glicerol	0,5-1-5 %		zanemariva, blagi doprinos slatkoći
Kiseline	0,6-1,0 %		okus (kiselost), puferiranje
Ugljikohidrati	0,1-0,5 %		okus (slatko)
1. Fruktaza		0,2-4	
2. Glukoza		0,5-1	
3. Saharaza		0-0,2	
Polifenoli	0,1–0,2 % (crno vino) 0,02-0,05 % (bijelo vino)		boja, trpkost
Polisaharidi	0,05-0,1 %		osjećaj u ustima
Minerali	0,05-0,2 %		puferiranje, manji utjecaj na okus

2.3.1. Voda

Osnovni je sastojak vina voda i čini 2/3 – 4/5 vina. U njoj su otopljene sve tvari koje se nalaze u vinu. Samo spojevi koji su barem djelomično topljivi ili koji se miješaju s vodom igraju značajnu ulogu u vinu. Voda je također bitna komponenta mnogih kemijskih reakcija kao što je dozrijevanje grožđa, fermentacija i odležavanje vina (Zoričić, 1996; Zoričić, 2003; Jackson, 2014).

2.3.2. Alkohol

Osnovni proizvod pretvorbe šećera iz mošta (groždanog soka nastao cijedenjem svježeg masulja) je etanol. U principu, jedan mol šećera trebao bi dati dva mola etanola, no u praksi je ta vrijednost bliža 1,8 mola etanola. Ovisno o koncentraciji šećera u moštu i načinu vođenja fermentacije, količina alkohola varira te može iznositi 40 – 140 g L⁻¹ odnosno 5 - 17,7 % (v/v). Glicerol je bitan jer je osnovni sastojak ekstrakta vina i u vinu ga mora biti najmanje 5 g L⁻¹. Metanol nastaje cijepanjem pektina, on je otrovan, no u otopini s etanolom smanjuje mu se otrovnost. Viši alkoholi nastaju najvećim dijelom iz aminokiselina djelovanjem kvasca, a među njima su najzastupljeniji izoamilni, amilni i izobutilni alkohol. Bijela vina sadrže 200 - 400 mg L⁻¹ viših alkohola. Reakcijom alkohola s karboksilnim kiselinama nastaju esteri koji su važni za aromu vina (Zoričić, 1996; Zoričić, 2003; Waterhouse, 2016).

2.3.3. Kiseline vina

Šest je organskih kiselina (vinska, jabučna, limunska, octena, jantarna i mliječna kiselina) koje čine preko 95% ukupnih organskih kiselina koje se nalaze u vinu. Jabučna kiselina prisutna je u vrlo visokim koncentracijama (> 20 g kg⁻¹) u nezrelim bobicama, ali se aktivno metabolizira tijekom sazrijevanja bobica. Koncentracije jabučne kiseline su općenito niže u toplijim regijama i zrelijem grožđu. Jabučna kiselina se također može metabolizirati tijekom fermentacije, prelazeći se u mliječnu kiselinu što je od posebne važnosti za vinarstvo. Vinska kiselina nastaje tijekom početne diobe stanica u bobici grožđa i stabilna je tijekom zrenja bobica. Njezina je koncentracija općenito konstantna u bobici. Vinska kiselina se ne metabolizira tijekom vinifikacije, ali se može ukloniti fizikalno-kemijskim mehanizmima poput taloženja. Limunska, jantarna i octena kiselina nastaju kao tipični produkti alkoholne fermentacije. Ukupne kiseline u vinu kreću se 4,5 - 12 g L⁻¹. Vinske kiseline u vinu ima 2-6 g L⁻¹, jabučne 2 - 7 g L⁻¹, limunske 0,1 - 0,7 g L⁻¹, octene 0,1 - 0,5 g L⁻¹, jantarne 0,5 - 1 g L⁻¹ te mliječne kiseline 0 - 3 g L⁻¹ (Zoričić, 1996; Zoričić, 2003; Waterhouse, 2016).

2.3.4. Ugljikohidrati

U grožđu i mnogim drugim biljkama šećeri će se nakupiti u bobici grožđa tijekom sazrijevanja u obliku glukoze i fruktoze. Šećeri su primarni supstrat kvascu za proizvodnju etanola tijekom alkoholne fermentacije. Vino sadrži jednostavne šećere ili monosaharide, heksoze (glukozu i fruktozu) i pentoze (arabinozu, ramnozu, ksilozu). Osim jednostavnih šećera koji se nalaze u vinu, prisutni su i polisaharidi koji potječu iz grožđa i kvasaca jer su glavne komponente stanične stijenke (Waterhouse, 2016). Pravilnikom o proizvodnji vina (NN 2/2005) s obzirom na sadržaj neprovrela šećera u gramima na litru razlikujemo:

- Suho vino, sadrži do 4 g L^{-1}
- Polusuho vino, sadrži $4 - 12 \text{ g L}^{-1}$
- Poluslatko vino, sadrži $12 - 50 \text{ g L}^{-1}$
- Slatko vino, sadrži preko 50 g L^{-1}

2.3.5. Mineralne tvari

Mineralne tvari u vinu se prvenstveno ekstrahiraju iz bobica grožđa, ali potječu i iz brojnih izvora kao što su sredstva za preradu vina ili aditivi koji se koriste tijekom proizvodnje vina. Glavni otopljeni minerali u vinu koji potječu iz soli metala su K, Fe, Na, Cu, Ca, Mg, Al, Mn, Zn. Ovi metali imaju pozitivan naboj u otopini i prisutni su kao kationi, a njihovi negativno nabijeni anorganski spojevi su fosfat, sulfat/sulfit, nitrat, bromid i klorid koji su prisutni kao anioni. Koncentracije metala ovise o vrsti tla, geologiji i onečišćenju pa su zato koncentracije metala ispitivane kao pokazatelji autentičnosti, osobito geografskog podrijetla vina. Kad u vodenoj kupelji ispari hlapivi dio vina, daljnjim zagrijavanjem spali se i njegov organski dio, a ostanu mineralne tvari u obliku pepela. Koncentracija pepela u vinu kreće se $1,3 - 3,5 \text{ g L}^{-1}$ (Zoričić, 1996; Zoričić, 2003; Waterhouse, 2016).

2.4. OZNAKE ZEMLJOPISNOG PODRIJETLA VINA

Republika Hrvatska odlikuje se bogatom tradicijom, specifičnim geografskim položajem i posebnim klimatskim uvjetima radi kojih posjeduje veliki broj tradicionalnih prehrambenih proizvoda koji konkuriraju kako na domaćem, tako i na stranom tržištu. Shodno tome, neki proizvodi postali su prepoznatljivi po kvaliteti i području u kojem su proizvedeni. Da bi se postigao identitet i prepoznatljivost proizvoda, cjenovna kategorija takvih proizvoda, ali i izravna veza proizvoda s područjem proizvodnje koja daje dodatnu vrijednost i prepoznatljivost

te da bi se mogla osnovati interesna udruženja sa svrhom zajedničkog nastupa na tržištu, razvila se zaštita određenih proizvoda.

U svijetu postoje klimatske i geomorfološke cjeline u kojima se većinom izražavaju razlike u kakvoći grožđa, odnosno vina. Osim toga, na kakvoću vina utječu podloga, kultivar, tradicija, tehnologija proizvodnje i dr. Da bi se prirodni uvjeti razvoja vinove loze kao i sama tehnologija proizvodnje grožđa i vina što bolje odredili, vinogradarska područja su obuhvaćena regionalizacijom. Svrha regionalizacije je zaštita potrošača, čiji se proizvod prepoznaje po podrijetlu, kakvoći i specifičnostima tradicije (Mirošević i Turković, 2003).

Zakonom o poljoprivredi (NN 30/2015) i Pravilnikom o zaštićenim oznakama izvornosti (ZOI), zaštićenim oznakama zemljopisnog podrijetla (ZOZP) i zajamčeno tradicionalnim specijalitetima (ZTS) poljoprivrednih i prehrambenih proizvoda (NN 39/2019) propisuje se nacionalni postupak zaštite naziva.

Prema delegiranoj uredbi (EU) 2019/33 ZOI je naziv regije, određenog mjesta ili, u iznimnim slučajevima, zemlje koja se koristi za označavanje proizvoda čija kakvoća i karakteristike nastaju pod utjecajem posebnih prirodnih i ljudskih čimbenika određene zemljopisne sredine. Pravilnikom o zaštićenim oznakama izvornosti i zaštićenim oznakama zemljopisnog podrijetla, tradicionalnim izrazima i označavanju vina (NN 141/2010) definirano je da bi vino dobilo ZOI, da grožđe za proizvodnju tih proizvoda mora potjecati isključivo s tog zemljopisnog područja te se proizvodnja mora odvijati u tom zemljopisnom području. Također, grožđe za proizvodnju mora biti od vinskih sorti koje pripadaju vrsti *Vitis vinifera* ili križancima *Vitis vinifera* s drugim vrstama roda *Vitis*, koji ima specifičnu kakvoću, ugled ili druga obilježja koja se pripisuju njegovom zemljopisnom podrijetlu. Nadalje, najmanje 85 % grožđa za proizvodnju tih proizvoda mora potjecati isključivo s tog zemljopisnog područja.

ZOI vina na razini Europske unije su registar zaštićenih oznaka izvornosti (ZOI) i zaštićenih oznaka zemljopisnog podrijetla (ZOZP) čiji je naziv registriran u EU sa svrhom označavanja proizvoda, točnije vina te isticanje naziva lokaliteta u skladu s propisima EU da bi se lakše prepoznala posebnost svih odlika izvornosti jednog vinogradarskog lokaliteta i da bi potrošači mogli razumjeti svojstva proizvoda iz sektora vina te zajamčiti proizvođačevo priznanje kvalitete svojih proizvoda. Uredbom se obuhvaćaju i pravila za označivanje i prezentiranje vina sa ZOI, a to se odnosi na:

- „obvezne podatke” – stvarna alkoholna jakost, oznaka podrijetla, navođenje punionice, za pjenušava vina proizvođača ili prodavača, za uvezena vina uvoznika te udio šećera za pjenušava vina.
- „neobvezne podatke” – godina berbe, sorta vinove loze (ili više njih), udio šećera (za vina koja nisu pjenušava), tradicionalne izraze za vina sa ZOI ili zaštićenom oznakom zemljopisnog podrijetla, simbol EU-a kojim se označuje ZOI ili ZOZP, izraze koji se odnose na način proizvodnje i na gospodarstvo te boce posebnih oblika i zatvarača.

Na popisu se nalazi 17 hrvatskih vinogradarskih regija i vinogorja, a to su: Dalmatinska zagora, Dingač, Hrvatska Istra, Hrvatsko Podunavlje, Hrvatsko Primorje, Istočna i Zapadna kontinentalna Hrvatska, Moslavina, Plešivica, Pokuplje, Ponikve, Prigorje – Bilogora, Primorska Hrvatska, Sjeverna Dalmacija, Slavonija, Srednja i Južna Dalmacija te Zagorje – Međimurje. Važno je istaknuti da je najnovije vinogorje na tom popisu, vinogorje Ponikve, koje je upisano u europski registar ZOI 10. veljače 2021. godine objavom u Službenom listu Europske unije (Ministarstvo poljoprivrede, 2021).

Nadalje, tradicionalni izrazi koji se mogu koristiti za ZOI vina su (Ministarstvo poljoprivrede, 2021):

- “Kvalitetno vino s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom” koje se može nadopuniti izrazima: „mlado vino” i „arhivsko vino”.
- “Vrhunsko vino s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom” koje se može dopuniti izrazima: „arhivsko vino”, „kasna berba”, „izborna berba”, “izborna berba bobica”, „izborna berba prosušenih bobica” i „ledeno vino”.

Svaka od navedenih vinorodnih regija i vinogorja karakterizirani su vlastitim fizikalno-kemijskim i organoleptičkim (senzorskim) svojstvima vina.

Potrebno je istaknuti i izuzetno važan pojam u vinogradarstvu, a to je pojam franc. „terroire“ (teroar) koji povezuje senzorska svojstva vina s uvjetima okoline u kojima se grožđe uzgaja te stoga prikazuje važan opis povezanosti vina i njegovog geografskog podrijetla. Sam koncept „terroire“ se koristi za objašnjavanje hijerarhije visokokvalitetnih vina, a definira se kao interaktivni ekosustav na određenom mjestu, uključujući klimu, tlo i vinovu lozu. „Terroire“ obuhvaća prirodne čimbenike tla kao što su temperatura, količina i raspodjela kiše ili sunčevog zračenja, dubina tla i udio minerala i sl. te ljudske čimbenike u upravljanju vinograda. Za proizvodnju bijelih vina visoke kvalitete potrebne su redovite, ali ne pretjerane zalihe vode i

dušika. Međutim, veliki „terroire“ pojavljuje se samo kada su socijalno-ekonomski uvjeti povoljni za uspostavljanje proizvodnje kvalitetnih vina (Van Leeuwen i Seguin, 2006).

Osim „terroire“ bitan je pojam i regionalizacija. Pod pojmom regionalizacije vinogradarskih područja podrazumijeva se znanstveno i stručno utemeljena zakonska odredba kojom se jedno šire vinogradarsko područje svodi u zemljopisne granice vinogradarskih jedinica koje se međusobno razlikuju po prirodnim čimbenicima (tlo, klima, topografija i dr.) i čimbenicima koji izravno ili neizravno nastaju utjecajem čovjeka (podloga, kultivar, tehnologija proizvodnje, tradicija i dr.). Prema Zakonu o vinu (NN 32/2019) zemljopisna područja uzgoja vinove loze Republike Hrvatske dijele se na: vinogradarske zone, regije, podregije, vinogorja i vinogradarske položaje, a klimatski i drugi uvjeti utječu na izbor sorti. Da bi ta podjela imala smisla moraju se točno definirati sorte koje se mogu uzgajati na području jednog vinogorja, a one su rezultat višegodišnjeg iskustva kojeg praksa potvrđuje, a regionalizacija ozakonjuje (Fazinić i Milat, 1994; Mirošević i Turković, 2003). Regionalizacija vinogradarskog područja bitna je za vino jer je usko povezana s cijelim lancem proizvodnje. Dakle od vinograda, preko podruma do gotovog proizvoda, ali i s plasmanom vina na tržište (Anonymous 1, 2021).

Vinogradarska regija je najveća administrativno-organizacijska jedinica koja predstavlja zemljopisno područje sa sličnim klimatskim i pedološkim uvjetima, koji zajedno s agrobiološkim čimbenicima utječu na glavna kvalitativna obilježja grožđa, mošta i vina, proizvedenih na tom području. Područje Republike Hrvatske dijeli se u četiri vinogradarske regije (NN 32/2019):

- Slavonija i Hrvatsko Podunavlje
- Hrvatska Istra i Kvarner
- Dalmacija i
- Središnja bregovita Hrvatska.

Vinogradarska podregija je manja administrativno-organizacijska jedinica unutar vinogradarske regije koja predstavlja zemljopisno ograničeno područje sa sličnim klimatskim i pedološkim uvjetima, sličnim sortimentom i ostalim agrobiološkim uvjetima, koji omogućuju proizvodnju grožđa, mošta i vina, specifičnih svojstava karakterističnih za podregiju (NN 32/2019).

Vinogorje je osnovna vinogradarska jedinica unutar vinogradarske podregije, a koja predstavlja manje zemljopisno područje s vrlo ujednačenim klimatskim i pedološkim uvjetima,

sortimentom i ostalim agrobiološkim uvjetima koji omogućuju proizvodnju grožđa, mošta i vina, specifičnih svojstava karakterističnih za to vinogorje (NN 32/2019).

Vinogradarski položaji su zemljopisno ograničeni dijelovi vinogorja s pogodnim okolišnim uvjetima, s obzirom na klimu, tlo, nadmorsku visinu, ekspoziciju, kao i sortiment, koji omogućuju proizvodnju grožđa, mošta i vina koji se po kakvoći i organoleptičkim svojstvima razlikuju od istih proizvoda iz drugih proizvodnih područja unutar iste podregije (NN 32/2019).

Prema Pravilniku o zemljopisnim područjima uzgoja vinove loze (NN 74/2012) vinogradarske zone proizvodnje u Republici Hrvatskoj podijeljene su na regiju Istočne kontinentalne Hrvatske, Zapadne kontinentalne Hrvatske i Primorske Hrvatske.

Istočna kontinentalna Hrvatska dijeli se na 2 podregije i 13 vinogorja, a to su:

1. Podregija **Hrvatsko Podunavlje** s 3 vinogorja (Srijem, Erdut i Baranja),
2. Podregija **Slavonija** s 10 vinogorja (Đakovo, Slavonski Brod, Nova Gradiška, Požega-Pleternica, Kutjevo, Daruvar, Pakrac, Feričanci, Orahovica-Slatina i Virovitica).

Zapadna kontinentalna Hrvatska dijeli se na 5 podregija i 25 vinogorja.

3. Podregija **Moslavina** s 2 vinogorja (Voloder-Ivanićgrad i Čazma).
4. Podregija **Prigorje-Bilogora** s 6 vinogorja (Dugoselo-Vrbovec, Kalnik, Koprivnica-Đurđevac, Bilogora, Zelina i Zagreb)
5. Podregija **Pokuplje** s 3 vinogorja (Karlovac, Petrinja i Vukomeričke gorice).
6. Podregija **Plešivica** s 5 vinogorja (Samobor, Plešivica-Okić, Sveta Jana, Krašić, Ozalj)
7. Podregija **Zagorje-Međimurje** s 9 vinogorja (Međimurje, Varaždin, Ludbreg, Krapina, Zlatar, Zabok, Klanjec, Stubica, Pregrada).

Primorska Hrvatske dijeli se na 5 podregija i 31 vinogorja, a to su:

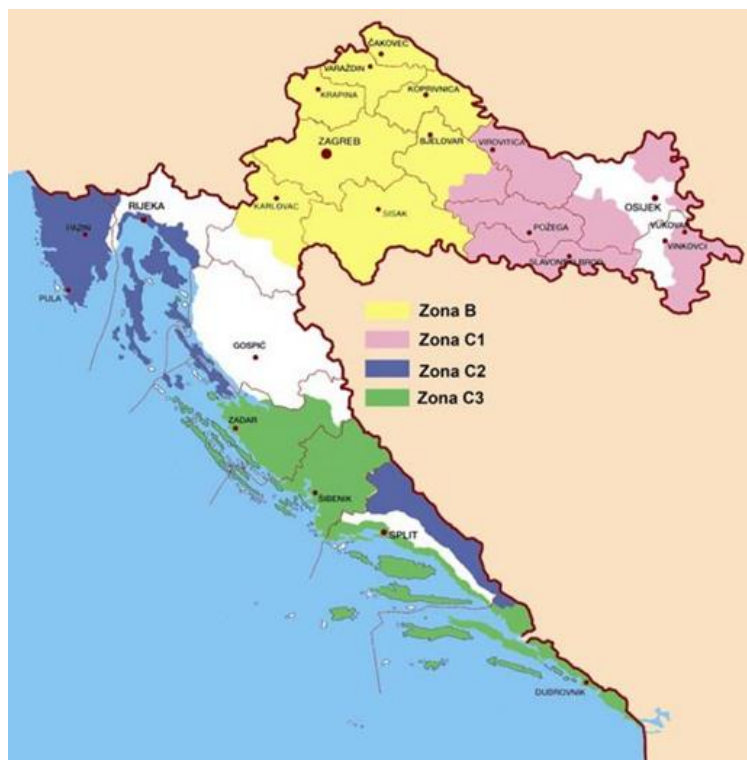
1. Podregija **Hrvatska Istra** s 3 vinogorja (Zapadna Istra, Centralna Istra i Istočna Istra)
2. Podregija **Hrvatsko primorje** s 5 vinogorja (Opatija-Rijeka-Vinodol, Krk, Rab, Cres-Lošinj i Pag).
3. Podregija **Sjeverna Dalmacija** s 9 vinogorja (Zadar-Biograd, Benkovac-Stankovci, Promina, Pirovac-Skradin, Knin, Drniš, Šibenik i Primošten).
4. Podregija **Dalmatinska zagora** s 3 vinogorja (Sinj-Vrlika, Imotski i Vrgorac)

5. Podregija **Srednja i južna Dalmacija** s 12 vinogorja (Kaštela-Trogir, Split-Omiš-Makarska, Neretva, Konavle, Mljet, Pelješac, Korčula, Lastovo, Vis, Hvar, Brač i Šolta).

2.4.1 Vinogradarska zona

Na kakvoću grožđa velik utjecaj ima temperatura za vrijeme vegetacije (sume efektivnih temperatura). Prema Zakonu o vinu (NN 32/19) vinogradarska zona je vinorodno područje koje karakteriziraju slični klimatski uvjeti te za koju su u skladu s propisima Europske unije utvrđeni posebni enološki postupci u granicama zona A, B, C I, C II, C III (a) i C III (b). Na temelju temperaturnih suma za vrijeme vegetacije vinogradarsko područje Hrvatske podijeljeno je na 4 zone proizvodnje (Slika 4):

- **ZONA B** – obuhvaća podregije: Moslavina, Prigorje – Bilogora, Plešivica, Pokuplje, Zagorje – Međimurje
- **ZONA C1** – obuhvaća podregije: Hrvatsko Podunavlje i Slavonija
- **ZONA C2** – obuhvaća podregije: Istra, Hrvatsko primorje i Dalmatinska zagora
- **ZONA C3** –obuhvaća podregije: Sjeverna Dalmacija, Srednja Dalmacija te Južna Dalmacija



Slika 4. Vinogradarske zone u RH prema Winkleru (Anonymous 2, 2009)

Zona C1 u podregiji Slavonija prema podjeli Hrvatske na klimatsko – vinogradarske zone, pod utjecajem je srednjoeuropske klime, ali osjeća se i utjecaj istočne klime. Na ovom području srednja godišnja temperatura iznosi 11 °C i srednje godišnje količine padalina iznose oko 839 mm. Uslijed klimatskih uvjeta na ovom području vina imaju najbolje uravnotežene odnose svih sastojaka, naročito sadržaja alkohola i ukupnih kiselina. Slavonija je poznata po proizvodnji bijelih vina od kojih se posebno ističe sorta Graševina koja je tu najznačajnija, a ujedno i najzastupljenija radi najbolje kvalitete koju daje. Osim Graševine, prisutne su i druge sorte kao npr. Rajnski rizling, Chardonnay, Pinot sivi, Sauvignon, Ružica crvena i Rizvanac (Fazinić i Milat 1994; Ministarstvo poljoprivrede, 2021).

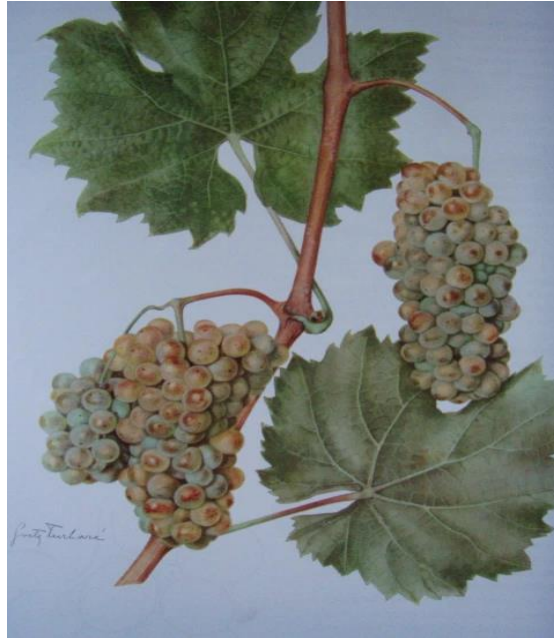
Nadalje, istočni dio regije zone C1 čini vinogradarska podregija Hrvatsko Podunavlje, koja je pod utjecajem stepске klime sa srednjom godišnjom temperaturom od 12 °C, vrlo niskim zimskim temperaturama te razmjerno niskim godišnjim padalinama od oko 630 mm. U takvim ekološkim uvjetima vina imaju izrazito visok sadržaj alkohola, a nisku razinu ukupnih kiselina. Najzastupljenija sorta u Hrvatskom Podunavlju je Graševina, a slijede ju Rajnski rizling, Chardonnay, Traminac crveni, Pinot sivi i Pinot bijeli. Kao što je prethodno spomenuto, B zoni pripadaju vinogradske podregije Plešivica, Zagorje - Međimurje, Prigorje - Bilogora i Moslavina te na njih utječe srednjoeuropska klima sa srednjom godišnjom temperaturom od 8,6 °C te srednjim količinama godišnjih padalina od 1100-1200 mm. Vina koja uspijevaju na navedenom području karakterizira manji sadržaj alkohola, a veći sadržaj ukupnih kiselina. Na Slici 5 nalazi se prikaz vinogorja Kontinentalne Hrvatske (Fazinić i Milat, 1994).



