



Sveučilište u Zagrebu

AGRONOMSKI FAKULTET

Marina Pavlović

**UTJECAJ RANE DJELOMIČNE
DEFOLIJACIJE NA SADRŽAJ POLIFENOLA
U GROŽĐU I NJIHOVU STABILNOST U
VINU**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2026.



Sveučilište u Zagrebu

AGRONOMSKI FAKULTET

Marina Pavlović

**UTJECAJ RANE DJELOMIČNE
DEFOLIJACIJE NA SADRŽAJ POLIFENOLA
U GROŽĐU I NJIHOVU STABILNOST U
VINU**

DOKTORSKI RAD

Mentor:

prof.dr.sc. Darko Preiner

Zagreb, 2026.



Sveučilište u Zagrebu

FACULTY OF AGRICULTURE

Marina Pavlović

**INFLUENCE OF EARLY PARTIAL LEAF
REMOVAL ON CONTENT OF
POLYPHENOLS IN GRAPE AND THEIR
STABILITY IN WINE**

DOCTORAL THESIS

Supervisor:

Full prof. Darko Preiner, Ph.D.

Zagreb, 2026.

BIBLIOGRAFSKA STRANICA

Bibliografski podaci:

- **Znanstveno područje:** Biotehničko područje
- **Znanstveno polje:** Poljoprivreda
- **Institucija:** Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za vinogradarstvo i vinarstvo
- **Voditelj doktorskog rada:** prof.dr. sc. Darko Preiner
- **Broj stranica:**122
- **Broj slika:** 6
- **Broj tablica:** 23
- **Broj grafikona:** 10
- **Broj priloga:** 0
- **Broj literaturnih referenci:** 145
- **Datum obrane doktorskog rada:**

- **Sastav povjerenstva za obranu doktorskog rada:**

1. prof.dr.sc. Ana Jeromel, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet
2. izv.prof.dr.sc. Zoran Zorić, Sveučilište u Zadru, Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu
3. dr.sc. Marijan Bubola,viši znanstveni suradnik, Institut za poljoprivredu i turizam, Poreč

Rad je pohranjen u:

- Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Ulica Hrvatske bratske zajednice 4 p.p. 550, 10 000 Zagreb,
- Knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta, Svetošimunska 25, 10 000 Zagreb

Tema rada prihvaćena je na sjednici Fakultetskog vijeća Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, održanoj dana 12.2.20219., te odobrena na sjednici Senata Sveučilišta u Zagrebu, održanoj dana 14.5.2019. akademskoj godini (2018/2019) (Klasa:643-03/19-08/13; Ur.broj:380-130/134-19-2).

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja, **Marina Pavlović**, izjavljujem da sam samostalno izradila doktorski rad pod naslovom:

**UTJECAJ RANE DJELOMIČNE DEFOLIJACIJE NA SADRŽAJ POLIFENOLA U
GROŽĐU I NJHOVU STABILNOST U VINU**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovog dokorskog rada;
- da je doktorski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u izradi istog nisam koristila drugim izvorima osim onih koji su u njemu navedeni;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19.).

Zagreb, ____ . ____ . ____ godine

Potpis doktorandice

OCJENA DOKTORSKOG RADA

Ovu disertaciju je ocijenilo povjerenstvo u sastavu:

1. Prof.dr.sc. Ana Jeromel, redovita profesorica u trajnom zvanju
Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet
2. Izv.prof.dr.sc. Zoran Zorić, izvanredni profesor
Sveučilište u Zadru, Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu
3. Dr.sc. Marijan Bubola, viši znanstveni suradnik
Institut za poljoprivredu i turizam, Poreč

Disertacija je obranjena na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu _____, _____ pred povjerenstvom u sastavu:

1. Prof.dr.sc. Ana Jeromel, redovita profesorica u trajnom zvanju

Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet

2. Izv.prof.dr.sc. Zoran Zorić, izvanredni profesor

Sveučilište u Zadru, Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu

3. Dr.sc. Marijan Bubola, viši znanstveni suradnik

Institut za poljoprivredu i turizam u Poreču

Informacije o mentoru

Prof. dr. sc. Darko Preiner

Darko Preiner rođen je 10. veljače 1982. godine u Čakovcu, gdje je završio srednjoškolski program za poljoprivrednog tehničara u sklopu Gospodarske škole Čakovec. Na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu diplomirao je 20. veljače 2006. godine. Kao znanstveni novak na Zavodu za vinogradarstvo i vinarstvo zaposlen je od 23. listopada 2006. godine. Doktorski rad naslova "Učinkovitost masovne pozitivne selekcije unutar populacija autohtonih sorata vinove loze (*Vitis vinifera* L.) u Dalmaciji" obranio je 17. srpnja 2012. na Sveučilištu u Zagrebu Agronomskom fakultetu te stekao akademski stupanj doktora Biotehničkih znanosti, znanstveno polje Poljoprivreda, grana Vinogradarstvo i vinarstvo. U znanstveno-nastavno zvanje docenta izabran je 2013. godine, u znanstveno-nastavno zvanje izvanrednog profesora 6. ožujka 2019. godine, a na radno mjesto redovitog profesora 1. listopada 2024. godine.