Slika 5. Prikaz vinogorja Kontinentalne Hrvatske (Anonymous 3, 2021)

2.5. GRAŠEVINA

Graševina (Slika 6) se smatra autohtonom sortom u Republici Hrvatskoj, a ujedno je i najzastupljenija vinska sorta bijeloga grožđa radi velike rodnosti i kvalitetnog grožđa, mošta i vina. Graševina (ili Grašica) u prijevodu na hrvatski znači "zeleni grašak". Ime je dobila po izgledu bobica tijekom određenog dijela procesa zrenja, kada najviše nalikuju zelenom grašku. Graševina je poznata kao sorta srednje Europe. Najčešći sinonimi su joj Grašica, Welschriesling u Njemačkoj i Austriji, Laški rizling u Sloveniji, Olaszrizling u Mađarskoj, Vlašsky ryzlink u Rumunjskoj i Riesling Italico u Italiji, a kao pogrešni sinonimi za nju koriste imena Petit Meslier, Pignoletto, Riesling, Aligoté i Greco. To je internacionalna sorta čije podrijetlo nije sa sigurnošću utvrđeno jer ampelografi poput Ludwiga von Baboa (19. stoljeće) tvrde da potječe iz Francuske, a drugi to opovrgavaju i zagovaraju Rumunjsko podrijetlo. Drugi ampelografi tvrde da je Graševina stigla k nama iz Njemačke, preko austrijske Štajerske, te da se u 19. stoljeću proširila zapadno-balkanskim prostorima gdje je našla idealne uvjete za uzgoj, pa je postala silno popularnom. Toliko se udomaćila da je se u Slavoniji smatra kultivarom ovih krajeva. Osim toga, u nekim drugim varijantama pretpostavlja se da je talijanska ili austrijska. Prefiksi welsch, laški, olasz i vlašsky na raznim jezicima znače „from Wallachia“ ili na hrvatskom – „iz Vlaške“, iz čega se da zaključiti da dolazi iz južne Rumunjske. Međutim, budući da je u Rumunjskoj za taj kultivar uvriježen naziv Riesling italiano, brojni stručnjaci s područja ampelografije suprotstavljaju se teoriji o rumunjskom podrijetlu sorte, te s obzirom na pridjev *italiano* radije upućuju na talijansko podrijetlo kultivara. Uzgaja se u svim podunavskim zemljama poput Rumunjske, Srbije, Hrvatske, Mađarske, Češke i Austrije te se može pronaći u još dvije zemlje koje ne pripadaju Podunavlju, a to su Italija i Slovenija (Sokolić, 2006.; Anonymous 4, 2021).



Slika 6. Grožđe sorte Graševina (Turković, 2013)

2.5.1. Botanička obilježja Graševine

Struktura grozda je svojstvo sorte, pa prema tome i njezino ampelografsko i tehnološko obilježje. Cvijet Graševine je hermafroditan. List je mali ili srednje veličine, duguljast i prevladava peterodijelan oblik, a zupci lista su oštri, nejednaki i dugi, svijetlo zelene boje. Lice lista je golo, a na naličju se nalaze rijetke pahuljaste dlačice i čuperci. Čokot je male do srednje bujnosti, rozgva je tanka ili srednje debela i svijetlije je, smeđe-žute boje. Grozd se sastoji iz dva dijela – peteljkovine i bobice, a bobica od sjemenke, mesa i kože. Peteljka je duga i tanka, a sinus je u obliku uskog "U". Grozd je malen do srednji, valjkast, jednostavan ili s jednim razvijenim sugrozdićem, a bobice su male i jednolične, okrugle i na sunčanoj strani kao opečene s karakteristično izraženim pupkom. Kožica je čvrsta, zeleno-žute boje, a meso je sočno sa slatkim sokom i ugodnog okusa koje dozrijeva na kraju III. razdoblja, što pripada kasnom kultivaru jer dozrijeva 25 - 30 dana poslije plemenke. Graševina pripada kultivaru za bijela vina dobre kakvoće. Velike je i redovite rodnosti, a prirodi variraju 80 - 150 q ha⁻¹ (Licul i Premužić, 1982; Zoričić, 1996; Mirošević i Turković, 2003; Turković i Turković, 2003).

2.5.2. Vino sorte Graševina

Vina sorte Graševina se znatno razlikuju u sastavu ovisno o podrijetlu jer je cijela kontinentalna Hrvatska zasađena Graševinom. U istočnim vinogradarskim područjima mošt je za 2% bogatiji

šećerom i sadrži manje ukupnih kiselina, a u zapadnim vinogorjima taj odnos je obrnut radi kasnog kretanja vegetacije i kasnog dozrijevanja pa je i kvaliteta slabija. S obzirom na to da je Graševina daleko najrasprostranjenija sorta u Hrvatskoj, prirodna je posljedica da sva vina ne mogu biti jednake kvalitete, ali im je zajednička odlika da je vino skladnog okusa, mekano i fine arome kultivara, zelenkasto-žute boje i svježeg i skladnog (harmoničnog) okusa te dobre i redovite rodnosti. To je vino posebno izraženog finog sortnog mirisa, punoće, vrlo ugodne svježine i lijepe kiselosti (Licul i Premužić, 1982; Fazinić i Milat, 1994; Sokolić, 2011).

Količine osnovnih sastojaka u vinu od Graševine bijele sjeverozapadnog dijela Hrvatske je slijedeća: alkohol 10 - 12,7 % vol., ukupna kiselost 5 - 9 g L⁻¹ te ukupni ekstrakt 17 - 23 g L⁻¹, ovisno o godini berbe. U nekim godinama s manjom količinom neprevrela šećera dobije se vino vrhunske kakvoće s količinom šećera u grožđu od 17,3 g L⁻¹ ali čak u dobrim godinama i na izuzetnim položajima do 23,7 g L⁻¹. Proizvodi se kao suho i polusuho vino u kategoriji kvalitetnih i vrhunskih vina (Zoričić, 1996; Priewe, 2007; Jackson, 2014; Waterhouse, 2016).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Uzorci za analizu

Analizirano je ukupno 360 uzoraka vina sorte Graševina dostupnih na hrvatskom tržištu, berba 2018. godine, proizvedenih u različitim vinogorjima iz 6 različitih ZOI podijeljenih u kategorije kvalitetnog vina KZP i vrhunskog vina KZP. Popis analiziranih vina nalazi se u Tablici 2.

Tablica 2. Popis vina sorte Graševina iz 2018. godine analiziranih u ovom diplomskom radu.

ZOI	Kvalitetno vino KZP	Vrhunsko vino KZP
Hrvatsko Podunavlje	92	25
Moslavina	10	0
Plešivica	29	1
Prigorje - Bilogora	16	2
Slavonija	130	15
Zagorje – Međimurje	38	2

3.1.2. Kemikalije

Za analitičke svrhe korištene su kemikalije navedene u Tablici 3.

Tablica 3. Popis kemikalija korištenih pri provođenju klasičnih kemijskih analiza.

Naziv	Čistoća	Proizvođač
fenolftalein	p.a.	Kemika, Hrvatska
NaOH	p.a.	Kemika, Hrvatska
H ₂ SO ₄	p.a.	Kemika, Hrvatska
H ₃ PO ₄	p.a.	Kemika, Hrvatska
Na ₂ S ₂ O ₃	p.a.	Kemika, Hrvatska
KI	p.a.	Kemika, Hrvatska
I ₂	p.a.	Kemika, Hrvatska
Fehling I	p.a.	Kemika, Hrvatska
Fehling II	p.a.	Kemika, Hrvatska
glukoza	p.a.	Kemika, Hrvatska
škrob	p.a.	Kemika, Hrvatska
metilno crvenilo	p.a.	Kemika, Hrvatska
metilno plavilo	p.a.	Kemika, Hrvatska
EtOH	p.a.	Kemika, Hrvatska
H ₂ O ₂	p.a.	Kemika, Hrvatska

3.1.3. Oprema

FTIR-spektroskop

Model korištenog uređaja je: WineScan™ koji se sastoji od analizatora koji je povezan s računalom preko Foss Integrator workstation računalnog programa, FOSS electric, Hille-roed, Danska (Slika 7).

Pomoću ovog instrumenta spektri su zabilježeni u rasponu 926 - 5012 cm⁻¹ sa spektralnom razlučivošću od 14 cm⁻¹. Spektri su snimljeni na temperaturi uzorka od oko 40 °C. Mjerenja su provedena u prijenosu na definiranoj optičkoj duljini puta od 371 m pomoću CaF₂ kivete. Uzorkovanje je provedeno automatskim uzorkivačem, koristeći oko 30 mL uzorka za dvostruko mjerenje, uključujući prethodno ispiranje sustava. Korekcija za pozadinske učinke poput vodene pare u optičkom putu instrumenta obično se vrši mjerenjem standarda prije mjerenja uzorka. Spektar propusnosti uzorka tada se dijeli sa spektrom propusnosti u pozadini

dobivenom standardnim mjerenjem. Pozadinska mjerenja su izvršena na dvostruko destiliranoj vodi. Mjerenja na pozadini vršena su svakih 20 minuta, a sustav je automatski ispran svakih 20 minuta ili nakon 15 uzoraka (Friedel i sur., 2013).

WineScan analizira glavne komponente proizvoda kao što su etanol, pH, šećeri i organske kiseline u vinu i moštu. Iz jednog uzorka mogu se analizirati do 32 parametra.

Vrijeme analize: 30 sekundi.

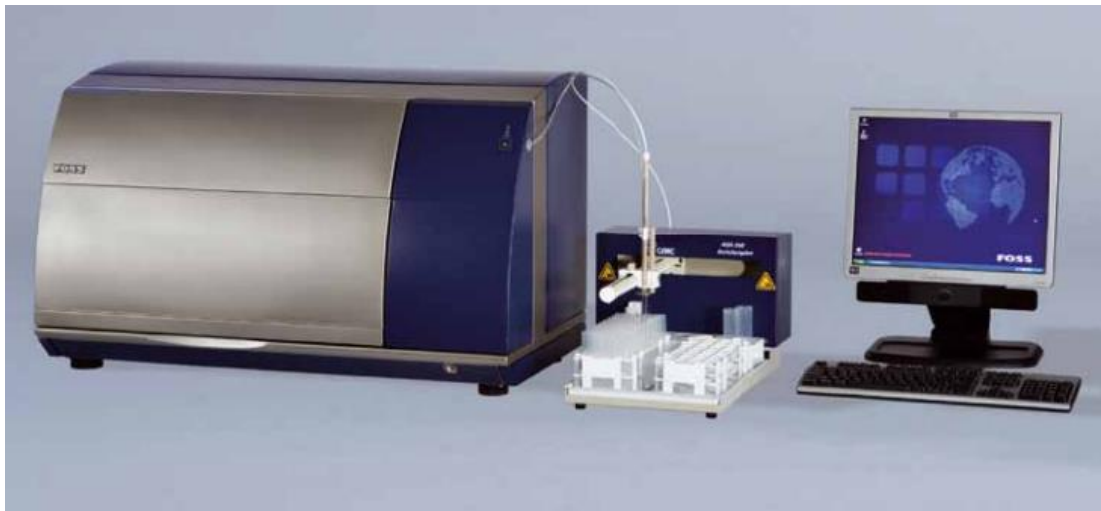
Kapacitet automatskog uzorkovanja - 3 veličine stalka:

21 pozicija/epruvete od 30 mL;

80 pozicija /epruvete od 20 mL;

120 pozicija/epruvete od 12 mL.

Temperatura uzoraka: 5-35 °C.



Slika 7. FTIR uređaj WineScan™, FOSS electric, Hille-roed, Danska (Friedel i sur., 2013).

Denzimetar

Model korištenog uređaja je: Anton Paar DMA 4500M, Austrija

Mjerenje gustoće od 0 g cm⁻³ to 3 g cm⁻³, na temperaturi od 0 °C to 100 °C u vremenu od 30 sekundi.

Uređaj za određivanje alkoholne jakosti

Model korištenog uređaja je: Anton Paar Alcoalyzer, Austrija

Mjerenje alkohola od 0-20 % v/v unutar 4 minute.

Destilacija vodenom parom

Model korištenog uređaja: Behr S1, Behr Labor-Technik, Njemačka

3.2. METODE

U analiziranim vinima određeno je ukupno 20 parametara, a to su relativna gustoća (20/20 °C), ukupni alkohol (% vol.), stvarni alkohol (% vol.), stvarni alkohol (g L^{-1}), ukupni ekstrakt suhi (g L^{-1}), reducirajući šećeri (g L^{-1}), ukupna kiselost (kao vinska) (g L^{-1}), hlapiva kiselost (kao octena) (g L^{-1}), pH, pepeo (g L^{-1}), slobodni sumporni dioksid (mg L^{-1}), ukupni sumporni dioksid (mg L^{-1}), smjesa glukoze i fruktoze (g L^{-1}), limunska kiselina (g L^{-1}), vinska kiselina (g L^{-1}), jabučna kiselina (g L^{-1}), mliječna kiselina (g L^{-1}), glicerol (g L^{-1}), fruktoza (g L^{-1}) i glukoza (g L^{-1}).

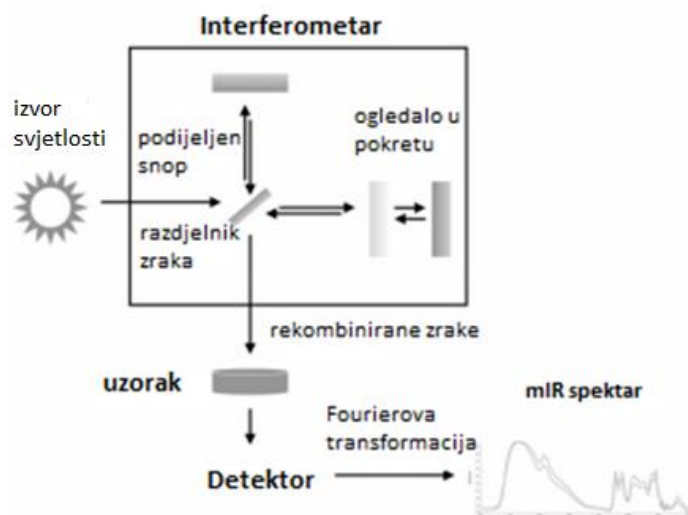
Statistička obrada rezultata i spektara: Kemometrijska i spektralna multivarijatna analiza (analiza glavnih komponenata - PCA) su provedene u programu Unscrambler 11.0 (Camo AS, Oslo, Norveška), dok su deskriptivna analiza, analiza varijance (ANOVA) i analiza klastera provedene u statističkom programu Statistica 10.0 (Statsoft, Tulsa, Oklahoma, SAD). Za vizualnu prezentaciju rezultata korišten je MS Excel®. Na temelju tako obrađenih rezultata provedena je sistematizacija dobivenih podataka iz različitih ZOI.

3.2.1. Određivanje alkoholne jakosti, pH, ukupne i hlapive kiselosti, smjese glukoze i fruktoze i reducirajućih šećera FTIR-spektroskopijom

Princip metode: FTIR ima sposobnost bilježenja kemijskog "otiska prsta" (fingerprint) vina što ga je učinilo izuzetno korisnim u kontroli kvalitete jer može poslužiti kao pokazatelj statusa vina u pogledu kvalitete i određivanju njegovog podrijetla. Za FTIR-spektroskopiju nužna je uporaba kemometrije. Zapravo, svi FTIR instrumenti dolaze s ugrađenim softverom koji se koristi za interpretaciju spektra i za statističke analize onih informacija koje se nalaze u IR spektru. Primjena novih analitičkih tehnika i kemometrijskih metoda koriste se za razvoj analiza kojima se definira podrijetlo proizvoda. FTIR-spektroskopija postaje sve popularnija u istraživanju vina jer se radi o jednostavnoj, brznoj i isplativoj metodi analize različitih kemijskih spojeva čak i ukoliko su prisutni u malim koncentracijama bez potrebe za kemikalijama ili prethodnom pripremom uzoraka. U analizi vina, ZOI se uspješno koristi ne samo za otkrivanje i kvantificiranje ključnih vinskih spojeva, nego i za klasificiranje vina i nadziranje njihove fermentacije ili procesa dozrijevanja. Stoga je FTIR-spektroskopija donijela bezbroj analitičkih prednosti, poput uštede vremena i visoke razlučivosti. To je nedestruktivna tehnika koja daje informacije o strukturi i karakteristikama molekula velikog broja spojeva. Njezine glavne prednosti su brzina, visok stupanj automatizacije, dobra razlučivost i isplativost. Pozitivni pomaci u razvoju FTIR instrumenata u novije vrijeme, zajedno s napretkom u kemometriji, omogućili su primjenu FTIR metode za rutinsku kvalitativnu analizu i kontrolu procesa u

mnogim industrijama. FTIR analiza može biti dragocjen alat za provjeru autentičnosti i sljedivosti vina, ukoliko se analizira velik skup uzoraka ili da se na temelju različitih uzoraka vina izradi baza podataka koja se koristi za usporedbu (Moreira i Santos, 2005.; Bauer i sur, 2008; Basalekou i sur., 2020).

FTIR-spektroskopijom infracrveno zračenje emitira izvor i prolazi kroz uzorak putem Michelsonovog interferometra. Interferometar dijeli zraku svjetlosti, odašiljajući jednu polovicu, a odražava drugu. Uz pomoć dva zrcala, jednog fiksnog i jednog pomičnog, razdvojene zrake se reflektiraju zajedno, stvarajući smetnje. Detektor mjeri intenzitet transmitiranog (odaslanog, prenesenog) ili reflektiranog (odbijenog, odraženog) svjetla kao funkciju svoje valne duljine. Signal koji zaprimi detektor je interferogram, koji se analizira računalom koristeći Fourier-ovu transformaciju kako bi dobili mIR-spektar jedne svjetlosne zrake. Intenzitet se može prikazati na dijagramu kao postotak transmitiranog svjetla ili apsorbancija pri svakom valnom broju (Slika 8).



Slika 8. Shematski dijagram tipične FTIR postavke i Michelsonovog interferometra (Basalekou i sur., 2020)

Spektar je dijagram izmjenjenog srednjeg IR intenziteta u odnosu na valnu duljinu svjetlosti izmjerenu u valnoj duljini $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$, prikazano u padajućem redosljedu valnih brojeva. Vrh spektra, nazvan apsorpcijskim maksimumom, odgovara različitim vrstama veza, odnosno vibracijama uzoraka atoma. Kada se materijal ozrači sa infracrvenim zračenjem (IR), IR zračenje obično pobuđuje molekule u više vibracijsko stanje. Valna duljina svjetla koju

apsorbira pojedina molekula je funkcija razlika energije između molekula koje se nalaze u "mirovanju" i one "u pobuđenom" vibracijskom stanju. Valne duljine koje je uzorak apsorbirao su karakteristične za pojedine molekulske strukture. Iako različite vrste veza proizlaze iz različitih molekula, njihove vibracije imaju istu frekvenciju. Dakle, proizvode se vrhovi na istim valnim brojevima koji su izravno proporcionalni frekvencijama. Na ovaj način, uz upotrebu korelacijskih tablica iz spektara snimljenih za tvari poznatog kemijskog sastava može se otkriti identitet uzorka, a također i njegova struktura i sastav molekule. U analitici vina značajno je IR područje $1542 - 965 \text{ cm}^{-1}$ u kojem vibriraju molekule koje sadrže kovalentne veze (C-C, C-H, O-H, N-H), a odnose se na organske spojeve kao što su šećeri, alkoholi i organske kiseline. IR spektar uzorka vina pokazuje da su pikovi apsorpcije vode i etanola dominantni. FTIR je indirektna metoda koja podatke dobivene mjerenjem pretvara u matematički ili kalibracijski model prije njihove konačne interpretacije. Uređaj WineScan™ Auto koristi FTIR-spektroskopiju zajedno s multivarijantnim statističkim postupcima tako da međusobno povezuje odziv spektra uzorka s vrijednostima dobivenim referentnim metodama za pojedine parametre (Smith, 1996; OIV, 2010; Basalekou i sur., 2020).

Uzorci vina se prije mjerenja filtriraju kroz naborani filter papir (589) radi odstranjivanja čestica onečišćenja i CO_2 . U skladu s položajem na nosaču uzorka slože se kivete (CaF_2) od 30 mL s uzorcima vina. Namjesti se izmjenjivač uzorka u odgovarajući položaj i instrument je spreman za rad. Nakon unošenja podataka o uzorcima u pripadajuće računalo može se pokrenuti analiza. Nakon analize koja se provodi u 2 paralelna mjerenja, uređaj se ispiri sredstvom za čišćenje (sadrži natrijev hidroksid i natrijev hipoklorit) tri puta i provjeri nula pomoću otopine za podešavanje nule (zero-setting) (OIV, 2010).

Korišteni uređaj mjeri alkoholnu jakost (vol %), pH, ukupnu kiselost (g L^{-1} vinske kiseline), hlapivu kiselost (g L^{-1} octene kiseline), smjesu glukoze i fruktoze te reducirajućih šećera (g L^{-1}) te navedene parametre izražava na jedno decimalno mjesto. Ako je rezultat smjese glukoze i fruktoze te reducirajućih šećera manji od 1 g L^{-1} , rezultat se izražava kao $<1 \text{ g L}^{-1}$. Dobiveni rezultati obrađuju se i pohranjuju pomoću Integrator workstation računalnog programa (OIV, 2010).

3.2.2. Određivanje relativne gustoće 20/20 °C

Princip metode: Gustoća na 20 °C i relativna gustoća na 20 °C mjere se u ispitivanom uzorku primjenom denzimetra: Anton Paar DMA 4500M na principu oscilirajuće U-cijevi, odnosno

elektronskom denzimetrijom s frekventnim oscilatorom. Rezonantna frekvencija U-cijevi je obrnuto proporcionalna drugom korijenu mase. Volumen U-cijevi je određena gustoća tekućeg uzroka kojim se napuni cijev izračuna se iz rezonantne frekvencije (OIV, 2009.; OIV, 2012).

Postupak rada s uzorkom: Uzorak se profiltrira kroz naborani filter papir (589) radi odstranjivanja čestica onečišćenja i CO₂ u kivetu koja se stavi na odgovarajuće mjesto na izmjenjivaču uzoraka. Mjerenje se ponavlja dva puta (OIV, 2009.; OIV, 2012).