Znanstveno se usavršavao u Austriji, SAD-u i Švedskoj. Član je međunarodnih organizacija: O.I.V. (Međunarodna organizacija za vinovu lozu i vino), ECPGR (European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources), ISHS (International Society for Horticultural Science) i PIWI International (Organizacije za promicanje uzgoja otpornih sorata vinove loze). Znanstvena djelatnost mu je vezana je uz vinovu lozu, posebno autohtone sorte vinove loze, njihovu karakterizaciju, i klonsku selekciju. U novije vrijeme bavi se i hibridizacijom ciljem razvoja otpornih sorata vinove loze uz primjenu markerima potpomognute selekcije. U sustavu međunarodnog znanstvenog informiranja pristupnik je objavio 91 rad u znanstvenim časopisima, od čega je 61 rad indeksiran u bazi Web of Science Core Collection. Suautor je na pet monografija i šest znanstvenih poglavlja u knjigama. Bio je voditelj uspostavnog istraživačkog projekta HRZZ-a, aktivni sudionik na pet domaćih i četiri međunarodna znanstvena projekata. Suradnik je elementa projekta EP4 – Vinova loza u sklopu Znanstvenog centra izvrsnosti za bioraznolikost i molekularno oplemenjivanje bilja (Crop-BioDiv). Član je relevantnih domaćih i međunarodnih društava vezanih uz struku (ISHS, CPGRD) te se u više navrata znanstveno usavršavao na međunarodno priznatim institucijama (University of Natural Resources and Life Science - Beč, UC Davis - California i Nordic Genetic Resource Center - Alnarp, Švedska). Kao nastavnik, suradnik je ili nositelj više predmeta na preddiplomskoj, diplomskoj i poslijediplomskoj razini. Od stručnih aktivnosti potrebno je istaknuti njegov doprinos u provedbi klonske selekcije najvažnijih autohtonih sorata vinove loze kroz koju je registrirano 37 klonova kod 12 sorata.

Zahvala

SAŽETAK

Sorte vinove loze 'Merlot', 'Syrah' i 'Cabernet Sauvignon', najznačajnije crne sorte u svijetu, među najzastupljenijima su u novopodignutim višegodišnjim nasadima u Hrvatskoj, osobito na području Dalmacije. Na poboljšanje kvalitete grožđa značajan utjecaj ima umjerena izloženost grožđa sunčevoj svjetlosti koja se postiže primjenom različitih ampelotehničkih zahvata među kojima se posebno ističe provedba djelomične defolijacije. Uklanjanjem lišća u zoni grožđa povećava se izloženost grožđa sunčevoj svjetlosti čime se izravno utječe na poboljšanje njegove kvalitete, a umjerena izloženost sunčevoj svjetlosti povoljno djeluje na sintezu fenolnih spojeva koji su važan sastojak grožđa i vina crnih sorti grožđa.

Utjecaj defolijacije na navedenim crnim sortama grožđa na području sjeverne Dalmacije dosad nije sustavno istražen. Iz navedenih razloga provedeno je dvogodišnje istraživanje (2015. i 2016.) kako bi se procijenila opravdanost provedbe tretmana rane djelomične defolijacije kod sorata koje su značajne za vinogradarstvo sjeverne Dalmacije te utvrdio utjecaj ovog zahvata na nakupljanje fenolnih spojeva u grožđu tijekom dozrijevanja i njihovu stabilnost u vinu tijekom starenja. Istraživanje je provedeno u vinogradu Sveučilišta u Zadru, udaljenom 20 km sjeveroistočno od Zadra. Djelomična defolijacija četiri do pet bazalnih listova po mladici provedena je u fenofazi cvatnje (50 % otvorenih cvjetova) i u fenofazi šare (50 % obojenih bobica). Oba tretmana uspoređena su s kontrolom kroz pet termina uzorkovanja pri čemu je praćena dinamika dozrijevanja grožđa. Grožđe je ubrano kad je sadržaj šećera prešao 80 °Oe. Svi tretmani su zasebno vinificirani standardnim enološkim postupcima. Dva mjeseca nakon završene alkoholne fermentacije vina su punjena u boce, uskladištena i dozrijevala u podrumskim uvjetima te analizirana odmah nakon punjenja, nakon šest mjeseci i godinu dana, kako bi se utvrdio utjecaj defolijacije na sastav i stabilnost fenolnih spojeva tijekom dozrijevanja vina.

Djelomična defolijacija značajno je utjecala na sadržaj fenola tijekom dozrijevanja grožđa. Ranija defolijacija u cvatnji utjecala je na povećanje sadržaja ukupnih antocijana tijekom dozrijevanja grožđa kod sorte 'Merlot' u 2015. godini, te kod sorata 'Syrah' i 'Cabernet Sauvignon' u obje godine, ali i na sadržaj ukupnih flavonola tijekom dozrijevanja kod sve tri sorte u obje godine, osim kod 'Cabernet Sauvignona' u 2016. godini.