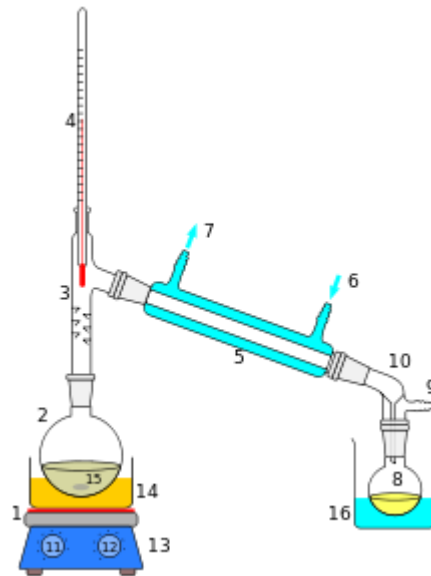
Iskazivanje rezultata: Denzimetar Anton Paar DMA daje rezultat gustoće izražen u g cm⁻³, te primjenom ugrađenog računalnog programa preračunava u relativnu gustoću uzorka. Iz vrijednosti gustoće uzorka (d_{20°C}) u g cm⁻³ dijeljenjem sa gustoćom vode pri 20 °C (0,998203 g cm⁻³) izračuna se relativna gustoća (d_{20°C/20°C}) kao što je prikazano u jednadžbi (OIV, 2009.; OIV, 2012):

$$d_{20^{\circ}\text{C}/20^{\circ}\text{C}} = \frac{d_{20^{\circ}\text{C}} \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}}{0,998203 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}} \quad [1]$$

3.2.3. Određivanje alkoholne jakosti NIR spektrometrijom

Alkoholna jakost vina dobiva se primjenom Anton Paar AlcoLyzera, gdje se alkohol dobiva kao funkcija intenziteta apsorpcije kod NIR linije za alkohol (Benes i sur., 2004).

Priprema uzorka provodi se tako da se ukloni najveći dio ugljičnog dioksida iz mladih i pjenušavih vina filtriranjem kroz naborani filter papir (589) (Benes i sur., 2004). Odmjerna tikvica od 100 mL napuni se profiltriranim uzorkom vina nešto iznad oznake i temperira u vodenoj kupelji na 20 °C tijekom 30 minuta. Nakon temperiranja podese se nivo vina na oznaku i kvantitativno prenese u tikvicu za destilaciju koja se spoji na klasičnu aparaturu za destilaciju (Slika 9) te destilira dok se 80-85 mL destilata sakupi u odmjerne tikvici od 100 mL. Ukoliko se destilira na uređaju za destilaciju, sakuplja se oko 98 % volumena destilata. Odmjernu tikvicu se potom nadopuni demineraliziranom vodom točno do oznake i temperira u vodenoj kupelji na 20 °C tijekom 30 minuta. Ukoliko se destilira u automatskoj destilacijskoj jedinici, destilat se sakuplja u volumetrijsku tikvicu smještenu na kraku vage, koja zaustavlja destilaciju kada se prikupi unaprijed postavljeni volumen od oko 85 mL destilata. Odmjernu tikvicu potom se nadopuni demineraliziranom vodom točno do oznake i temperira u vodenoj kupelji na 20 °C tijekom 30 minuta. Zatim, ukoliko je potrebno doda se nekoliko kapi demineralizirane vode do oznake i promućka se (Benes i sur., 2004).



Slika 9. Aparatura za destilaciju (Anonymous 5, 2007)

Određivanje alkohola ovom metodom može se provesti iz destilata ili iz prethodno filtriranog uzorka vina. Uzorak se stavlja u kivetu koja se potom postavi na odgovarajuće mjesto na izmjenjivaču uzoraka. Mjerenje se ponavlja dva puta (Benes i sur., 2004).

Iskazivanje rezultata: Uređaj Anton Paar DMA 4500M daje rezultat relativne gustoće uzorka, odnosno destilata, iskazan na pet decimalnih mjesta, alkoholnu jakost u g L^{-1} s jednim decimalnim mjestom i alkoholnu jakost u vol % na dva decimalna mjesta. Rezultat se iskazuje na dva decimalna mjesta za alkoholnu jakost izraženu u vol % i jedno decimalno mjesto za rezultat izražen u g L^{-1} .

Ukupna alkoholna jakost (vol %) računa se prema jednadžbi:

$$\text{Ukupni alkohol} = \text{stvarni alkohol} + \text{masa reducirajućih šećera u gramima} \cdot 0,059 \quad [2]$$

Napomena: Ukupni alkohol kod voćnih vina računa se na ukupni šećer (Benes i sur., 2004).

3.2.4. Određivanje ukupnog suhog ekstrakta

Princip metode: Ekstrakt u vinu određuje se računskim putem, na osnovu razlike relativne gustoće vina ili voćnog vina i relativne gustoće destilata formulom po Tabarieu. Kod primjene uređaja Anton Paar Alkolyzer DMA4500M ekstrakt se također dobiva računskim putem preko Tabarieove formule iz podataka za alkohol i gustoću. Način računanja ekstrakta ugrađen je u program instrumenta, a rezultat se prikazuje zajedno s podacima za relativnu gustoću i alkohol na ekranu instrumenta (OIV, 2012).

Ekstrakt u vinu i voćnom vinu koji se određuje na osnovu razlike relativne gustoće vina ili voćnog vina i relativne gustoće destilata računa se formulom prema Tabarieu na sljedeći način (OIV, 2012):

$$d_3 = (d_1 - d_2) + 1,0000 \quad [3]$$

gdje je:

d_1 = relativna gustoća vina ili voćnog vina

d_2 =relativna gustoća destilata

d_3 = razlika relativnih gustoća vina ili voćnog vina i destilata uvećana za 1,0000 (gustoća vode)

Za dobivene vrijednosti d_3 očitava se ekstrakt (g L^{-1}) u tabeli preuzetoj iz knjige (Tanner i Brunner, 1987).

Priprema uzorka kod primjene uređaja Anton Paar Alkolyzer DM 4500M: Ukloni se najveći dio ugljičnog dioksida iz mladih i pjenušavih vina filtriranjem kroz naborani filter papir. Uzorak se profiltrira u kivetu koja se stavi na odgovarajuće mjesto na izmjenjivaču uzoraka. Mjerenje se provodi dva puta (OIV, 2012).

Iskazivanje rezultata: Uređaj Anton Paar daje rezultat relativne gustoće uzorka odnosno destilata iskazano na pet decimalnih mjesta, alkoholnu jakost u g L^{-1} s jednim decimalnim mjestom i alkoholnu jakost u vol % na dva decimalna mjesta, te ukupni ekstrakt u g L^{-1} na dva decimalna mjesta. Ekstrakt u vinu i voćnom vinu izražava se u g L^{-1} na jedno decimalno mjesto. Ekstrakt bez šećera izražava se u g L^{-1} na jedno decimalno mjesto, a izračunava se prema jednadžbi:

- Ekstrakt bez šećera= ukupni ekstrakt - (reducirajući šećeri - 1) [4]

Napomena: Kod voćnih vina izračunava se ekstrakt bez ukupnih šećera

Rezidualni ekstrakt izražava se u g L^{-1} na jedno decimalno mjesto, a izračunava se prema jednažbi:

- Rezidualni ekstrakt= ekstrakt bez šećera – nehlapiva kiselost (OIV, 2012). [5]

3.2.5. Određivanje reducirajućih šećera automatskim titratorom

Princip metode: Reducirajući šećeri se oksidiraju uz istodobnu redukciju dvovalentnog iona bakra (Cu^{2+}) u jednovalentni ion bakra (Cu^+). Potom se jednovalentni ion bakra (Cu^+) oksidira

s kalij jodidom (KI) u kiseloj sredini i nastali jod (I_2) titrira se s otopinom natrij tiosulfata ($Na_2S_2O_3$) do završne točke titracije koja se određuje na temelju promjene potencijala otopine. Titracija se provodi na uređaju za automatiziranu potenciometrijsku titraciju Mettler Toledo, riječ je o mjerenju elektrodnih potencijala i njihovoj primjeni za određivanje koncentracije analita (Rebelein, 1973.; Tanner i Brunner, 1987).

Priprema uzorka: U 20 mL vina stavi se na vrh žlice aktivnog ugljena pomoću kojeg se uklanja boja, tanin i druge redukcijske komponente u vinu. Vino sa dodanim aktivnim ugljenom se dobro promućka i ostavi da stoji 10 minuta. Nakon toga se filtrira preko filter papira da se dobije bistar i bezbojan filtrat koji se dalje koristi u postupku analize. Vino sa sadržajem šećera do 13 g L^{-1} se ne mora razrijediti dok vina koja sadrže šećer veći od 13 g L^{-1} moraju se razrijediti prije određivanja (Rebelein, 1973.; Tanner i Brunner, 1987).

Određivanje reducirajućih šećera: U staklenu čašu od 100 mL doda se 5 mL otopine bakar-sulfata, 5 mL otopine kalij-natrijtartarat tetrahidrata, 2 mL uzorka i nekoliko kuglica za vrenje. Na vrh čaše stavi se lijevak i sadržaj zagrijava na električnom grijaču 2 minute. Nakon zagrijavanja čaša se hladi tekućom vodom. Ohlađenu čašu stavi se na automatski izmjenjivač uzoraka i pokrene titraciju pritiskom na oznaku metode za određivanje reducirajućih šećera, na zaslonu titratora. Automatski titrator zatim sam dozira po 10 mL 10 %-tne otopine kalij jodida i 10 mL 10%-tne otopine sulfatne kiseline te započinje titraciju tako pripremljenog uzorka sa otopinom $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ natrij tiosulfata. Svaka od te tri otopine se dozira uz pomoć jedinice za doziranje na kojoj su smještene birete, a koja je putem odgovarajućeg čipa vezana za memoriju titratora. Nakon što se titracijom postigne završna točka titracije, titrator putem automatiziranog sustava za obradu podataka određuje završnu točku titracije, odnosno volumen $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ otopine natrij-tiosulfata koji uzorak troši za svoju titraciju. Dobiveni podatak, zajedno s prethodno dobivenim i memoriranim podacima za slijepu probu i standardnu otopinu, automatski titrator koristi u matematičkom postupku i daje nam podatak o sadržaju šećera u uzroku vina/voćnog vina u g L^{-1} . Postupak se provodi jedanput (Rebelein, 1973.; Tanner i Brunner, 1987).

Iskazivanje rezultata: Količina reducirajućih šećera u uzorku vina ili voćnog vina u g L^{-1} izražena je na jedno decimalno mjesto (Rebelein, 1973.; Tanner i Brunner, 1987).

3.2.6. Određivanje pepela

Princip metode: Ekstrakt vina/voćnog vina se žari na temperaturi 500 i 550 °C do potpune oksidacije organske tvari (OIV, 2009).

Postupak rada: U prethodno izvaganu platinsku zdjelicu (početna masa P_0), odpipetira se 10 mL vina/voćnog vina. Upari se do suha na vodenoj kupelji, ostatak se zagrije u električnoj peći na 200 °C do početka karbonizacije. Kada se završi razvijanje dima, temperatura peći se povisi na 525 °C ± 25 °C i ta temperatura se održava tijekom žarenja. Nakon 15 minuta izvadi se zdjelicu iz peći, doda se nekoliko kapi demineralizirane vode, upari na vodenoj kupelji i dalje žari talog na 525 °C. Ako sagorijevanje (oksidacija karboniziranih čestica) nije potpuno, ponovi se dodavanje demineralizirane vode, uparavanje vode i žarenje. Kada je pepeo potpuno bijele boje, platinska zdjelica s pepelom se ohladi u eksikatoru i izvaži (masa P_1). Mjerenje se provodi jednom (OIV, 2009).

Iskazivanje rezultata: Masa pepela (P) izražena u gramima u 10 mL vina/voćnog vina jednaka je: $P = (P_1 - P_0)$ [6]

gdje je

P_0 = masa prazne platinske zdjelice u gramima

P_1 = masa platinske zdjelice i pepela u gramima

Masa pepela u gramima po litri (P') izražena na dva decimalna mjesta jednaka je:

$$P' = P \cdot 100 \quad [7]$$

(OIV, 2009)

3.2.7. Određivanje ukupne kiselosti titracijom uz indikator

Princip metode: Titracija uz indikator bromtimol modro i usporedba s bojenim standardom u završnoj točki (OIV, 2015).

Priprema uzroka: Eliminiranje ugljičnog dioksida na plameniku (OIV, 2015).

Određivanje ukupne kiselosti: U čašu od 400 mL odpipetira se 10 mL pripremljenog uzorka vina/voćnog vina i doda 2 kapi otopine indikatora bromtimol modro. Titrira se s otopinom 0,1 mol L⁻¹ natrij hidroksida dok se boja indikatora ne promijeni u plavo-zelenu. Mjerenje se provodi jednom (Zoecklein i sur., 2013.; OIV, 2015).

Iskazivanje rezultata: Ukupna kiselost za vino, izražena kao vinska kiselina, računa se prema formuli (Tanner i Brunner, 1987.; Zoecklein i sur., 2013.; OIV, 2015):

$$A = 0,75 \cdot n \quad [8]$$

gdje je:

A - ukupna kiselost (g vinske kiseline/L) - izražena na dva decimalna mjesta

n= mL 0,1 mol L⁻¹ natrij hidroksida

Ukupna kiselost za voćna vina, izražena kao jabučna kiselina računa se prema formuli:

A – ukupna kiselost (g jabučne kiseline L⁻¹)- izražena na dva decimalna mjesta

$$A=0,67 \cdot n \quad [9]$$

gdje je:

n- mL 0,1 mol L⁻¹natrij hidroksida (Tanner i Brunner, 1987.; Zoecklein i sur., 2013.; OIV, 2015).

3.2.8. Određivanje pH-vrijednosti pH-metrom

Princip metode: Mjeri se razlika potencijala između dvije elektrode uronjene u tekućinu koja se ispituje. Potencijal jedne od elektroda ovisi o pH tekućine, dok druga elektroda ima stalan i poznat potencijal i predstavlja referentnu elektrodu (OIV, 2011).

Određivanje pH uzorka: Uroni se elektroda u uzorak vina/voćnog vina. Očita se pH izravno sa skale pH metra. Određivanje pH ponovi se dva puta i kao konačni rezultat uzme aritmetička sredina (OIV, 2011).

Iskazivanje rezultata: pH vina/voćnog vina izražen je broječanom vrijednosti s dva decimalna mjesta (OIV, 2011).

3.2.9. Određivanje hlapive kiselosti

Princip rada: Titriraju se hlapive kiseline izdvojene iz vina/voćnih vina destilacijom vodenom parom. Ugljični dioksid se prethodno odstrani iz vina/voćnog vina filtriranjem kroz naborani filter papir. Kiselost slobodnog i vezanog sumpornog dioksida u destilatu dobivenom pod ovim uvjetima mora se oduzeti od hlapive kiselosti (OIV, 2015).

Priprema uzorka: Eliminira se ugljični dioksid filtracijom kroz naborani filter papir (OIV, 2015).

Destilacija vodenom parom: Za destilaciju vodenom parom koristi se uređaj Behr S1 (proizvođač: Behr Labor-Technik). U tikvicu se ulije 20 mL vina/voćnog vina oslobođenog

ugljičnog dioksida, doda se približno 0,5 g vinske kiseline i destilira dok se ne sakupi 250 mL destilata u Erlenmeyerovu tikvicu. Postupak se radi jednom (OIV, 2015).

Titracija: Dobiveni destilat titrira se 0,1 mol L⁻¹ otopinom natrijevog hidroksida uz dvije kapi fenolftaleina. Neka je n volumen (mL) utrošenog natrijevog hidroksida. Dodaju se četiri kapi klorovodične kiseline, 2 mL otopine škroba i nekoliko kristala kalijeva jodida. Titrira se slobodan sumporni dioksid s 0,0005 mol L⁻¹ otopinom joda. Volumen (mL) utrošene otopine joda označava se kao n'.

Doda se zasićena otopina natrijeva borata dok se opet ne pojavi ružičasta boja. Titrira se ukupni sumporni dioksid s 0,005 mol L⁻¹ otopinom joda. Volumen (mL) utrošene otopine joda označava se kao n''. (OIV, 2015).

Iskazivanje rezultata: Hlapiva kiselost (VA) izražena u gramima octene kiseline po litri, na dva decimalna mjesta, računa se jednadžbom (OIV, 2015):

$$VA=0,300 \cdot [n - 0,1 \times n' - 0,05 \times n''] \quad [10]$$

gdje je:

n- volumen (mL) utrošenog natrij hidroksida;

n'-volumen (mL) utrošene otopine joda;

n''-volumen (mL) utrošene otopine joda

Nehlapiva kiselost izražava se u gramima vinske kiseline po litri, na jedno decimalno mjesto.

Nehlapiva kiselost izračunava se iz jednadžbe (OIV, 2015):

$$\text{Nehlapiva kiselost} = \text{ukupna kiselost} - (\text{hlapiva kiselost} \times 1,25) \quad [11]$$

3.2.10. Određivanje slobodnog sumpornog dioksida

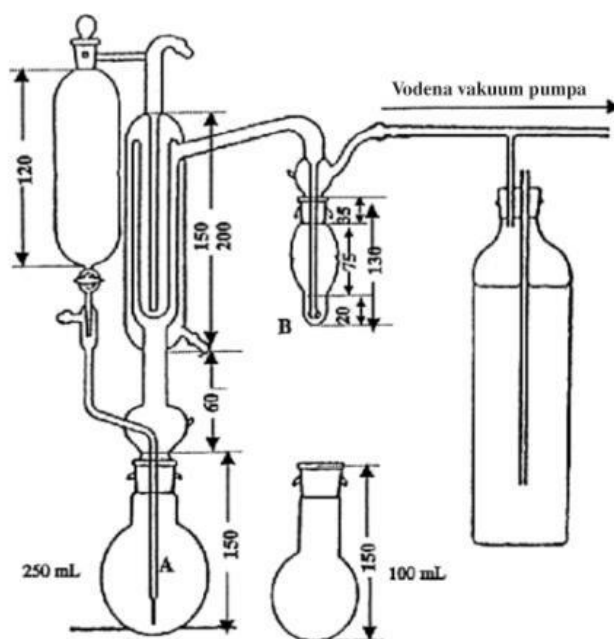
Princip metode: Uzorak vina/voćnog vina zakiseljen fosfatnom kiselinom (H₃PO₄) izložen je struji zraka na sobnoj temperaturi. Izdvojeni sumporni dioksid (SO₂) se potom oksidira u otopini vodikova peroksida (H₂O₂) i nastali vodikovi ioni se titriraju s otopinom natrijeva hidroksida (NaOH) uz kombinirani indikator (OIV, 2018).

Priprema otopine miješanog indikatora: 1 g metilnog crvenila i 0,5 g metilenskog modrila otopi se u 1 L 50%-tnog etanola (OIV, 2018).

Priprema otopine reagens indikatora: U tikvicu od 100 mL doda se 1 mL otopine vodikovog peroksida i nadopuni demineraliziranom vodom do oznake. Ova otopina se prelije u

Erlenmeyerovu tikvicu i doda se nešto otopine miješanog indikatora da otopina bude ljubičasto obojena. Zatim se otopini doda $0,01 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$ do pojave zelenog obojenja (OIV, 2018).

Određivanje slobodnog sumpornog dioksida: U tikvicu A stavi se 50 mL vina/voćnog vina, priključi ju se na aparaturu i uroni u rashladnu kupelj. Kroz nastavak doda se 15 mL 25% H_3PO_4 . U tikvicu B stavi se 3 mL otopine reagens-indikatora (Slika 10). Protok vode kroz vodenu vakuumpumpu podesi se tako da bude približno 40 litara u satu (kontrolira se mjeračem protoka zraka koji se nalazi između aparature i vodene vakuumpumpe). Od trenutka kada u tikvici B s otopinom reagens-indikatora počnu prolaziti mjehurići mjeri se vrijeme od 15 minuta. Nakon 15 minuta skinu se tikvice s aparature i sadržaj tikvice B titrira s otopinom $0,01 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$ sve dok prva dodana kap otopine $0,01 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$ ne promijeni ljubičasto u zeleno obojenje. Neka je n' mL volumen $0,01 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$ koji je utrošen za titraciju. Postupak se provede jednom (OIV, 2018).



Slika 10. Aparatura za određivanje slobodnog i ukupnog SO_2 (Pravilnik o fizikalno-kemijskim metodama analize mošta, vina, drugih proizvoda od grožđa i vina te voćnih vina (NN 106/2004))

Iskazivanje rezultata: Količina slobodnog sumpornog dioksida u mg L^{-1} izražava se zaokruženo na najbliži cijeli broj, a računa se prema jednadžbi:

$$\text{Slobodni SO}_2 = n' \cdot 6,4 \quad [12]$$

gdje je: n' = mL $0,01 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$ (OIV, 2018).

3.2.11. Određivanje ukupnog sumpornog dioksida

Princip metode: Uzorak vina/voćnog vina zakiseljen fosfatnom kiselinom (H_3PO_4) izložen je struji zraka uz zagrijavanje. Izdvojeni sumporni dioksid se potom oksidira u otopini vodikova peroksida (H_2O_2) i nastali vodikovi ioni se titriraju s otopinom natrijeva hidroksida (NaOH) uz kombinirani indikator (OIV, 2018).

Uzorci koji sadrže $\leq 50 \text{ mg L}^{-1}$ ukupnog SO_2 : U tikvicu A stavi se 50 mL vina/voćnog vina, priključi ju se na aparaturu, a kroz nastavak se doda 15 mL 25% H_3PO_4 . U tikvicu B stavi se 3 mL otopine reagens-indikatora (Slika 10). Protok vode kroz vodenu vakuum pumpu podesi se tako da bude približno 40 litara u satu. Vino/voćno vino u tikvici A zagrijava se laganim plamenom. Od trenutka kada u tikvicu B sa otopinom reagens-indikatora počnu prolaziti mjehurići mjeri se vrijeme od 15 minuta. Nakon 15 minuta skinu se tikvice s aparature i sadržaj tikvice B titrira s otopinom $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH sve dok prva dodana kap otopine $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH ne promijeni ljubičasto u zeleno obojenje. Volumen (mL) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH označava se kao n' koji je utrošen za titraciju (OIV, 2018).

Uzorci koji sadrže $\geq 50 \text{ mg L}^{-1}$ ukupnog SO_2 : U tikvicu A stavi se 20 mL vina/voćnog vina, priključi ju se na aparaturu, a kroz nastavak doda 5 mL 25% otopine H_3PO_4 . U tikvicu B stavi se 3 mL otopine reagens-indikatora. Protok vode kroz vodenu vakuum pumpu podesi se tako da bude približno 40 litara u satu. Vino/voćno vino u tikvici A zagrijava se laganim plamenom. Od trenutka kada u tikvici B počnu prolaziti mjehurići mjeri se vrijeme od 15 minuta. Nakon 15 minuta skine se tikvica B sa aparature i titrira sa otopinom $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH sve dok prva dodana kap otopine ne promijeni ljubičastu u zelenu boju. Neka je n' mL volumen $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH koji je utrošen za titraciju. Postupak se provede jedanput (OIV, 2018).

Iskazivanje rezultata: Količina ukupnog sumpornog dioksida u mg L^{-1} izražava se zaokruženo na najbliži cijeli broj, a računa se prema jednadžbi (OIV, 2018):

Za uzorke koji sadrže $\leq 50 \text{ mg L}^{-1}$ ukupnog SO_2 (50 mL uzorka):

$$\text{Ukupni } \text{SO}_2 = n' \cdot 6,4 \quad [13]$$

Za uzorke koji sadrže $\geq 50 \text{ mg L}^{-1}$ ukupnog SO_2 (20 mL uzorka):

$$\text{Ukupni } \text{SO}_2 = n' \cdot 16 \quad [14]$$

gdje je: n' - mL $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH

3.2.12. Analiza glavnih komponenata (PCA)

Analiza glavnih komponenata (engl. principal component analysis, PCA) je multivarijantna tehnika koju je razvio Pearson (1901), a koristi se jer posjeduje iznimnu matematičku točnost. Svaka od metoda multivarijantne tehnike primjenjuje jednaka pravila, a to su opis i tijek analize, pretpostavke i specifičnosti, hipoteze, pouzdanost i testiranje te primjena i interpretacija. PCA se provodi se kako da bi se pronašle prostorno bliske skupine, OTU-a (operativne taksonomske jedinice), u višedimenzionalnom prostoru, uz analizu njihovih međusobnih odnosa te uloge pojedinih varijabli u tim odnosima. Pri tome se kombiniranjem izvornih varijabli formiraju nove koje nisu međusobno korelirane, a naziva ih se glavnim komponentama. Najveći broj novih varijabli koji može nastati jednak je broju izvornih. Glavni aspekti analize glavnih komponenata su sažimanje i analiza linearne povezanosti većeg broja multivarijantno distribuiranih, kvantitativnih, međusobno koreliranih varijabli u smislu njihove kondenzacije u manji broj komponenata, novih varijabli koje su međusobno nekorelirane, s minimalnim gubitkom informacija (Pecina, 2006).

3.2.13. Analiza varijance (Fischerova analiza varijance ili ANOVA)

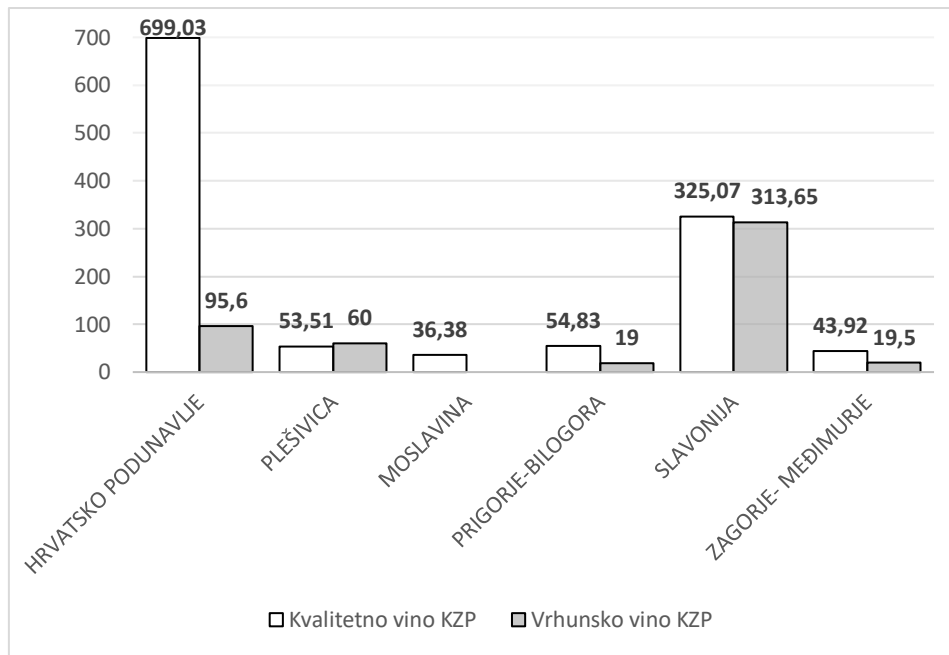
Analiza varijance se upotrebljava kada se želi testirati postoji li statistički značajna razlika između aritmetičkih sredina više populacija (osnovnih skupova) ili tzv. grupa te se donosi zaključak pripadaju li uzorci (grupe) istoj populaciji. Najčešće je u primjeni analiza varijance s jednim promjenjivim faktorom (engl. One-Way ANOVA) i analiza varijance s dva promjenjiva faktora (engl. Two-Way ANOVA). U postupku analize varijance primjenjuje se test za ispitivanje varijanci i test za ispitivanje razlika između prosječnih vrijednosti (F-test i t-test). Pretpostavke koje moraju biti zadovoljene za analizu varijance su sljedeće: da su uzorci iz populacije uzeti slučajno, da su pogreške neovisne i normalno distribuirane, te da imaju iste (homogene) varijance (Arnerić i Protrka, 2020).

4. REZULTATI I RASPRAVA

Pojam kemometrija nastao je prije nekoliko desetljeća i opisuje novi način analize kemijskih podataka u kojemu se kombiniraju elementi statističkog i kemijskog mišljenja. U kemometrijskim tehnikama, metode multivarijantnog empirijskog modeliranja se primjenjuju na kemijske podatke, a njena moć je u tome što se može koristiti za modeliranje sustava koji su u velikoj mjeri nepoznati i složeni (Gemperline, 2006). Sve učestalija upotreba matematičkih, statističkih i drugih metoda baziranih na logici u području kemije i to posebice u analitičkoj kemiji, koja se bavi istraživanjem kvalitativnih i kvantitativnih informacija materije, dovelo je do uvođenja pojma kemometrija. Švedski znanstvenik Svante Wold je 1971. skovao na švedskom jeziku termin „kemometri“ te je njegov engleski ekvivalent „chemometrics“. Godine 1986. te 1987. godine pokrenuti su časopisi „Chemometrics and Intelligent Laboratory systems“ i „Journal of Chemometrics“ koji su promovirali korištenje napredne opreme te razvoj instrumentacije za spregnute tehnike. Razvoj spregnutih tehnika omogućio je razvoj naprednih analitičkih metoda. Pojam sprežavanja („hyphenation“) prvi je upotrijebio Hirschfield 1980. godine kako bi opisao moguću kombinaciju dviju ili više instrumentalnih analitičkih metoda u pojedinačnoj analizi. Kemometrija danas ima važnu ulogu u analitičkoj kemiji. Analiza i razvoj hrane pa tako i vina koriste se rezultatima senzorskih eksperimenata u kojima se proizvodi sustavno prikazuju ljudima, obučanim panelistima ili slučajnim potrošačima, koji ih ocjenjuju na razne načine. Eksperimentalni dizajn ANOVA polazišta su istraživanja. Skupovi podataka su uvijek višenamjenski i višestruki, a jedna od metoda za obradu takvih podataka je PCA (Sandra i sur., 2002; Hibbert, 2009).

Cilj ovog rada bio je odrediti fizikalno-kemijske karakteristike vina proizvedenih od sorte Graševina te na temelju toga definirati regionalne karakteristike ovog vina. Pritom su korištene FTIR-spektroskopija i odgovarajuće kemometrijske tehnike ANOVA i PCA, koje pružaju mogućnost sistematiziranja podataka dobivenih iz različitih ZOI.

Graševina je prema Pravilniku o nacionalnoj listi priznatih kultivara vinove loze (NN 25/2020) uvrštena među preporučene kultivare u svim podregijama regije kontinentalna Hrvatska. Uzorci korišteni u ovome radu potječu iz 6 različitih podregija koje pripadaju upravo tom geografskom području.



Slika 11. Grafički prikaz količine vina sorte Graševina na tržištu (hL) iz 6 podregija proizvedenih 2018. godine

Prema podacima Državnog zavoda za statistiku godišnja proizvodnja vina sa ZOI u vinogradarskoj godini 2017./2018. iznosi 470.290 hektolitara. Na Slici 11 za sortu Graševina vidljivo je da je na tržištu najviše kvalitetnog vino KZP-a iz podregije Hrvatsko Podunavlje, a potom slijedi podregija Slavonija. Iza nje slijedi podregija Prigorje-Bilogora, Plešivica, Zagorje i Međimurje, a na začelju je podregija Moslavina. Najveća količina vrhunskog vina KZP-a je u podregiji Slavonija, a najmanja količina vrhunskog vina KZP-a proizvedena je u podregiji Prigorje i Bilogora, dok u podregiji Plešivica te godine vrhunsko vino KZP-a nije uopće proizvedeno.

Da bi se lakše prepoznale pojedine karakteristike vina proizvedenih od iste sorte koje se nalaze na tržištu, a označeni su s različitim ZOI, analizirani uzorci su podijeljeni u dvije kategorije, odnosno u kategoriju kvalitetnog vina KZP i vrhunskog vina KZP. Prema Zakonu o vinu (NN 39/19), kvalitetno vino s oznakom kontroliranog podrijetla je proizvedeno od jedne ili više sorti grožđa, koje potječu iz jedne vinogradarske podregije s izraženim kvalitetnim organoleptičkim svojstvima značajnim za ekološke uvjete i sorte određene vinogradarske podregije, vinogorja ili položaja čiju oznaku nosi te koje je odnjegovano u toj podregiji. Vrhunsko vino s oznakom kontroliranog podrijetla je vino proizvedeno od određene sorte ili grupe sorti grožđa koje potječu iz jednog ili više vinogradarskih položaja u okviru jednog vinogorja s osobito izraženim kvalitetnim, specifičnim organoleptičkim i kemijskim svojstvima značajnim za ekološke uvjete

položaja i sorte, odnosno grupe sorti grožđa. Takvo vino se mora odnjegovati i puniti u boce u vinogradarskom vinogorju, na određenom položaju. Rezultati prikazani u Tablici 4 odnose se na srednje vrijednosti svih uzoraka ovoga vina iz berbe 2018. godine na osnovi 20 mjernih parametara dok se Prilozi 1-20 odnose na srednje vrijednosti vrhunskog vina KZP i kvalitetnog vina KZP iz različitih ZOI po pojedinom mjernom parametru. Rezultati dobiveni PCA nalaze se na Slikama (12 i 13), odnosno u Tablici 11.

4.1. FIZIKALNO-KEMIJSKE KARAKTERISTIKE VINA SORTE GRAŠEVINA

U Tablici 4 prikazane su prosječne vrijednosti za 20 mjernih parametara dobivenih analizom 360 uzoraka bijelog vina sorte Graševina, proizvedenih u kontinentalnoj Hrvatskoj u šest različitih ZOI.

Tablica 4. Prikaz prosječnih vrijednosti fizikalno-kemijskih parametara vina sorte Graševina (n = 360) proizvedenih u Hrvatskoj u šest različitih područja ZOI.

Mjereni parametri	Svi uzorci (n=360)
Relativna gustoća (20/20 °C)	0,99 ± 0,003
Ukupni alkohol (% vol.)	12,58 ± 0,856
Stvarni alkohol (% vol.)	12,39 ± 0,748
Stvarni alkohol (g L ⁻¹)	97,80 ± 5,899
Ukupni ekstrakt suhi (g L ⁻¹)	23,87 ± 8,104
Reducirajući šećeri (g L ⁻¹)	3,34 ± 6,133
Ukupna kiselost (kao vinska) (g L ⁻¹)	5,54 ± 0,568
Hlapiva kiselost (kao octena) (g L ⁻¹)	0,38 ± 0,109
pH	3,37 ± 0,120
Pepeo (g L ⁻¹)	2,30 ± 0,466
Slobodni sumporni dioksid (mg L ⁻¹)	24,57 ± 9,475
Ukupni sumporni dioksid (mg L ⁻¹)	129,70 ± 35,200
Smjesa glukoze i fruktoze (g L ⁻¹)	2,41 ± 6,585
Limunska kiselina (g L ⁻¹)	0,28 ± 0,082
Vinska kiselina (g L ⁻¹)	2,24 ± 0,467
Jabučna kiselina (g L ⁻¹)	1,43 ± 0,662
Mliječna kiselina (g L ⁻¹)	0,50 ± 0,469
Glicerol (g L ⁻¹)	6,82 ± 1,323
Fruktoza (g L ⁻¹)	2,24 ± 5,136
Glukoza (g L ⁻¹)	0,69 ± 1,487

Relativna gustoća je omjer gustoće nekog određenog volumena vina ili mošta pri 20 °C prema gustoći istog volumena vode pri istoj temperaturi Pravilnik (NN 106/2004). Obično se kreće u rasponu 0,9850 - 0,9970, dok u vinima koja imaju visok udio šećera, može biti i veća od 1,0000 (Panda, 2011). Relativna gustoća analiziranih uzoraka vina iznosi prosječno 0,99 ± 0,003 (Tablica 4). Dobivena vrijednost relativne gustoće vina se podudara s referentnom vrijednosti, što potvrđuje veliku preciznost i točnost izvođenja analiza i dobivenih rezultata.

Alkoholna jakost (% vol.) je broj litara etanola sadržanog u 100 litara vina, a oba volumena mjere se pri temperaturi od 20 °C (Leder i sur., 2017). Prema Pravilniku o vinu (NN 96/96, 7/97, 117/97, 57/00) kvalitetno vino kao i vrhunsko vino s oznakom kontroliranog podrijetla na području Moslavine, Prigorje-Bilogora, Plešivice, Pokuplja i Zagorja-Međimurja (zona B) te Hrvatskog Podunavlja i Slavonije (zona C1) koje se nalazi u prometu ne smije sadržavati ukupnog alkohola više od 15,0 % vol., ako za pojedino vino nije drukčije određeno rješenjem za označavanje vina s oznakom kontroliranog podrijetla. Najmanji sadržaj stvarnog alkohola u vinu u prometu za kvalitetno vino s KZP je 9,5 % za zonu B, dok iznosi 10 % za zonu C1. Najmanji sadržaj stvarnog alkohola u vinu u prometu za vrhunsko vino s KZP je 10% u zoni B, odnosno 10,5 % u zoni C1. Iz rezultata dobivenih NIR-spektroskopijom vidljivo je da sva analizirana vina zadovoljavaju zakonske uvjete. Volumni udio ukupnog alkohola iznosi prosječno $12,58 \pm 0,856$ % vol., dok je udio stvarnog alkohola nešto manji i iznosi $12,39 \pm 0,748$ % vol. (Tablica 4).

Prema Pravilniku o proizvodnji vina (NN 2/2005) kvalitetna vina u prometu moraju sadržavati minimalno 17 g L^{-1} suhog ekstrakta bez šećera ukoliko se radi o bijelom vinu, dok vrhunska vina u prometu moraju sadržavati minimalnu količinu suhog ekstrakta bez šećera od 18 g L^{-1} za bijelo vino. Isparavanjem vode i svih hlapivih sastojaka vina ostaje ekstrakt, koji se sastoji od nehlapivih tvari vina: glicerola, šećera, nehlapivih kiselina, mineralnih tvari, dušikovih spojeva, taninskih spojeva i tvari boje (Zoričić, 2002). Dobiveni rezultat iznosi $23,87 \pm 8,104 \text{ g L}^{-1}$ za sva analizirana vina čime su zakonski uvjeti zadovoljeni. Valja uočiti veliku standardnu devijaciju u usporedbi s prosjekom jer se vina međusobno razlikuju što je prvi od pokazatelja različitih regionalnih karakteristika promatranog vina.

Nadalje, u istom Pravilniku (NN 2/2005) se navodi da prema sadržaju neprevrela šećera vino u prometu može biti: suho vino do 4 g L^{-1} , polusuho vino $4 - 12 \text{ g L}^{-1}$; poluslatko vino $12 - 50 \text{ g L}^{-1}$ i slatko vino više od 50 g L^{-1} . Iznimno, vino s visokom ukupnom kiselosti može imati i veću količinu neprevrela šećera od propisane. Pritom za suho vino ukupna kiselost može biti uvećana za 2 g L^{-1} , ali ne više od 9 g L^{-1} , dok za polusuho vino ukupna kiselost može biti uvećana za 10 g L^{-1} , ali ne više za 18 g L^{-1} . Rezultati pokazuju da prosječna vrijednost uzoraka za reducirajuće šećere iznosi $3,34 \pm 6,133 \text{ g L}^{-1}$ iz čega je vidljivo da je također prisutna velika standardna devijacija te da uzorci pripadaju u kategoriju suhih i polusuhih vina, ali i da se vina međusobno razlikuju po koncentraciji šećera.

Ukupna kiselost vina predstavlja sumu kiselina koje se neutraliziraju, sa standardnom otopinom lužine uz indikator brom-timol modro. Ukupna kiselost vina u prometu mora biti najmanje 4 g

L⁻¹, izraženo kao vinska kiselina, a najviše do 14 g L⁻¹ (Pravilnik o proizvodnji vina, NN 2/2005). Ovisno o stupnju disocijacije, ukupnoj kiselosti doprinose organske i anorganske kiseline. Od organskih kiselina, najviše su zastupljene vinska, limunska, jabučna i mliječna kiselina, a od anorganskih fosfatna, sulfatna i ugljična kiselina (Ribéreau-Gayon i sur., 2006). Rezultati pokazuju da ukupna kiselost, izražena kao vinska kiselina, iznosi $5,54 \pm 0,568$ g L⁻¹ (Tablica 4), što odgovara zahtjevima Pravilnika.

Hlapive kiseline se uglavnom sastoje od octene kiseline, te mogu biti prisutne, ali ne u prevelikoj koncentraciji jer su pokazatelji bolesti vina. Ako sadržaj tih kiselina prijeđe izvjesnu granicu, onda se vino smatra bolesnim, te često ima i karakterističan izgled, tj. mutno je, ima miris po octu ili okus po kiselom zelju itd. (Bižić, 2014). U zdravom grožđu sadržaj hlapivih kiselina je zanemariv (70–250 mg L⁻¹), a u vinima nenarušene kvalitete se uglavnom kreće između 0,4 i 0,8 g L⁻¹ (Leder i sur., 2017). Prethodno spomenutim Pravilnikom definirano je da hlapiva kiselost, izražena kao octena kiselina, u proizvodima u prometu ne smije biti veća od 1,0 g L⁻¹ u ružičastim i bijelim vinima. Stoga je dobiveni rezultat odgovarajući i iznosi nešto manje od 0,4 g L⁻¹ (Tablica 4). Ovakva vrlo niska koncentracija je poželjna.

Vino mora sadržavati najmanje 5 g L⁻¹ glicerola Pravilnik (NN 96/96, 7/97, 117/97, 57/00). Glicerol je daleko najistaknutiji vinski poliol koji je u suhom vinu najčešće najzastupljeniji spoj, nakon vode i etanola, a u bijelom vinu ga se nalazi oko 7 g L⁻¹ (Jackson, 2014). Promatrajući međusoban odnos glicerola i etanola, nastalih tijekom alkoholne fermentacije, zabilježeno je da masa glicerola obično iznosi između jedne desetine i jedne petnaestine mase proizvedenog etanola. Dakle, vina najčešće sadrže 10 - 15 puta više etanola nego glicerola (Petračić-Tominac i sur., 2016). Volumni udjeli etanola su na temelju gustoće etanola preračunati u masene koncentracije etanola (g L⁻¹), koje su potom podijeljene odgovarajućim vrijednostima glicerola (Reed i Nagodawithana, 1991). Iz dobivenih rezultata (Tablica 4) vidljivo je da koncentracija stvarnog alkohola iznosi $97,80 \pm 5,899$ g L⁻¹, a koncentracija glicerola $6,82 \pm 1,323$ g L⁻¹ te je prosječna vrijednost etanola 14,34 puta veća u odnosu na glicerol, što je u skladu s navedenim literaturnim podacima.

Zbog svog sastava mošt i vino su acidobazne otopine pufera, tj. promjena njihovog kemijskog sastava izaziva samo ograničenu promjenu pH. To objašnjava relativno male varijacije pH mošta tijekom alkoholne i malolaktičke fermentacije. Raspon pH između 3,1 i 3,4 odgovara većini bijelih vina (Ribéreau-Gayon i sur., 2006; Jackson, 2014). Prosječna pH svih analiziranih vina sorte Graševina iz 2018. godine iznosi oko 3,4 (Tablica 4), što je u skladu s navedenim rasponom.

Prema Pravilniku (NN 96/96, 7/97, 117/97, 57/00) vino u prometu mora sadržavati slijedeću najmanju količinu pepela izraženog u gramima na litru i to: kvalitetno vino s oznakom kontroliranog podrijetla za bijelo vino $1,4 \text{ g L}^{-1}$, a vrhunsko vino s oznakom kontroliranog podrijetla $1,6 \text{ g L}^{-1}$. Dobiveni rezultat iznosi $2,30 \pm 0,466 \text{ g L}^{-1}$ što je u skladu s navedenim Pravilnikom.

Kad govorimo o sumpornom dioksidu, u Pravilniku (NN 96/96, 7/97, 117/97, 57/00) bijelo vino s manje od 5 g L^{-1} neprevrelog šećera može sadržavati do 210 mg L^{-1} ukupnog SO_2 , od čega do 40 mg L^{-1} slobodnog SO_2 , a bijela vina s 5 ili više g L^{-1} neprevrelog šećera mogu sadržavati do 260 mg L^{-1} ukupnog SO_2 , od čega do 50 mg L^{-1} slobodnog SO_2 . Prosječna vrijednost za sva analizirana vina sorte Graševina iznosi oko 25 mg L^{-1} slobodnog SO_2 odnosno oko 130 mg L^{-1} ukupnog SO_2 (Tablica 4).

Glavne organske kiseline grožđa, mošta i vina su vinska, jabučna, limunska i mliječna kiselina te one predstavljaju skoro 90% ukupne sume svih kiselina, tzv. nehlapive kiseline koje su uobičajeni sastojci zdravog vina, ako se nalaze u određenim granicama. Njihova koncentracija se mijenja tijekom razvoja bobice i dozrijevanja grožđa, a osim o kultivaru, uvelike ovisi o položaju vinograda, stupnju zrelosti grožđa, vremenskim uvjetima tijekom dozrijevanja grožđa (godištu) te protjecanju alkoholne fermentacije. Tijekom dozrijevanja grožđa koncentracija jabučne kiseline se smanjuje, posebice tijekom toploga perioda. Suprotno tome, u područjima s hladnijom klimom koncentracija jabučne kiseline može ostati visoka, što će najčešće rezultirati vinima kiselo-gorkoga okusa (Jeromel i sur., 2007). Jabučna kiselina iz mošta prelazi u vino. U nezrelom grožđu koje još nije promijenilo boju, može biti do 25 g L^{-1} jabučne kiseline, a 14 dana nakon prvih znakova promjene boje grožđa koncentracija jabučne kiseline je upola manja (Ribéreau-Gayon i sur., 2006). Ovisno o podneblju, u vinu je obično prisutno $2 - 5 \text{ g L}^{-1}$ jabučne kiseline koja se može razgraditi tijekom jabučno-mliječne fermentacije na mliječnu kiselinu (Swiegers i sur., 2005). Prosječna koncentracija jabučne kiseline iznosi $1,43 \pm 0,662 \text{ g L}^{-1}$, dok je za mliječnu kiselinu $0,50 \pm 0,469 \text{ g L}^{-1}$. Prema Pravilniku (NN 96/96, 7/97, 117/97, 57/00) limunska kiselina u gotovom vinu ne smije prelaziti 1 g L^{-1} te prirodno prisutne vinske kiseline smije biti najviše do $2,5 \text{ g L}^{-1}$, a u analiziranim uzorcima limunska kiselina iznosi $0,28 \pm 0,082 \text{ g L}^{-1}$, odnosno vinska kiselina $2,24 \pm 0,467 \text{ g L}^{-1}$ te su rezultati u skladu s Pravilnikom. Najviše mliječne kiseline nastaje procesom malolaktičke fermentacije, a jako mala količina mliječne kiseline se dobije tijekom alkoholne fermentacije (Jackson, 2014). FTIR-spektroskopijom dokazano je prisustvo jabučne, vinske, mliječne i limunske kiseline u svim analiziranim uzorcima sorte Graševina.

Među šećerima u grožđu su najviše zastupljene heksoze, glukoza i fruktoza. U grožđu dolazi do enzimskog prijelaza glukoze u fruktozu. Omjer glukoze i fruktoze se brzo mijenja tijekom fermentacije jer su kvasci većinom glukofilni pa potroše prvo glukozu, a ako dođe do zastoja fermentacije, onda ostane više nefermentirane fruktoze u rezidualnom šećeru uslijed visokih temperatura fermentacije. Zaostali sadržaj šećera u suhom vinu najčešće je manji od 1,5 g L⁻¹. Vidljivo je iz dobivenih rezultata (tablica 4) da je koncentracija glukoze $0,69 \pm 1,487$ g L⁻¹, a fruktoze $2,24 \pm 5,136$ g L⁻¹. Pri toj koncentraciji većina ljudi ne može detektirati slatkoću (Jackson, 2014). Svi navedeni rezultati pokazuju da su mjereni parametri u skladu sa zakonskom regulativom koja je navedena u gore spomenutim Pravilnicima.

4.2. FIZIKALNO–KEMIJSKE KARAKTERISTIKE VINA SORTE GRAŠEVINA PODIJELJENE PO PODREGIJAMA

U Tablicama (5 – 10) su prikazane dobivene vrijednosti vina podijeljene u 3 kategorije, odnosno kategoriju kvalitetnog vina KZP i vrhunskog vina KZP te ukupni broj uzoraka u pojedinoj podregiji sa ZOI.

Tablica 5. Rezultati kemijske analize uzoraka vina sorte Graševina za ZOI Hrvatsko Podunavlje.

Mjerni parametri	HRVATSKO PODUNAVLJE		
	Kvalitetno vino KZP (N=92)	Vrhunsko vino KZP (N=25)	Svi KZP (N=117)
Relativna gustoća (20/20 °C)	0,99 ± 0,001 ^a	0,99 ± 0,007 ^a	0,99 ± 0,003
Ukupni alkohol (% vol.)	12,39 ± 0,671 ^a	13,75 ± 0,898 ^b	12,68 ± 0,913
Stvarni alkohol (% vol.)	12,25 ± 0,630 ^a	13,32 ± 0,716 ^b	12,47 ± 0,783
Stvarni alkohol (g L ⁻¹)	96,67 ± 4,974 ^a	105,13 ± 5,663 ^b	98,47 ± 6,179
Ukupni ekstrakt suhi (g L ⁻¹)	23,82 ± 3,454 ^a	29,56 ± 17,108 ^b	25,04 ± 8,690
Reducirajući šećeri (g L ⁻¹)	2,42 ± 1,787 ^a	7,28 ± 14,552 ^b	3,46 ± 7,094
Ukupna kiselost (kao vinska) (g L ⁻¹)	5,68 ± 0,585 ^a	5,39 ± 0,384 ^b	5,62 ± 0,559
Hlapiva kiselost (kao octena) (g L ⁻¹)	0,39 ± 0,111 ^a	0,42 ± 0,119 ^a	0,40 ± 0,113
pH	3,36 ± 0,111 ^a	3,44 ± 0,142 ^b	3,38 ± 0,122
Pepeo (g L ⁻¹)	2,24 ± 0,394 ^a	2,41 ± 0,526 ^a	2,28 ± 0,429
Slobodni sumporni dioksid (mg L ⁻¹)	23,67 ± 8,889 ^a	26,96 ± 12,992 ^a	24,38 ± 9,944
Ukupni sumporni dioksid (mg L ⁻¹)	122,72 ± 29,651 ^a	134,52 ± 45,759 ^a	125,24 ± 33,861
Smjesa glukoze i fruktoze (g L ⁻¹)	1,27 ± 1,760 ^a	6,28 ± 15,593 ^b	2,34 ± 7,549
Limunska kiselina (g L ⁻¹)	0,25 ± 0,074 ^a	0,26 ± 0,073 ^a	0,25 ± 0,074
Vinska kiselina (g L ⁻¹)	2,55 ± 0,455 ^a	2,27 ± 0,374 ^a	2,49 ± 0,453
Jabučna kiselina (g L ⁻¹)	1,22 ± 0,606 ^a	1,02 ± 0,435 ^a	1,18 ± 0,578
Mliječna kiselina (g L ⁻¹)	0,65 ± 0,553 ^a	0,61 ± 0,503 ^a	0,64 ± 0,541
Glicerol (g L ⁻¹)	7,03 ± 1,203 ^a	7,77 ± 1,172 ^b	7,18 ± 1,230
Fruktoza (g L ⁻¹)	1,29 ± 1,349 ^a	4,80 ± 12,011 ^b	2,04 ± 5,776
Glukoza (g L ⁻¹)	0,60 ± 0,509 ^a	1,62 ± 3,712 ^b	0,82 ± 1,797

Različita slova a i b označavaju statistički značajne razlike prema ANOVA i Tukey HSD testu, gdje je $p < 0,05$.

Iz dobivenih rezultata za podregiju Hrvatsko Podunavlje (Tablica 5) vidljivo je da postoji statistički značajna razlika između vrhunskog vina KZP i kvalitetnog vina KZP. Statistički značajne razlike uočljive su za ukupni i stvarni alkohol, ukupni suhi ekstrakt, reducirajuće šećere, ukupnu kiselost, pH, smjesu glukoze i fruktoze, pojedinačno određenu fruktozu i glukozu te glicerol. Svi navedeni parametri imali su veću vrijednost u vrhunskim vinima KZP nego u kvalitetnim vinima KZP.

Tablica 6. Rezultati kemijske analize uzoraka vina sorte Graševina za ZOI Plešivica.

Mjerni parametri	PLEŠIVICA		
	Kvalitetno vino KZP (N= 29)	Vrhunsko vino KZP (N=1)	Svi KZP (N=30)
Relativna gustoća (20/20 °C)	0,99 ± 0,001	0,99	0,99 ± 0,012
Ukupni alkohol (% vol.)	12,24 ± 0,536	13,36	12,28 ± 0,565
Stvarni alkohol (% vol.)	12,09 ± 0,526	13,26	12,13 ± 0,559
Stvarni alkohol (g L ⁻¹)	95,48 ± 4,145	104,73	95,79 ± 4,409
Ukupni ekstrakt suhi (g L ⁻¹)	21,31 ± 2,437	21,40	21,31 ± 2,394
Reducirajući šećeri (g L ⁻¹)	2,50 ± 1,903	1,70	2,48 ± 1,875
Ukupna kiselost (kao vinska) (g L ⁻¹)	5,58 ± 0,572	5,60	5,58 ± 0,562
Hlapiva kiselost (kao octena) (g L ⁻¹)	0,36 ± 0,094	0,50	0,37 ± 0,096
pH	3,29 ± 0,084	3,31	3,29 ± 0,083
Pepeo (g L ⁻¹)	1,98 ± 0,249	2,30	1,99 ± 0,252
Slobodni sumporni dioksid (mg L ⁻¹)	26,07 ± 11,889	14,00	25,67 ± 11,888
Ukupni sumporni dioksid (mg L ⁻¹)	133,86 ± 27,129	178,00	135,33 ± 27,849
Smjesa glukoze i fruktoze (g L ⁻¹)	1,66 ± 1,913	0,88	1,64 ± 1,885
Limunska kiselina (g L ⁻¹)	0,27 ± 0,056	0,34	0,28 ± 0,056
Vinska kiselina (g L ⁻¹)	2,36 ± 0,407	2,11	2,36 ± 0,402
Jabučna kiselina (g L ⁻¹)	1,44 ± 0,592	1,38	1,44 ± 0,582
Mliječna kiselina (g L ⁻¹)	0,42 ± 0,325	0,16	0,42 ± 0,323
Glicerol (g L ⁻¹)	6,30 ± 0,776	7,25	6,34 ± 0,782
Fruktoza (g L ⁻¹)	1,87 ± 1,821	0,63	1,83 ± 1,803
Glukoza (g L ⁻¹)	0,43 ± 0,451	0,12	0,42 ± 0,447

Za promatranu godinu berbe ZOI Plešivica bilo je samo jedno vino (n=1) pa se stoga nije moglo izračunati standardnu devijaciju.

Rezultati u podregiji Plešivica (Tablica 6) pokazuju da je u kvalitetnim vinima KZP zabilježena veća prosječna koncentracija reducirajućih šećera, slobodnog sumpornog dioksida, smjese

glukoze i fruktoze kao i pojedinačne koncentracije fruktoze i glukoze te vinske kiseline, dok je u uzorku vrhunskog vina KZP bila veća alkoholna jakost te koncentracije ukupnog sumpornog dioksida i glicerola.

Tablica 7. Rezultati kemijske analize uzoraka vina sorte Graševina za ZOI Moslavina.

Mjerni parametri	MOSLAVINA
	Kvalitetno vino KZP (N=10)
Relativna gustoća (20/20 °C)	0,99 ± 0,002
Ukupni alkohol (% vol.)	12,55 ± 0,401
Stvarni alkohol (% vol.)	12,39 ± 0,448
Stvarni alkohol (g L ⁻¹)	97,78 ± 3,540
Ukupni ekstrakt suhi (g L ⁻¹)	23,05 ± 3,268
Reducirajući šećeri (g L ⁻¹)	2,76 ± 2,208
Ukupna kiselost (kao vinska) (g L ⁻¹)	5,86 ± 0,550
Hlapiva kiselost (kao octena) (g L ⁻¹)	0,38 ± 0,114
pH	3,34 ± 0,073
Pepeo (g L ⁻¹)	2,40 ± 0,450
Slobodni sumporni dioksid (mg L ⁻¹)	29,90 ± 8,888
Ukupni sumporni dioksid (mg L ⁻¹)	143,00 ± 37,535
Smjesa glukoze i fruktoze (g L ⁻¹)	1,70 ± 2,336
Limunska kiselina (g L ⁻¹)	0,33 ± 0,079
Vinska kiselina (g L ⁻¹)	2,14 ± 0,414
Jabučna kiselina (g L ⁻¹)	2,08 ± 0,570
Mliječna kiselina (g L ⁻¹)	0,26 ± 0,119
Glicerol (g L ⁻¹)	6,46 ± 0,753
Fruktoza (g L ⁻¹)	1,46 ± 1,626
Glukoza (g L ⁻¹)	0,97 ± 1,144

Tijekom promatrane godine berbe (2018.) nije stavljeno na tržište niti jedno vrhunsko vino KZP Graševina ZOI Moslavina. Svi dobiveni rezultati analize moslavačkih kvalitetnih vina (Tablica 7) bili su u skladu sa zakonskom regulativom.

Tablica 8. Rezultati kemijske analize uzoraka vina sorte Graševina za ZOI Prigorje – Bilogora.

Mjerni parametri	PRIGORJE-BILOGORA		
	Kvalitetno vino KZP (N=16)	Vrhunsko vino KZP (N=2)	Svi KZP (N=18)
Relativna gustoća (20/20 °C)	0,99 ± 0,001 ^a	0,99 ± 0,001 ^a	0,99 ± 0,001
Ukupni alkohol (% vol.)	11,83 ± 0,405 ^a	12,34 ± 0,092 ^a	11,89 ± 0,414
Stvarni alkohol (% vol.)	11,75 ± 0,401 ^a	12,11 ± 0,297 ^a	11,79 ± 0,401
Stvarni alkohol (g L ⁻¹)	92,74 ± 3,161 ^a	95,63 ± 2,362 ^a	93,06 ± 3,165
Ukupni ekstrakt suhi (g L ⁻¹)	20,55 ± 1,442 ^a	23,45 ± 2,333 ^b	20,88 ± 1,743
Reducirajući šećeri (g L ⁻¹)	1,36 ± 1,084 ^a	3,75 ± 3,465 ^b	1,63 ± 1,530
Ukupna kiselost (kao vinska) (g L ⁻¹)	5,34 ± 0,693 ^a	4,95 ± 0,212 ^a	5,30 ± 0,665
Hlapiva kiselost (kao octena) (g L ⁻¹)	0,29 ± 0,085 ^a	0,35 ± 0,071 ^a	0,30 ± 0,084
pH	3,37 ± 0,099 ^a	3,44 ± 0,028 ^a	3,38 ± 0,096
Pepeo (g L ⁻¹)	2,31 ± 0,467 ^a	2,20 ± 0,283 ^a	2,30 ± 0,446
Slobodni sumporni dioksid (mg L ⁻¹)	25,44 ± 9,933 ^a	37,00 ± 22,630 ^a	26,72 ± 11,452
Ukupni sumporni dioksid (mg L ⁻¹)	133,94 ± 43,381 ^a	182,5 ± 0,707 ^a	139,33 ± 43,671
Smjesa glukoze i fruktoze (g L ⁻¹)	0,66 ± 0,872 ^a	2,90 ± 3,543 ^b	0,91 ± 1,390
Limunska kiselina (g L ⁻¹)	0,31 ± 0,093 ^a	0,30 ± 0,008 ^a	0,30 ± 0,088
Vinska kiselina (g L ⁻¹)	2,00 ± 0,415 ^a	2,19 ± 0,064 ^a	2,02 ± 0,394
Jabučna kiselina (g L ⁻¹)	1,75 ± 1,060 ^a	1,52 ± 0,290 ^a	1,72 ± 1,001
Mliječna kiselina (g L ⁻¹)	0,53 ± 0,611 ^a	0,27 ± 0,170 ^a	0,50 ± 0,581
Glicerol (g L ⁻¹)	5,98 ± 0,892 ^a	5,65 ± 1,089 ^a	5,94 ± 0,885
Fruktoza (g L ⁻¹)	0,80 ± 0,898 ^a	2,83 ± 3,154 ^b	1,02 ± 1,315
Glukoza (g L ⁻¹)	0,29 ± 0,249 ^a	0,43 ± 0,460 ^a	0,31 ± 0,264

Različita slova a i b označavaju statistički značajne razlike prema ANOVA i Tukey HSD testu, gdje je $p < 0,05$.

U podregiji Prigorje-Bilogora (Tablica 8) rezultati pokazuju da postoji statistički značajna razlika između promatranih kategorija vina. Veća je koncentracija ukupnog suhog ekstrakta i reducirajućih šećera u vrhunskom vinu KZP u odnosu na kvalitetno vino KZP. Također, koncentracija fruktoze i smjesa glukoze i fruktoze je veća u vrhunskom vinu KZP u odnosu na kvalitetno vino KZP.

Tablica 9. Rezultati kemijske analize uzoraka vina sorte Graševina za ZOI Slavonija.

Mjerni parametri	SLAVONIJA		
	Kvalitetno vino KZP (N=130)	Vrhunsko vino KZP (N=15)	Svi KZP (N=145)
Relativna gustoća (20/20 °C)	0,99 ± 0,002 ^a	0,99 ± 0,010 ^a	0,99 ± 0,003
Ukupni alkohol (% vol.)	12,60 ± 0,657 ^a	14,20 ± 1,178 ^b	12,77 ± 0,872
Stvarni alkohol (% vol.)	12,45 ± 0,652 ^a	13,42 ± 0,726 ^b	12,55 ± 0,721
Stvarni alkohol (g L ⁻¹)	98,28 ± 5,144 ^a	105,91 ± 5,714 ^b	99,07 ± 5,685
Ukupni ekstrakt suhi (g L ⁻¹)	22,52 ± 3,476 ^a	38,63 ± 24,563 ^b	24,18 ± 9,681
Reducirajući šećeri (g L ⁻¹)	2,63 ± 2,397 ^a	13,21 ± 18,636 ^b	3,72 ± 7,026
Ukupna kiselost (kao vinska) (g L ⁻¹)	5,42 ± 0,486 ^a	5,38 ± 0,848 ^a	5,42 ± 0,531
Hlapiva kiselost (kao octena) (g L ⁻¹)	0,38 ± 0,098 ^a	0,49 ± 0,136 ^b	0,39 ± 0,107
pH	3,37 ± 0,100 ^a	3,54 ± 0,155 ^b	3,39 ± 0,118
Pepeo (g L ⁻¹)	2,36 ± 0,426 ^a	2,98 ± 0,740 ^b	2,43 ± 0,502
Slobodni sumporni dioksid (mg L ⁻¹)	23,34 ± 8,496 ^a	23,73 ± 7,005 ^a	23,38 ± 8,333
Ukupni sumporni dioksid (mg L ⁻¹)	126,72 ± 36,524 ^a	141,07 ± 31,411 ^a	128,20 ± 36,196
Smjesa glukoze i fruktoze (g L ⁻¹)	1,70 ± 2,482 ^a	13,11 ± 20,380 ^b	2,88 ± 7,619
Limunska kiselina (g L ⁻¹)	0,29 ± 0,080 ^a	0,31 ± 0,144 ^a	0,29 ± 0,088
Vinska kiselina (g L ⁻¹)	2,07 ± 0,410 ^a	1,87 ± 0,451 ^a	2,05 ± 0,417
Jabučna kiselina (g L ⁻¹)	1,48 ± 0,606 ^a	1,34 ± 0,869 ^a	1,47 ± 0,636
Mliječna kiselina (g L ⁻¹)	0,46 ± 0,405 ^a	0,63 ± 0,547 ^a	0,48 ± 0,423
Glicerol (g L ⁻¹)	6,74 ± 0,970 ^a	8,36 ± 3,246 ^b	6,90 ± 1,454
Fruktoza (g L ⁻¹)	1,77 ± 2,219 ^a	10,75 ± 15,577 ^b	2,70 ± 5,96
Glukoza (g L ⁻¹)	0,46 ± 0,444 ^a	2,70 ± 4,522 ^b	0,69 ± 1,623

Različita slova a i b označavaju statistički značajne razlike prema ANOVA i Tukey HSD testu, gdje je $p < 0,05$.

U podregiji Slavonija (Tablica 9) vidljivo je da postoji statistički značajna razlika između vrhunskog vina KZP i kvalitetnog vina KZP. Vrhunsko vino KZP u ovoj podregiji se odlikuje većim volumnim udjelom ukupnog i stvarnog alkohola, kao i većim koncentracijama ukupnog suhog ekstrakta, reducirajućih šećera, hlapive kiselosti, pH, pepela, smjese glukoze i fruktoze, pojedinačno mjerene glukoze i fruktoze i glicerola u odnosu na kvalitetno vino KZP.

Tablica 10. Rezultati kemijske analize uzoraka vina sorte Graševina za ZOI Zagorje-Međimurje.

Mjerni parametri	ZAGORJE- MEDIMURJE		
	Kvalitetno vino KZP (N=38)	Vrhunsko vino KZP (N=2)	Svi KZP (N=40)
Relativna gustoća (20/20 °C)	0,99 ± 0,001 ^a	0,99 ± 0,001 ^a	0,99 ± 0,002
Ukupni alkohol (% vol.)	12,21 ± 0,719 ^a	12,05 ± 0,757 ^a	12,20 ± 0,712
Stvarni alkohol (% vol.)	12,03 ± 0,767 ^a	11,79 ± 0,912 ^a	12,02 ± 0,763
Stvarni alkohol (g L ⁻¹)	94,99 ± 6,049 ^a	93,00 ± 7,212 ^a	94,89 ± 6,019
Ukupni ekstrakt suhi (g L ⁻¹)	22,67 ± 3,339 ^a	24,10 ± 0,884 ^a	22,74 ± 3,271
Reducirajući šećeri (g L ⁻¹)	3,07 ± 2,630 ^a	4,40 ± 2,687 ^a	3,14 ± 2,611
Ukupna kiselost (kao vinska) (g L ⁻¹)	5,76 ± 0,579 ^a	5,40 ± 0,707 ^a	5,74 ± 0,581
Hlapiva kiselost (kao octena) (g L ⁻¹)	0,37 ± 0,109 ^a	0,35 ± 0,071 ^a	0,37 ± 0,107
pH	3,30 ± 0,123 ^a	3,39 ± 0,014 ^a	3,30 ± 0,122
Pepeo (g L ⁻¹)	2,15 ± 0,439 ^a	2,30 ± 0,283 ^a	2,16 ± 0,431
Slobodni sumporni dioksid (mg L ⁻¹)	25,68 ± 8,536 ^a	38,00 ± 1,414 ^a	26,30 ± 8,751
Ukupni sumporni dioksid (mg L ⁻¹)	135,34 ± 34,802 ^a	155,00 ± 35,355 ^a	136,33 ± 34,641
Smjesa glukoze i fruktoze (g L ⁻¹)	2,27 ± 2,839 ^a	3,71 ± 3,203 ^a	2,34 ± 2,830
Limunska kiselina (g L ⁻¹)	0,30 ± 0,074 ^a	0,35 ± 0,024 ^a	0,30 ± 0,073
Vinska kiselina (g L ⁻¹)	2,24 ± 0,405 ^a	1,81 ± 0,354 ^a	2,22 ± 0,410
Jabučna kiselina (g L ⁻¹)	1,71 ± 0,597 ^a	2,15 ± 0,113 ^a	1,73 ± 0,590
Mliječna kiselina (g L ⁻¹)	0,31 ± 0,382 ^a	0,12 ± 0,007 ^a	0,30 ± 0,374
Glicerol (g L ⁻¹)	6,39 ± 1,273 ^a	5,47 ± 1,690 ^a	6,34 ± 1,286
Fruktoza (g L ⁻¹)	2,13 ± 2,602 ^a	3,71 ± 2,956 ^a	2,21 ± 2,602
Glukoza (g L ⁻¹)	0,60 ± 0,581 ^a	0,58 ± 0,148 ^a	0,60 ± 0,566

Različita slova a i b označavaju statistički značajne razlike prema ANOVA i Tukey HSD testu, gdje je $p < 0,05$.

Zagorje-Međimurje je jedina podregija u kojoj niti za jedan analizirani parametar nije uočena statistički značajna razlika između kategorija vrhunskog vina KZP i kvalitetnog vina KZP (Tablica 10).

Promatrajući kategoriju kvalitetnog vina KZP između 6 prethodno spomenutih ZOI (Hrvatsko Podunavlje, Plešivica, Moslavina, Prigorje-Bilogora, Slavonija, Zagorje-Međimurje) iz dobivenih rezultata može se uočiti slijedeće:

1. Relativna gustoća je jednaka među svim analiziranim uzorcima kvalitetnih vina sorte Graševina, bez obzira na podregiju (Prilog 1).
2. Ukupni i stvarni alkohol je najveći u podregiji Slavonija, a potom su slijedile u podajućem nizu Moslavina, Hrvatsko Podunavlje, Plešivica, Zagorje-Međimurje te na začelju, s najmanjim udjelom alkohola, podregija Prigorje-Bilogora (Prilozi 2 - 4). Isti trend primijećen je za koncentraciju glicerola prisutnog u vinu (Prilog 5) što je i bilo za očekivati jer glicerol nastaje alkoholnom fermentacijom i koncentracija glicerola je u korelaciji s koncentracijom alkohola (Zoričić, 2003; Petravić-Tominac i sur., 2016).
3. Ukupni suhi ekstrakt je najveći u podregiji Hrvatsko Podunavlje, a potom su slijedile podregije Moslavina, Zagorje-Međimurje, Slavonija, Plešivica te Prigorje-Bilogora (Prilog 6).
4. Koncentracija reducirajućih šećera među promatranim uzorcima se međusobno značajno razlikuje te najveću koncentraciju istih sadrže uzorci iz podregije Zagorje-Međimurje, a slijede ih u padajućem nizu podregije Moslavina, Slavonija, Plešivica, Hrvatsko Podunavlje te vina iz podregije Prigorje-Bilogora s najmanjom koncentracijom (Prilog 7).
5. Ukupna kiselost među promatranim uzorcima je gotovo jednaka, a nešto veće vrijednosti uočene su u podregiji Zagorje-Međimurje (Prilog 8).
6. Hlapiva kiselost je nešto veća u podregijama Slavonije, Hrvatskog Podunavlja te Prigorja-Bilogore, a manja u podregijama Zagorje-Međimurje i Plešivica. Isti trend primijećen je za pH promatranih uzoraka (Prilozi 9 i 10).
7. Koncentracija pepela je najveća u podregiji Moslavina, a najmanja u podregiji Plešivica (Prilog 11).
8. Koncentracija ukupnog i slobodnog sumpornog dioksida je najveća u podregiji Moslavina, a najmanja u podregiji Hrvatsko Podunavlje (Prilog 12 i 13).
9. Smjesa glukoze i fruktoze, kao i koncentracije glukoze i fruktoze je prisutne su najvećoj koncentraciji u podregiji Slavonija, a najmanjoj u podregiji Prigorje-Bilogora (Prilozi 14, 15 i 16).

10. Koncentracija limunske kiseline je najveća u podregiji Moslavina, a najmanja u podregiji Hrvatsko Podunavlje, dok je za mliječnu kiselinu dobiven obrnuti trend (Prilozi 17 i 20).
11. Najveća koncentracija vinske kiseline je prisutna u podregiji Hrvatsko Podunavlje, a najmanja u podregiji Prigorje-Bilogora (Prilog 18).
12. Jabučna kiselina je prisutna u najvećoj koncentraciji u podregiji Moslavina, a u najmanjoj u podregiji Hrvatsko Podunavlje (Prilog 19).

Promatrajući kategoriju vrhunskog vina KZP između 5 prethodno spomenutih ZOI (Hrvatsko Podunavlje, Plešivica, Prigorje-Bilogora, Slavonija, Zagorje-Međimurje) iz dobivenih rezultata može se uočiti slijedeće:

1. Relativna gustoća je jednaka među promatranim uzorcima (Prilog 1).
2. Ukupni i stvarni alkohol pokazali su najveće vrijednosti u podregiji Slavonija, a potom su slijedile u padajućem nizu podregije Hrvatsko Podunavlje, Plešivica, Prigorje-Bilogora te Zagorje-Međimurje. Koncentracija glicerola u ovoj kategoriji je imala isti trend kao i alkoholna jakost. Nadalje, valja uočiti da je alkoholna jakost vrhunskog vina KZP veća u odnosu na kvalitetno vino KZP, uz iznimku u podregiji Zagorje-Međimurje te da vina iz podregije Slavonija imaju najveću alkoholnu jakost (Prilozi 2-5).
3. Ukupni suhi ekstrakt je prisutan u najvećoj koncentraciji u podregiji Slavonija, a potom su slijedile podregije Hrvatsko Podunavlje, Zagorje-Međimurje, Prigorje-Bilogora i na posljednjem mjestu Plešivica. Vrhunsko vino iz podregije Slavonija sadrži najveću koncentraciju ukupnog suhog ekstrakta u odnosu na sve promatrane uzorke (Prilog 6).
4. Najveću koncentraciju reducirajućih šećera sadrži vino iz podregije Slavonija, dok je najmanja koncentracija prisutna u podregiji Plešivica (Prilog 7).
5. Ukupna kiselost je podjednaka u svim uzorcima uz nešto nižu koncentraciju u podregiji Prigorje-Bilogora (Prilog 8).
6. Hlapiva kiselost je nešto veća u podregijama Slavonije, Hrvatskog Podunavlja te Prigorja-Bilogore, a manja u podregijama Zagorje-Međimurje i Plešivica. Isti trend primijećen je za pH promatranih uzoraka (Prilog 9 i 10).
7. Koncentracija pepela je najveća je u podregiji Slavonija, a najmanja u podregiji Prigorje-Bilogora. Među svim promatranim uzorcima vina iz podregije Slavonija imaju najveću koncentraciju pepela (Prilog 11).

8. Koncentracija slobodnog sumpornog dioksida je najveća u podregiji Zagorje-Međimurje, a najmanja u podregiji Plešivica uz značajnu međusobnu razliku (Prilog 12).
9. Koncentracija ukupnog sumpornog dioksida je najveća u podregiji Prigorje-Bilogora, a najmanja u podregiji Hrvatsko Podunavlje (Prilog 13).
10. Koncentracija smjese glukoze i fruktoze izrazito je velika u podregiji Slavonija u odnosu na druge podregije, a najmanju koncentraciju ima podregija Plešivica. Isto je primijećeno za pojedinačne koncentracije fruktoze i glukoze (Prilozi 14-16).
11. Koncentracija limunske kiseline najveća je u podregiji Zagorje-Međimurje, a najmanja u podregiji Hrvatsko Podunavlje (Prilog 17).
12. Mliječna kiselina ima najveću koncentraciju u podregiji Slavonija, a najmanju u podregiji Zagorje-Međimurje (Prilog 20).
13. Koncentracija vinske kiseline je najveća u podregiji Hrvatsko-Podunavlje, a najmanja u podregiji Zagorje-Međimurje (Prilog 18).
14. Jabučna kiselina ima najveću koncentraciju u podregiji Zagorje-Međimurje, a najmanju u podregiji Hrvatsko Podunavlje (Prilog 19).

4.3. PCA ZA UTVRĐIVANJE SLIČNOSTI (GRUPIRANJE) VINA SORTE GRAŠEVINA OBZIROM NA ZOI

PCA je primijenjena kako bi se utvrdila mogućnost klasifikacije vina sorte Graševina s obzirom na ZOI.

Tablica 11. Ukupna varijabilnost prvih 6 faktora PC1-PC6 (%) sa svojstvenim vrijednostima (*Eigenvalue*) korelacijskog matriksa > 1 i odgovarajućim svojstvenim vektorima (*Eigenvektor*) korelacijskog matriksa za sve uzorke ($n = 360$) dobivenih analizom glavnih komponentata (PCA).

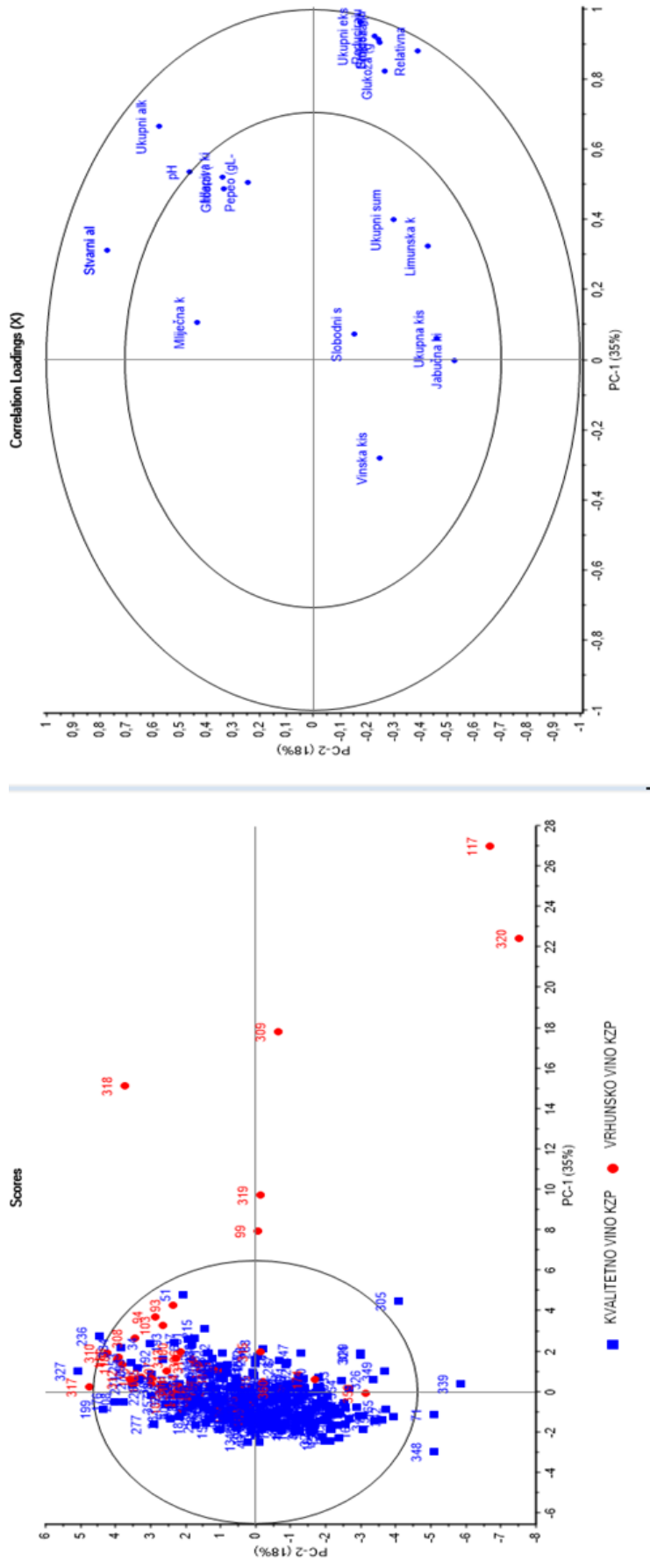
Mjerni parametri	PC-1 34,85%	PC2 17,57%	PC3 13,73%	PC4 9,53%	PC5 5,42%	PC6 3,57%
Relativna gustoća (20/20 °C)	0,3338	-0,2080	0,1105	-0,0048	0,1224	-0,0595
Ukupni alkohol (% vol.)	0,2526	0,3091	-0,1510	0,2198	-0,2034	0,0189
Stvarni alkohol (% vol.)	0,1187	0,4131	-0,2363	0,2307	-0,1598	0,0367
Stvarni alkohol (g L ⁻¹)	0,1186	0,4131	-0,2364	0,2310	-0,1597	0,0364
Ukupni ekstrakt suhi (g L ⁻¹)	0,3656	-0,0941	0,0456	0,0582	0,0784	-0,0501
Reducirajući šećeri (g L ⁻¹)	0,3508	-0,1231	0,1308	0,0449	-0,1494	-0,0321
Ukupna kiselost (kao vinska) (g L ⁻¹)	0,0230	-0,2482	-0,2065	0,4705	0,3678	0,0282
Hlapiva kiselost (kao octena) (g L ⁻¹)	0,1977	0,1825	0,1493	0,1258	0,1210	0,1570
pH	0,2035	0,2464	-0,0215	-0,4107	0,1316	-0,1345
Pepeo (g L ⁻¹)	0,1921	0,1297	-0,2021	-0,2907	0,3591	-0,142
Slobodni sumporni dioksid (mg L ⁻¹)	0,0283	-0,0822	0,0337	-0,0427	-0,1110	0,8367
Ukupni sumporni dioksid (mg L ⁻¹)	0,1521	-0,1613	-0,2046	-0,1974	0,1209	0,4000
Smjesa glukoze i fruktoze (g L ⁻¹)	0,3468	-0,1317	0,1339	0,0409	-0,1714	-0,0302
Limunska kiselina (g L ⁻¹)	0,1231	-0,2297	-0,4634	-0,1218	0,0380	0,0458
Vinska kiselina (g L ⁻¹)	-0,1064	-0,1335	0,1940	0,5015	0,2415	-0,0477
Jabučna kiselina (g L ⁻¹)	-0,0011	-0,2815	-0,4511	-0,0256	-0,0178	-0,1565
Mliječna kiselina (g L ⁻¹)	0,0405	0,2310	0,3777	-0,1310	0,4318	0,1056
Glicerol (g L ⁻¹)	0,1854	0,1782	-0,1708	0,1426	0,4706	0,0930
Fruktoza (g L ⁻¹)	0,3430	-0,1336	0,1230	0,0388	-0,1764	-0,0231
Glukoza (g L ⁻¹)	0,3124	-0,1435	0,1550	0,0287	-0,1120	-0,1267

U Tablici 11. prikazana je ukupna varijabilnost prvih 6 faktora (PC1-PC6) sa svojstvenim vrijednostima korelacijskog matriksa > 1 i odgovarajućim svojstvenim vektorima za sve uzorke ($n = 360$) dobivene analizom glavnih komponentata (PCA). Nakon standardizacije originalnih

podataka, prve tri glavne komponente objasnile su 66 % ukupne varijance, od čega je prva glavna komponenta (engl. PC1 – *principal component 1*) obuhvatila 34,85 %, druga glavna komponenta (engl. PC2 – *principal component 2*) 17,57 %, a treća je glavna komponenta (engl. PC3 – *principal component 3*) obuhvatila 13,73 % ukupne varijance. Preostalih 34% varijabilnosti raspršeno je između preostalih 12 glavnih komponenata u padajućem postotku počevši s četvrtom glavnom komponentom (PC4) koja obuhvaća samo 9,53 % varijabilnosti.

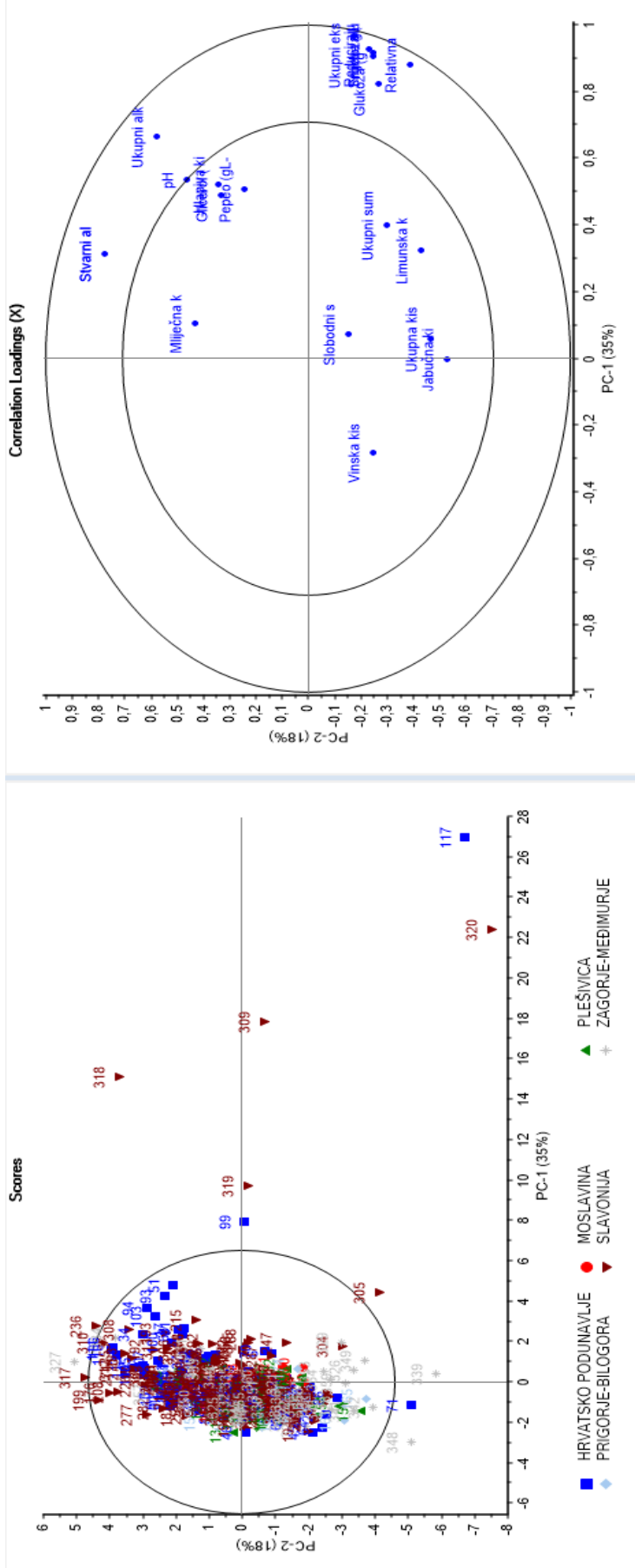
Da bi se reducirao broj varijabli potrebno je pronaći kriterij za zadržavanje onih varijabli koje nose najveći dio informacija sadržanih u polaznom sustavu varijabli. Postoji niz kriterija a neki od njih su (Montgomery, 2001):

- Kaiserov kriterij prema kojemu se uzimaju samo one glavne komponente kojima odgovaraju svojstvene vrijednosti veće od 1;
- uzimaju se samo one glavne komponente kojima odgovaraju svojstvene vrijednosti veće od prosjeka svih svojstvenih vrijednosti;
- uzimaju se samo one glavne komponente koje nose (svaka posebno) unaprijed zadani dio informacija;
- uzimaju se samo one glavne komponente koje nose odnosno zadržavaju (ukupno kao sustav) unaprijed zadani dio informacija;
- broj komponenata se određuje proizvoljno.



Slika 12. Analiza glavnih komponenata (PCA): projekcija uzoraka (A) i varijabli (B -mjerni parametri) na faktorske ravnine PC1xPC2, razlikovanih obzirom na kategoriju vina (kvalitetno vino KZP i vrhunsko vino KZP).

Promatrajući PCA rezultate za vino sorte Graševina unutar dvije kategorije (kvalitetno vino KZP i vrhunsko vino KZP) prikazano na Slici 12, dokazana je proizvodnja vina sorte Graševina koje se međusobno razlikuju u stvarnom i ukupnom alkoholu i pH vrijednost (pomak prema pozitivnoj strani ravnine PC2) nasuprot kiselinskom profilu (pomak prema negativnoj strani ravnine PC2) te reducirajućim šećerima, ukupnom ekstraktu, relativnoj gustoći i glukozi (pomak prema pozitivnoj strani ravnine PC1) i vinskoj i jabučnoj kiselini (pomak prema negativnoj strani ravnine PC1). Iz navedenog se može primijetiti da vrhunska vina KZP sorte Graševina imaju tendenciju povišenog sadržaja alkohola, pH, suhog ekstrakta, reducirajućih šećera i relativne gustoće.



A

B

Slika 13. Analiza glavnih komponenata (PCA): projekcija uzoraka (A) i varijabli (B -mjerni parametri) na faktorske ravnine PC1xPC2, razlikovanih obzirom na ZOI.

Promatrajući rezultate PCA za Graševinu kvalitetno vino KZP unutar šest ZOI primijećena je tendencija pomaka vina iz ZOI podregije Slavonija prema pozitivnoj strani ravnine PC1, te nasuprot tome pomak vina iz ZOI podregije Hrvatsko Podunavlje prema negativnoj strani ravnine PC1 (Slika 13). Iz navedenog se može primijetiti da vina sorte Graševina iz podregije Slavonija imaju tendenciju povišenog sadržaja alkohola, pH, ukupnog ekstrakta, reducirajućih šećera i relativne gustoće u odnosu na druge promatrane podregije. Također, moguće je opaziti određeno grupiranje uzoraka iz pojedinih ZOI, kao što su to Moslavina, Plešivica, Prigorje-Bilogora, Zagorje-Međimurje i Hrvatsko Podunavlje iako se uzorci ZOI iz istoga zemljopisnog područja međusobno preklapaju.

5. ZAKLJUČCI

1. U analiziranim uzorcima vina sorte Graševina najviše je kvalitetnog vina KZP prisutnog na tržištu iz podregije Hrvatsko Podunavlje (ukupno 57,64%), dok je najviše vrhunskog vina KZP iz podregije Slavonija (61,77%).
2. Najveće razlike fizikalno-kemijskih karakteristika za kvalitetno vino KZP uočene su između podregije Hrvatsko Podunavlje i podregije Prigorje-Bilogora.
3. Vrhunsko vino KZP iz podregije Slavonija odlikovalo se značajno većim udjelom alkohola, većim koncentracijama glicerola, ukupnog suhog ekstrakta, reducirajućih šećera, pepela, smjese glukoze i fruktoze kao i pojedinačno mjerene glukoze i fruktoze u odnosu na druga vina u promatranim podregijama sa ZOI.
4. Vina iz različitih podregija karakterizirao je različit kemijski sastav što potvrđuje ranija saznanja o značaju koji „terroire“ ima na kemijski sastav i kvalitetu vina.
5. Veće razlike u kemijskom sastavu vina uočene su u kategoriji vrhunskog vina KZP, nego u kategoriji kvalitetnog vinu KZP.
6. Svi dobiveni rezultati bili su u skladu sa zakonskom regulativom, a upotreba FTIR-spektroskopije pokazala se kao brza i precizna metoda analize velikog broja parametara.
7. Analizirajući rezultate svih promatranih fizikalno-kemijskih parametara ili spektara Graševina proizvedenih u RH nije moguće samo PCA analizom dokazati razdvajanje uzoraka obzirom na ZOI. Potrebno je proširiti istraživanje sa diskriminantnim statističkim metodama.

6. LITERATURA

- Anonymous 1 (2021) Tri vinogradarske regije umjesto dosadašnjih dviju, <<https://vinarija.com/442-tri-vinogradarske-regije-umjesto-dosadasnjih-dviju>>. Pristupljeno 12. srpnja 2021.
- Anonymous 2 (2009) Zone prema A. J. Winkleru, <http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=zone_prema_A._J._Winkleru>. Pristupljeno 20. srpnja 2021.
- Anonymous 3 (2021) Hrvatska vina, <<https://vinacroatia.hr/hrvatska-vina/>>. Pristupljeno 20. srpnja 2021.
- Anonymous 4 (2021) Graševina. *Vina Croatia*, <<https://vinacroatia.hr/hrvatska-vina/sorte/grasevina/>>. Pristupljeno 12. srpnja 2021.
- Anonymous 5 (2007) Aparatura za destilaciju, <<https://hr.wikipedia.org/wiki/Destilacija>>. Pristupljeno 5. rujna 2021.
- Arnerić, J., Protrka, K. (2020) Modeli analize varijance (ANOVA). *Matematičko-fizički list*, **70**, 1-8.
- Basalekou, M., Pappas, C., Tarantilis, P. A., Kallithraka, S. (2020) Wine authenticity and traceability with the use of FT-IR. *Beverages*, **6(2)**, 1-30.
- Bauer, R., Nieuwoudt, H., Bauer, F. F., Kossmann, J., Koch, K. R., & Esbensen, K. H. (2008) FTIR spectroscopy for grape and wine analysis. *Anal. Chem.*, **80(5)**, 1371–1379.
- Benes, R., Pleschiutchnig, J., Reininger, F., Del Bianco, A. (2004) Method for the spectroscopic determination of the concentration of alcohols with 1 to 5 carbon atoms. US Patent 6,690,015.
- Bižić, N. (2014) Hlapive i ostale kiseline u vinu. Prvi hrvatski vinogradarski portal, <<http://www.vinogradarstvo.com/preporuke-i-aktualni-savjeti/aktualni-savjeti-vinarstvo/pretok-i-bistrenje-vina/409-hlapljive-i-ostale-kiseline-u-vinu>>. Pristupljeno 24. kolovoza 2021.

- Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske (2021) Bilanca vina za 2018, <https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/publication/2019/01-01-29_01_2019.htm>. Pristupljeno 20. kolovoza 2021.
- Fazinić, N., Milat, V. (1994) Hrvatska vina. Mladinska knjiga, Zagreb.
- Friedel, M., Patz, C. D., Dietrich, H. (2013) Comparison of different measurement techniques and variable selection methods for FT-MIR in wine analysis. *Food Chem.*, **141**(4), 4200–4207.
- Gemperline, P. (2006) Practical guide to chemometrics, 2. izdanje, Taylor & Francis Group, LLC, New York, str. 2-3.
- Grainger, K., Tattersall, H. (2005) Wine production vine to bottle. Blackwell Publishing, United Kingdom.
- Grasevina croatica (2021) Graševina < <http://grasevina.org/en/contact/> >. Pristupljeno 30. lipnja 2021.
- Grgić, M. (2015) Procesi fermentacija u proizvodnji bijelih vina, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet, Diplomski rad.
- Hibbert, D.B. (2009) Chemometric analysis of sensory data. *Chem. and Bio. Data Anal.*, **4**, 377-424.
- Hrvatska enciklopedija (2021) Vino, <<http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=64729#komentar>>. Pristupljeno 7. srpnja 2021.
- Jackson, R. S. (2014) Wine science: Principles and applications, 4. izd., Accademic press, San Diego, USA.
- Jeromel, A., Herjavec, S., Kozina, B., Maslov, L., Bašić, M. (2007) Sastav organskih kiselina u grožđu, moštu i vinu klonova Chardonnay, <file:///C:/Users/Ivan/Downloads/6_Jeromel.pdf>. Pristupljeno 24. kolovoza 2021.
- Leder, R., Ščitnik, V., Vukoja, M., Boras, A., Vladimira Petric, I., Antunac, I., Banović, M. (2017) Osiguranje kvalitete rezultata ispitivanja vina u analitičkom laboratoriju. *Croatian Journal of Food Technol., Biotech. and Nutr.*, **12** (3-4), 146-154.

Licul, R., Premužić, D. (1982) Praktično vinogradarstvo i podrumarstvo, 5.izd, Nakladni zavod Znanje, Zagreb.

Ministarstvo poljoprivrede (2021) Oznake izvornosti vina <<https://poljoprivreda.gov.hr/istaknute-teme/hrana-111/oznake-kvalitete/oznake-izvornosti-vina/229>>. Pristupljeno 17. srpnja 2021.

Ministarstvo poljoprivrede (2021) Zaštićene oznake izvornosti vina na razini EU <<https://poljoprivreda.gov.hr/istaknute-teme/poljoprivreda-173/poljoprivreda-175/vinogradarstvo-i-vinarstvo/zasticene-oznake-izvornosti-vina-na-razini-eu/203>>. Pristupljeno 7. lipnja 2021.

Mirošević, N., Turković, Z. (2003) Ampelografski atlas, 1. izd., Golden marketing - Tehnička knjiga, Zagreb.

Montgomery, D.C. (2001) Design and analysis of experiments, 5th ed. John Wiley and Sons Inc., New York.

Moreira, J. L., Santos, L. (2005) Analysis of organic acids in wines by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Anal. Bioanal. Chem.*, **382**, 421–425.

OIV (2009) Ash. OIV-International organisation of vine and wine, <<https://www.oiv.int/public/medias/2472/oiv-ma-as2-04.pdf>>. Pristupljeno 27. kolovoza 2021.

OIV (2009) Reference method for the determination of real alcoholic strength by volume of spirit drinks of viti-vinicultural origin: measurement by electronic densimetry. OIV-International organisation of vine and wine, <<https://www.oiv.int/public/medias/2665/oiv-ma-bs-04.pdf>>. Pristupljeno 27. kolovoza 2021.

OIV (2010) Guidelines on infrared analysers in enology, OIV-International organisation of vine and wine, <<https://www.oiv.int/public/medias/1239/oiv-oen-390-2010-en.pdf>>. Pristupljeno 27. kolovoza 2021.

OIV (2011) pH. OIV-International organisation of vine and wine, <<https://www.oiv.int/public/medias/2514/oiv-ma-as313-15.pdf>>. Pristupljeno 27. kolovoza 2021.

OIV (2012) Density and specific gravity at 20 °C. OIV-International organisation of vine and wine, < <https://www.oiv.int/public/medias/2467/oiv-ma-as2-01a.pdf>>. Pristupljeno 27. kolovoza 2021.

OIV (2012) Total dry matter. OIV-International organisation of vine and wine, < <https://www.oiv.int/public/medias/2471/oiv-ma-as2-03b.pdf>>. Pristupljeno 27. kolovoza 2021.

OIV (2015) Total acidity. OIV-International organisation of vine and wine, < <https://www.oiv.int/public/medias/3731/oiv-ma-as313-01.pdf>>. Pristupljeno 27. kolovoza 2021.

OIV (2015) Volatile acidity. OIV-International organisation of vine and wine, < <https://www.oiv.int/public/medias/3732/oiv-ma-as313-02.pdf>>. Pristupljeno 27. kolovoza 2021.

OIV (2018) Sulphur dioxide (titrimetry). OIV-International organisation of vine and wine, < <https://www.oiv.int/public/medias/2429/oiv-ma-as323-04a.pdf>>. Pristupljeno 27. kolovoza 2021.

Panda H. (2011) The complete book on wine production. Niir Project Cosultancy Services (NPCS), New Delhi, India.

Pecina, M. (2006) Metode multivarijatne analize - osnove. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Skripta <<https://pdfslide.net/documents/metode-mva-osnove-interna-skripta.html>>. Pristupljeno 20. kolovoza 2021.

Petravić-Tominac, V., Belošević, M., Oros, D., Zechner-Krpan, V., Banović, M. (2016) Analiza vina sorte Škrlet proizvedenih u podregijama Moslavina i Pokuplje. *Croatian Journal of Food Technol., Biotech. and Nutr.*, **11** (1-2), 85-90.

Petravić-Tominac, V., Mujadžić, S., Zechner-Krpan, V., August, H., Velić, D., Velić, N. (2017) Odabrani biotehnoški čimbenici koji utječu na alkoholnu fermentaciju pri proizvodnji vina. *Croatian Journal of Food Technol., Biotech. and Nutr.*, **12** (3-4), 100-106.

Plavša, T. (2010) Jabučno – mliječna fermentacija u vinu. *Glasnik zaštite bilja*, **6**, 1-10.

Pozderović, A. Pichler, A., Paragović, K., Moslavac, T. (2010) Utjecaj membranske filtracije na aromu i kemijski sastav vina sorte Graševina. *Glasnik zaštite bilja*, **5**, 1-9.

Pravilnik o fizikalno-kemijskim metodama analize mošta, vina, drugih proizvoda od grožđa i vina te voćnih vina (2004) *Narodne novine* **106**, Zagreb.

Pravilnik o nacionalnoj listi priznatih kultivara vinove loze (2020) *Narodne novine* **25**, Zagreb.

Pravilnik o proizvodnji vina (NN 2/05, 137/08, 48/14) <https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2005_01_2_17.html>. Pristupljeno 20.kolovoza 2021.

Pravilnik o stavljanju u promet vina i vina sa zaštićenom oznakom izvornosti (NN 142/13, 49/14), <<http://www.propisi.hr/print.php?id=12718>>. Pristupljeno 20.srpnja 2021.

Pravilnik o vinu (NN 96/96, 7/97, 117/97, 57/00) <<https://zakon.hr/zakoni/277.2%20Pravilnik%20o%20vinu-procisceni.doc>>. Pristupljeno 20. kolovoza 2021.

Pravilnik o zaštićenim oznakama izvornosti i zaštićenim oznakama zemljopisnog podrijetla, tradicionalnim izrazima i označavanju vina (2019) *Narodne novine* **38**, Zagreb.

Pravilnik o zaštićenim oznakama izvornosti i zaštićenim oznakama zemljopisnog podrijetla, tradicionalnim izrazima i označavanju vina (2010) *Narodne novine* **141**, Zagreb

Priewe, J. (2005) *Vinska škola*, Stanek d.o.o., Varaždin, str. 72-73.

Rebelein, H. (1973) Rapid method for the determination of the alcohol, sugar and total SO₂ contents (by distillation) in wine and fruit juices. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* **2**, str. 112.

Reed G., Nagodawithana T. W. (1991) *Wine yeasts, U: Yeast technology*, Van Nostrand Reinhold, New York, str. 151-224.

Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. (2006) *Handbook of enology*. Vol. 2. The chemistry of wine stabilization and treatments. Wiley & Sons, Chichester.

Sandra P, David F, Szücs R. (2002) Some applications of state-of-art capillary gas chromatography in the pharmaceutical industry. *TrAC Trends in anal. Chem.*, **21**, str. 662.

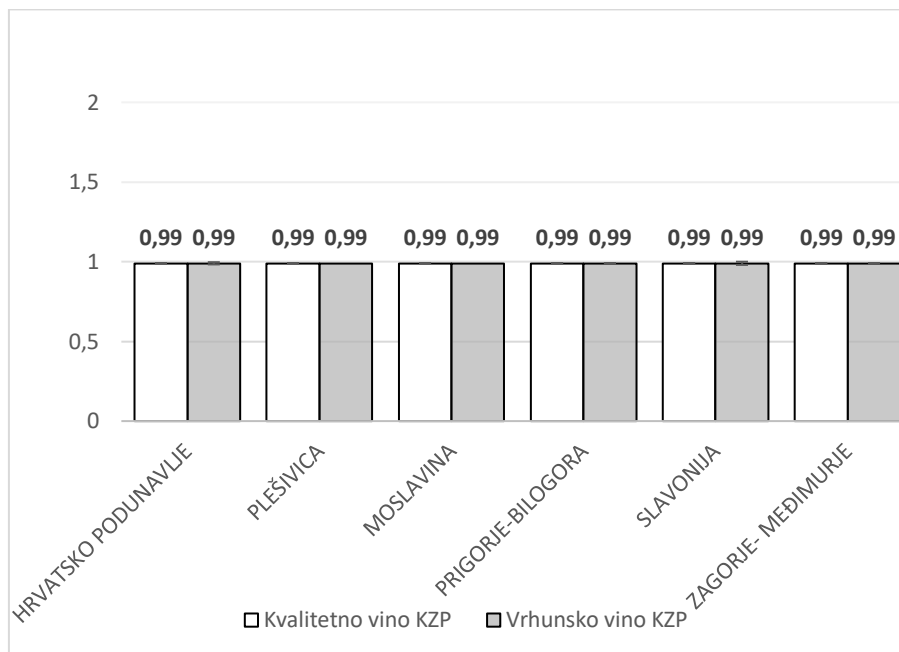
Smith, B.C. (1996) *Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy*, CRC Press LLC, USA.

Sokolić, I. (2006.) *Veliki vinogradarsko – vinarski leksikon*, vlast. nakl. Ivan Sokolić, Novi Vinodolski.

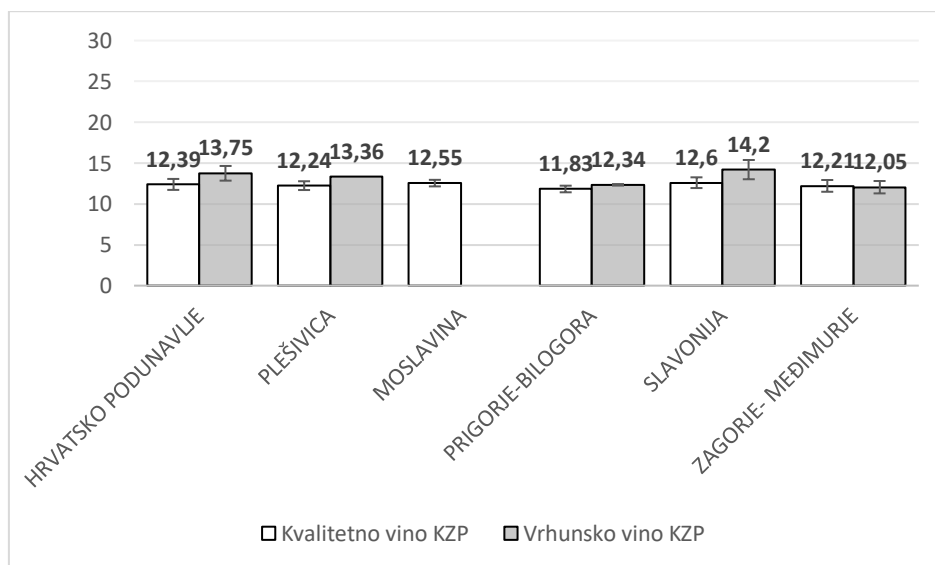
- Sokolić, I. (2011) Graševina, <<http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=graševina>>. Pristupljeno 22.6.2021.
- Swiegers J.H., Bartowsky E.J., Henschke P.A., Pretorius I.S. (2005) Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Australian Journ. of Grape and Wine Research*, **11** (2), 139–173.
- Tanner, H., Brunner, H. R. (1987) Getranke-Analytik-Verlag Heller Chemie-und Verwaltungsgesellschaft, Njemačka.
- Turković, G. (2013) Vinske sorte/graševina, <https://suhiucasi.wordpress.com/2013/03/07/vinske-sorte-grasevina-tekuci-simbol-slavonije/> >. Pristupljeno 20. rujna 2021.
- Turković, G., Turković, Z. (2003) Ampelografski atlas, II. Dio. Golden marketing-Tehnička knjiga, Zagreb, Hrvatska.
- Van Leeuwen, C., Seguin, G. (2006) The concept of terroir in viticulture. *J. Wine Res.* **17**, 1– 10.
- Walton, S. (2006) Enciklopedija svjetskih vina, Leo – commerce d.d., Zagreb, Hrvatska.
- Waterhouse, L., Sacks, G. L., Jeffery, D. W. (2016) Understanding wine chemistry. Wiley, United Kingdom.
- Zakon o poljoprivredi (2015) *Narodne novine* **30**, Zagreb.
- Zakon o vinu (2003) *Narodne novine* **96**, Zagreb.
- Zakon o vinu (2019) *Narodne novine* **32**, Zagreb.
- Zoecklein, B., Fugelsang, K. C., Gump B. H., Nury, F. S. (2013) Wine analysis and production, Chapman & Hall, New York.
- Zoričić, M. (1996) Podrumarstvo. Drugo prošireno izdanje. Nakladni zavod Globus, Zagreb.
- Zoričić, M. (2003) Domaće vino bijelo, ružičasto, crno, Gospodarski list d.d., Zagreb.
- Zoričić, M. (2002) Od grožđa do vina, Gospodarski list, Zagreb.

7. PRILOZI

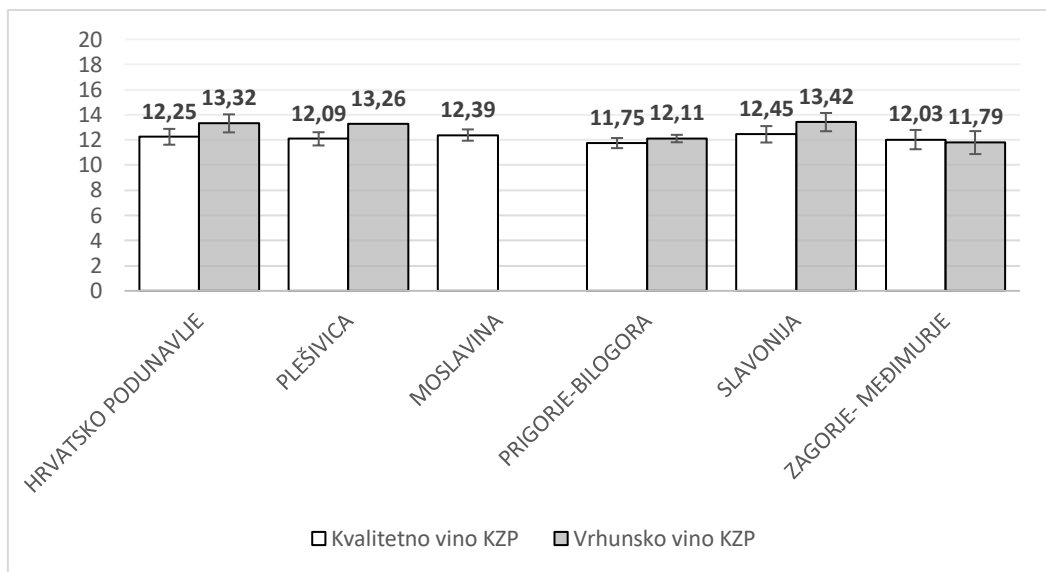
7.1. GRAFIČKI PRIKAZ DOBIVENIH VRIJEDNOSTI



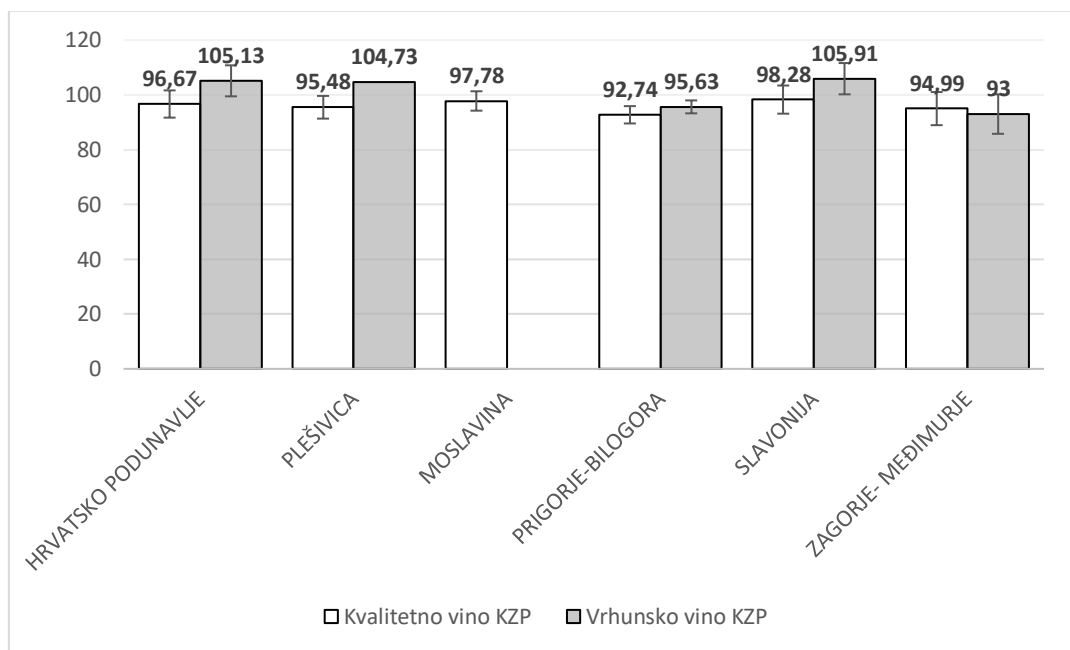
Prilog 1. Grafički prikaz relativne gustoće (20/20 °C) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



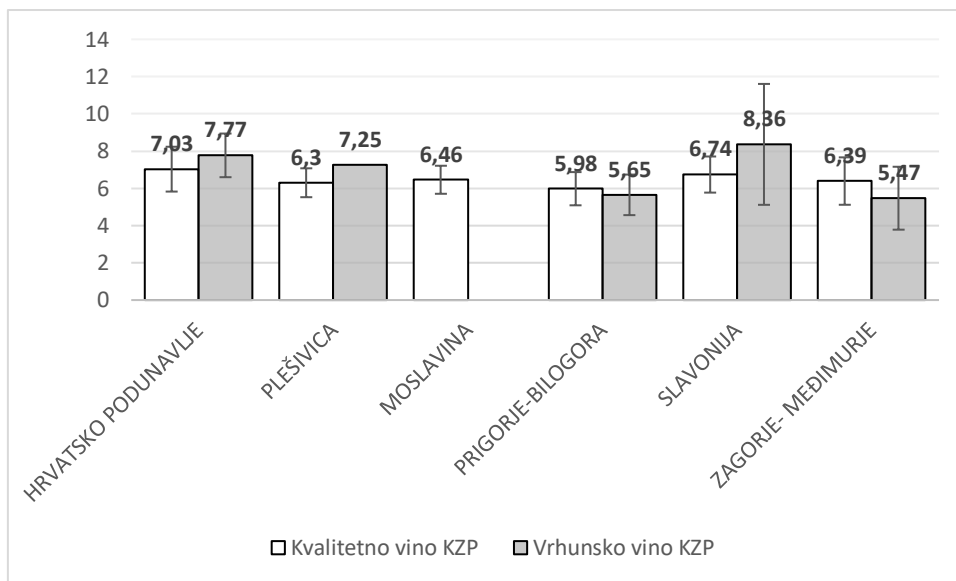
Prilog 2. Grafički prikaz ukupnog alkohola (% vol.) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



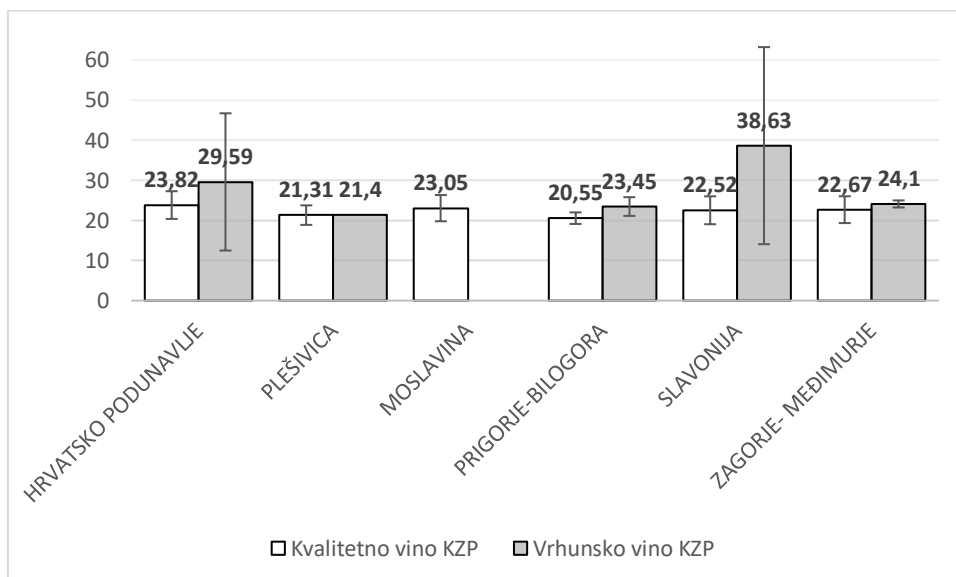
Prilog 3. Grafički prikaz stvarnog alkohola (% vol.) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



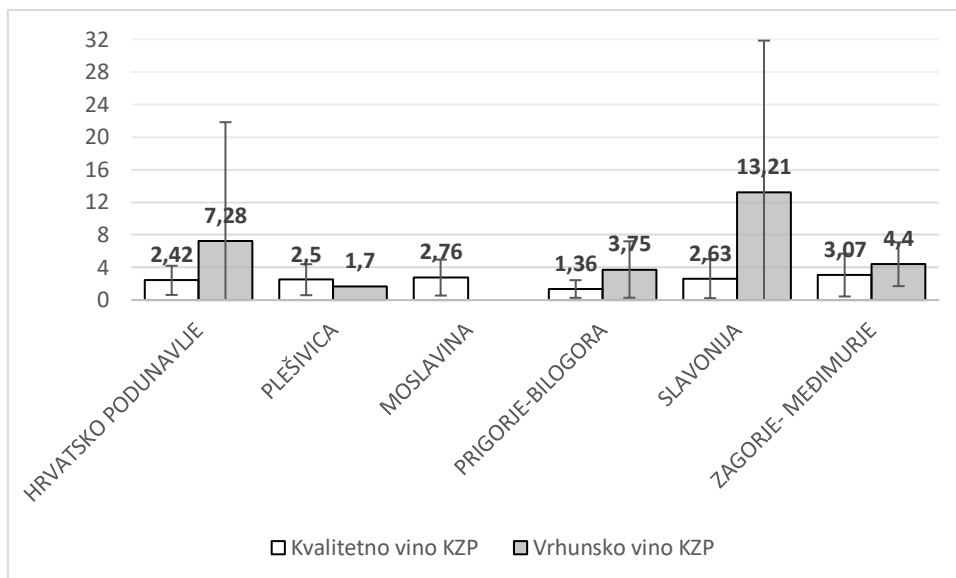
Prilog 4. Grafički prikaz stvarnog alkohola (g L⁻¹) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



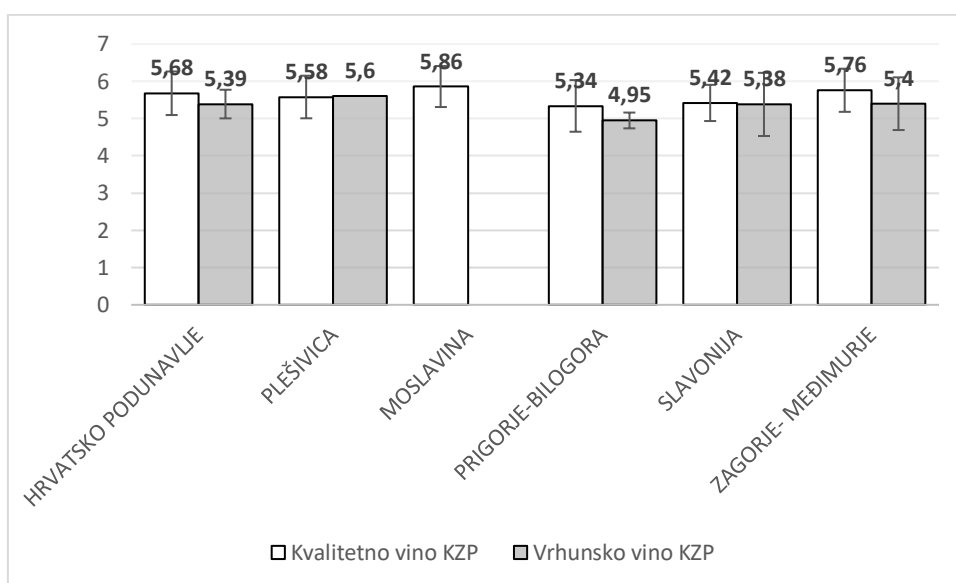
Prilog 5. Grafički prikaz glicerola (g L^{-1}) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



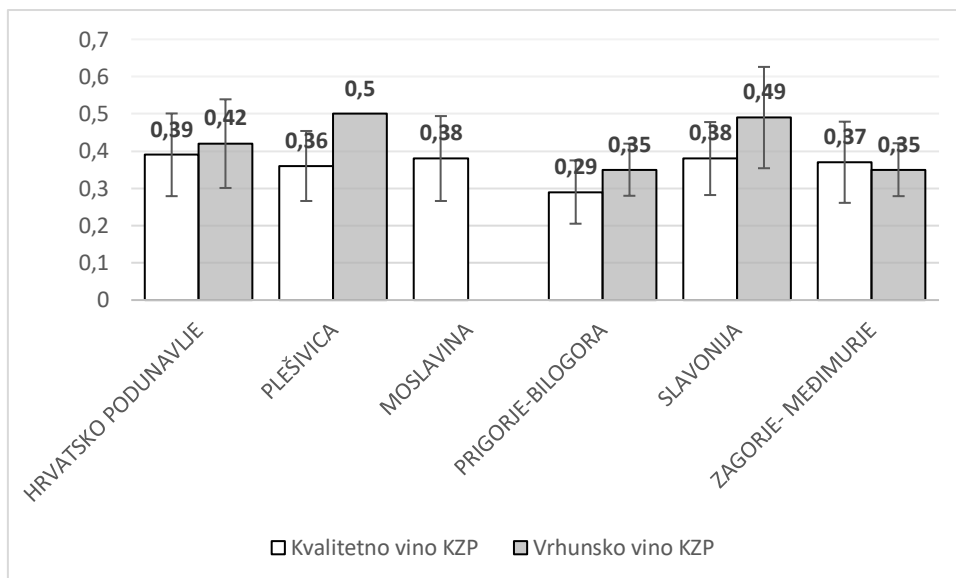
Prilog 6. Grafički prikaz ukupnog suhog ekstrakta (g L^{-1}) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



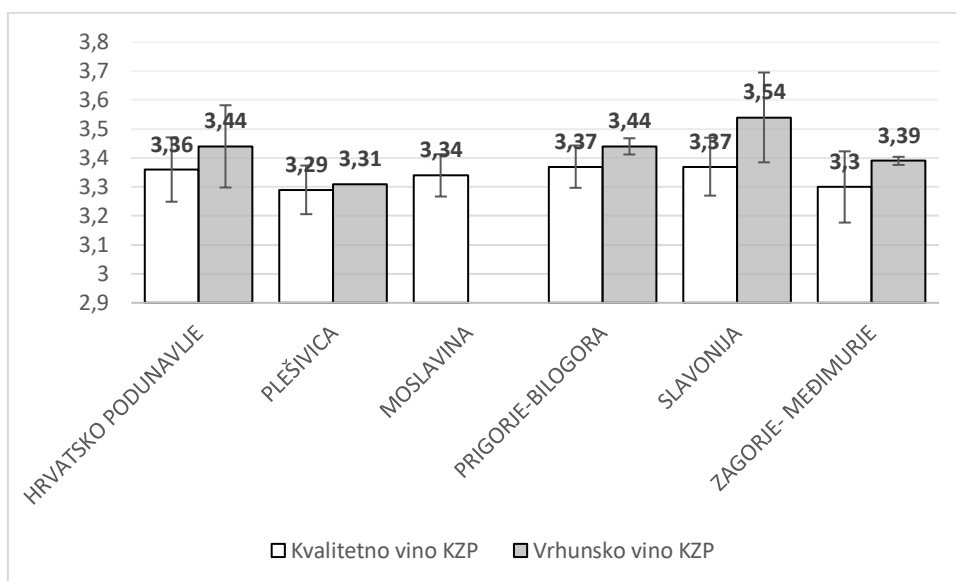
Prilog 7. Grafički prikaz reducirajućih šećera (g L⁻¹) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



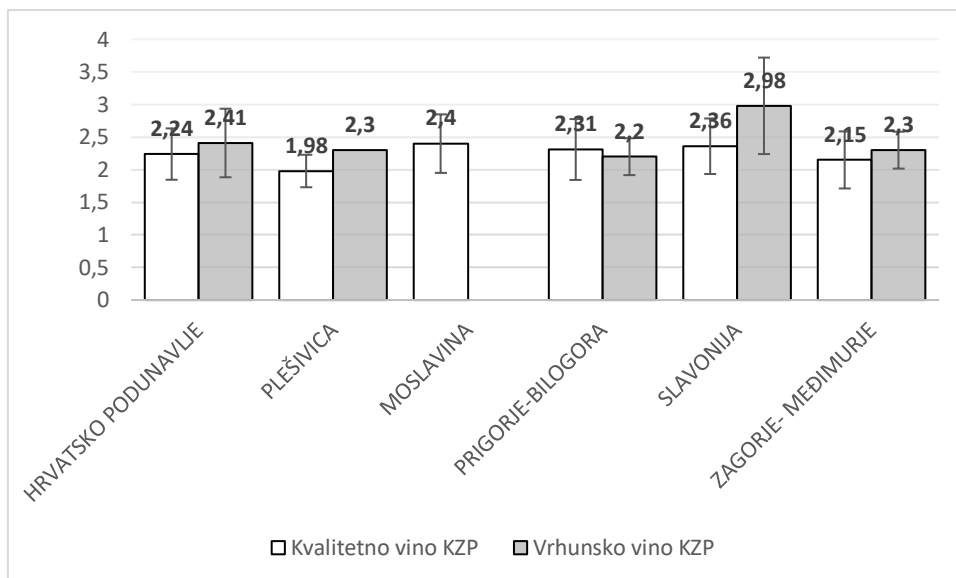
Prilog 8. Grafički prikaz ukupne kiselosti (kao vinska) (g L⁻¹) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



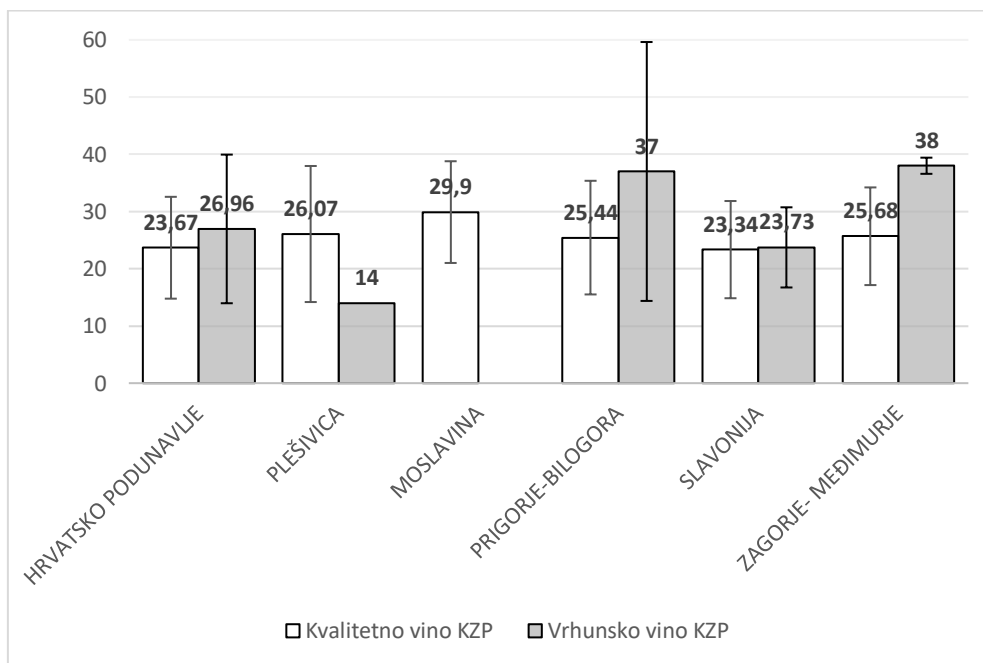
Prilog 9. Grafički prikaz hlapive kiselosti (kao octena) (g L⁻¹) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



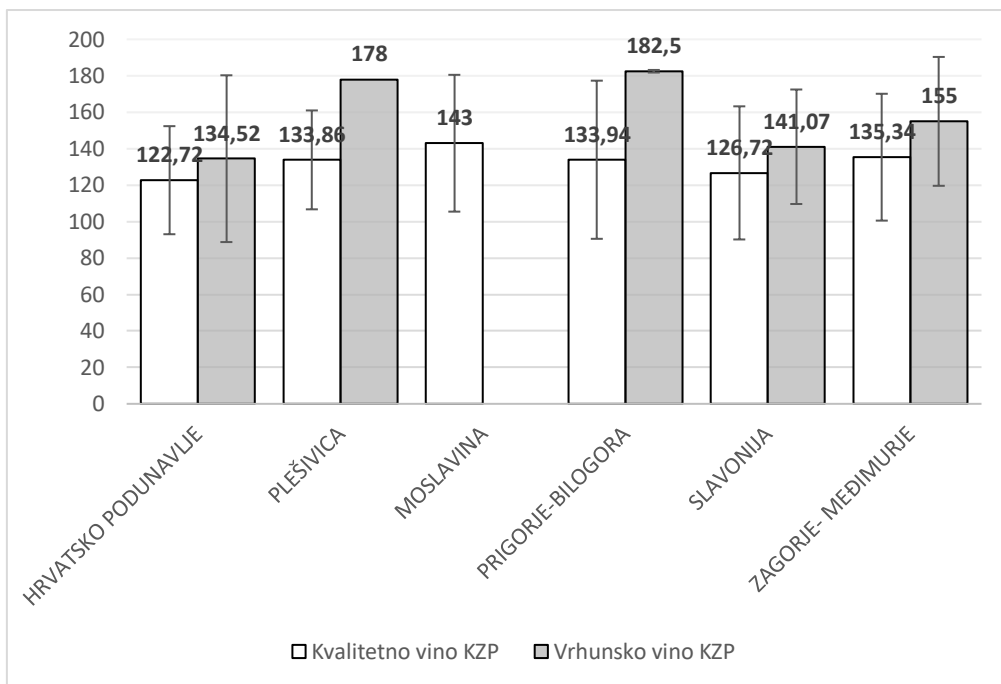
Prilog 10. Grafički prikaz pH vrijednosti u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



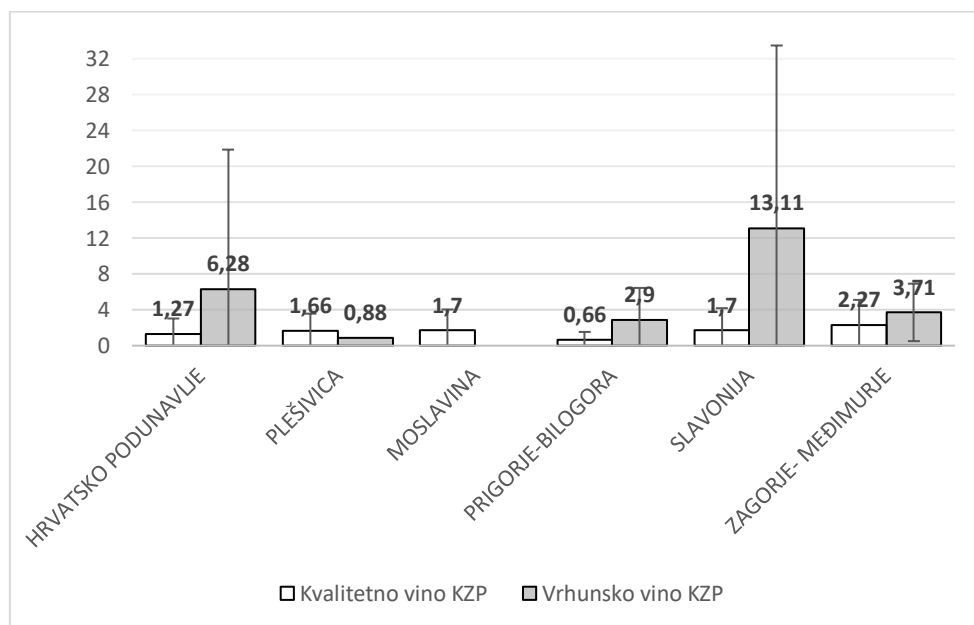
Prilog 11. Grafički prikaz pepela (g L⁻¹) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



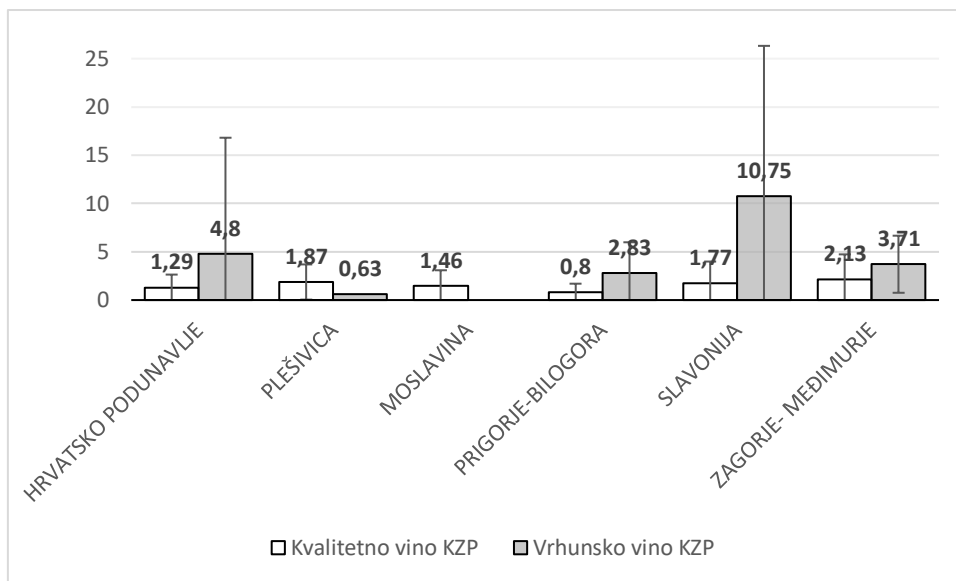
Prilog 12. Grafički prikaz slobodnog SO₂ (mg L⁻¹) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



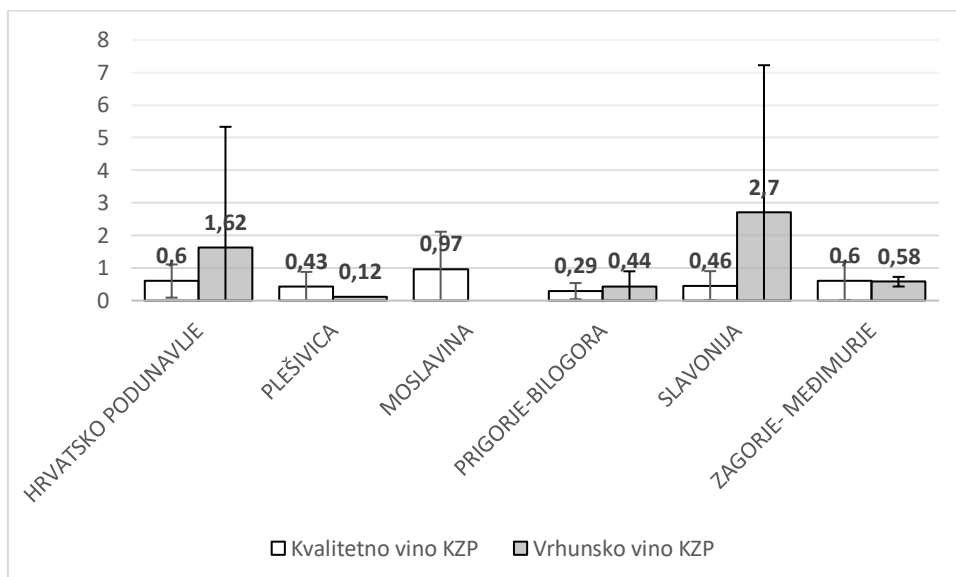
Prilog 13. Grafički prikaz ukupnog SO₂ (mg L⁻¹) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



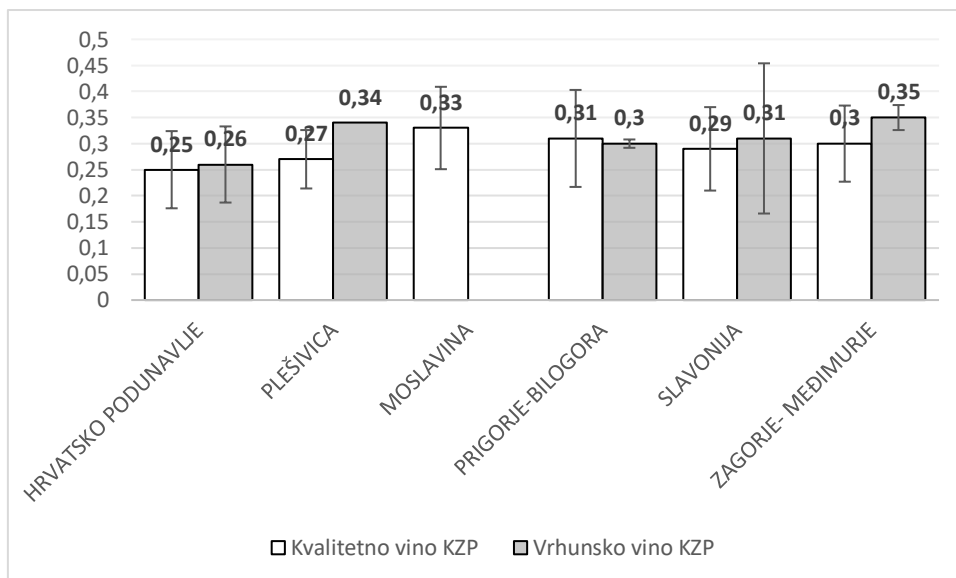
Prilog 14. Grafički prikaz smjese glukoze i fruktoze (g L⁻¹) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



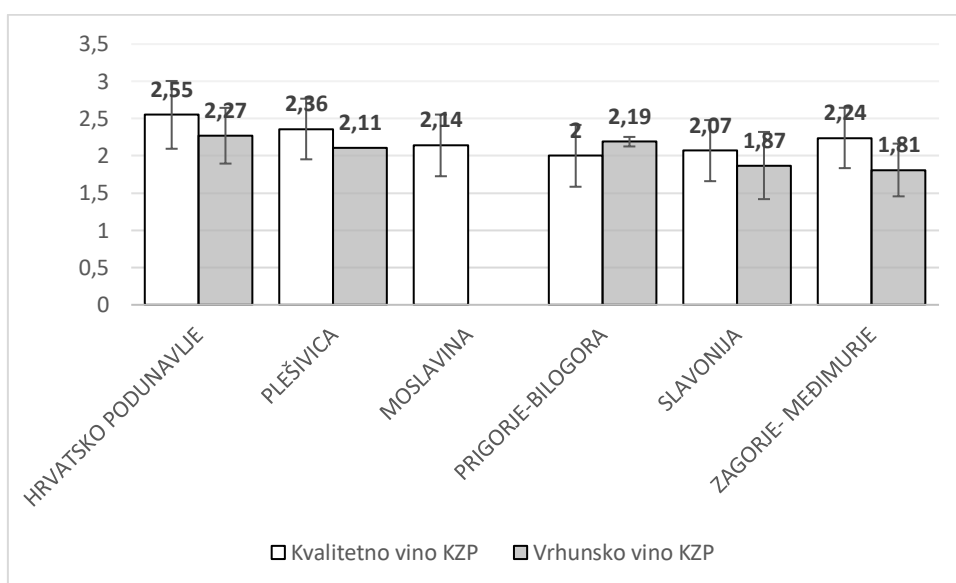
Prilog 15. Grafički prikaz fruktoze (g L^{-1}) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



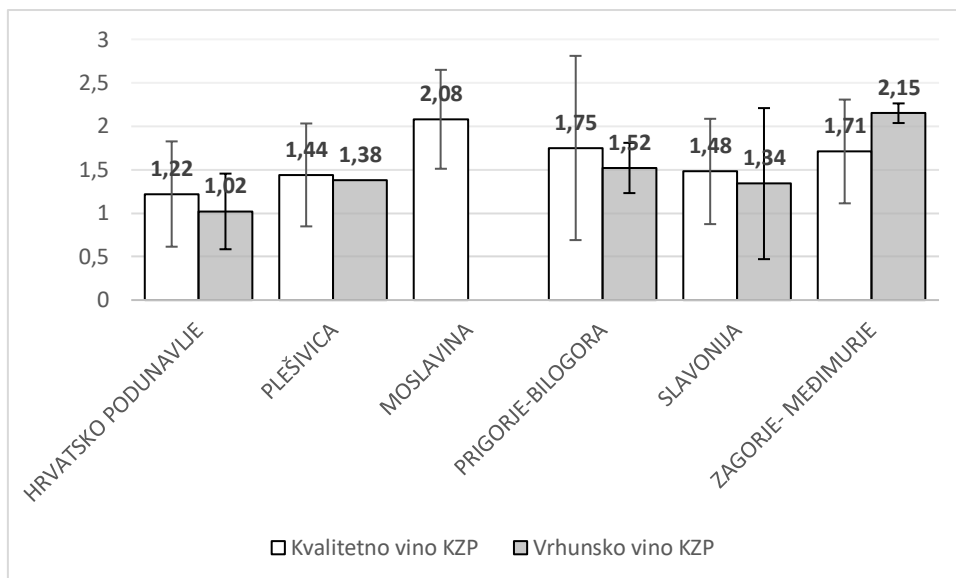
Prilog 16. Grafički prikaz glukoze (g L^{-1}) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



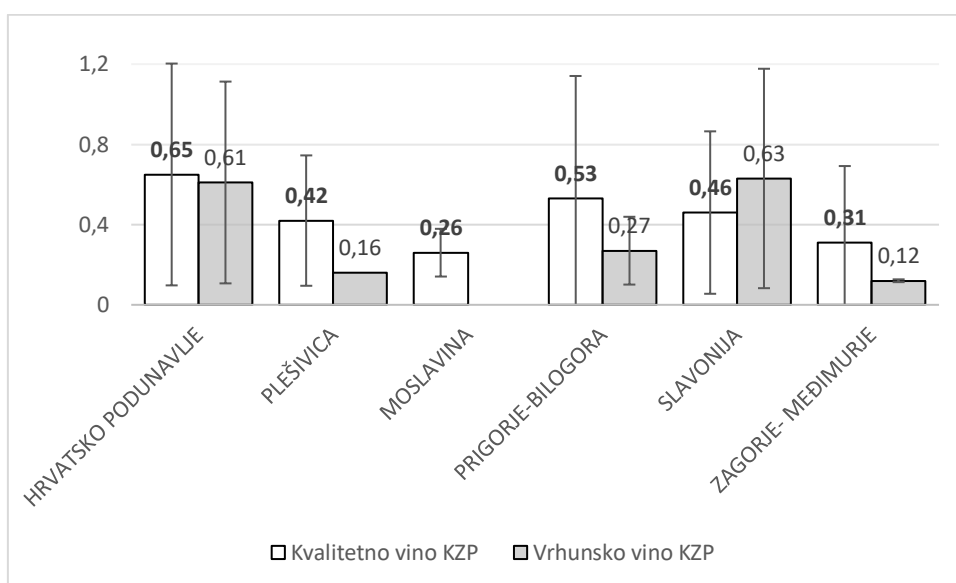
Prilog 17. Grafički prikaz limunske kiseline (g L⁻¹) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



Prilog 18. Grafički prikaz vinske kiseline (g L⁻¹) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



Prilog 19. Grafički prikaz jabučne kiseline (g L⁻¹) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina



Prilog 20. Grafički prikaz mliječne kiseline (g L⁻¹) u ispitivanim uzorcima vina sorte Graševina

IZJAVA O IZVORNOSTI

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

Ime i prezime studenta