Provedeni tretmani defolijacije značajno su utjecali na povećanje sadržaja ukupnih antocijana i ukupnih flavonola u grožđu u terminu berbe kod sve tri sorte u obje istraživane godine, pri čemu su razlike ovisile o vremenu provedbe tretmana defolijacije.

Utjecaj termina defolijacije na stabilnost fenolnih spojeva u vinu tijekom dozrijevanja je bio različit ovisno o sorti i godini istraživanja. Sadržaj ukupnih antocijana tijekom dozrijevanja vina je bio viši u vinima proizvedenim od grožđa vinificiranog sa defoliranih trsova, osim kod vina 'Merlot' i 'Cabernet Sauvignon' u 2015. godini. Sličan trend zabilježen je kod ukupnih proantocijanidina dok je kod ostalih skupina fenola utjecaj defolijacije bio značajan ali varijabilan. Prema dobivenim rezultatima vidljiv je pozitivan učinak provedbe defolijacije na povećani sadržaj fenola u grožđu i vinu čime se direktno utječe i na poboljšanje kvalitete vina.

Ključne riječi: djelomična defolijacija, antocijani, polifenoli, dozrijevanje, stabilnost polifenola

EXTENDED SUMMARY

INFLUENCE OF EARLY PARTIAL LEAF REMOVAL ON CONTENT OF POLYPHENOLS IN GRAPE AND THEIR STABILITY IN WINE

The grape varieties 'Merlot', 'Syrah' and 'Cabernet Sauvignon' are significantly represented in the new plant vineyards throughout Croatia, especially in Dalmatia, and they are also the most important red varieties in the world. Polyphenols are an important ingredient in grapes and wines of red varieties, and their content depends on cultivar, canopy manipulation techniques but also a wine producing technology. Different viticultural practices have an important influence on the content of polyphenols in both grape and wine, particularly partial leaf removal in the fruit zone. Removing leaves increases the exposure of grapes to sunlight, which directly affects the quality of grapes, because moderate exposure to sunlight has a positive effect on the synthesis of polyphenolic compounds, as well as volatile compounds that directly affect the aroma of wine. However, excessive leaf removal may expose grapes to sunburn, requiring careful timing and execution. Climatic conditions during the growing season play a critical role in the success of this practice. Modern viticulture and wine production are increasingly confronted with the challenges posed by climate change. It has become essential to explore the effects of early leaf removal as a strategy for adapting vineyard practices. In particular, investigating how earlier defoliation influences the accumulation of volatile compounds and polyphenols in grapes can provide valuable insights. Mentioned procedure was not explored in the context of the mentioned grape cultivars in the area of northern Dalmatia, and the influence of early defoliation on the stability of polyphenol content in wines during maturing has generally not been sufficiently explored. Due to all the above, this research will attempt to assess the justification for the implementation of early defoliation in grape cultivars which are significant for the viticulture production of northern Dalmatia, as well as to determine the effect of the early defoliation on stability of polyphenols in wine during maturing, which will greatly contribute to a better understanding of the effect of this treatment on wine quality.

A two-year study (2015/2016) was conducted to assess the justification for implementing early defoliation treatment in varieties that are important for viticulture in northern Dalmatia, and to determine the impact of the defoliation on the accumulation of polyphenols in grapes during ripening and the stability of polyphenols in wine during aging.

Introduction section: Provides an overview of the research topic and emphasizes the importance of the studied grapevine varieties in the region of northern Dalmatia. Among the various agrotechnical practices used in viticulture, partial zone leaf removal in cluster zone is particularly significant, due to its substantial impact on the chemical composition of both grapes and wine, especially in polyphenol content. Although polyphenols are present in relatively low concentrations, they play a crucial role in shaping the organoleptic properties of wine. Their synthesis and

accumulation are varying with grapevine variety, growing conditions, viticultural and winemaking practices. During wine aging, polyphenols undergo significant degradation due to various chemical reactions in which they are involved.

Considering the vital role of polyphenols in wine stability and sensory characteristics, the following research hypotheses were formulated: a) different timings of partial defoliation in the grape cluster zone significantly affect the polyphenol content in grapes during ripening under the conditions of northern Dalmatia, for the varieties 'Merlot', 'Syrah', and 'Cabernet Sauvignon', (2) the timing of defoliation significantly influences the polyphenol composition of grapes at full maturity, as well as the polyphenol composition of the resulting wine after vinification, across all studied varieties, (3) the stability of polyphenols in wine during aging depends on the timing of partial defoliation.

Overview of the Previous Research section: In this section the basic polyphenolic compounds in grapes and wine are described and their importance in the formation of the sensory properties of wine is highlighted. Leaf removal, as a common viticultural practice significantly affects the concentration of polyphenols in wine. Leaf removal can be carried out in different phenophases of grapevine development. The literature provides many examples of the impact of defoliation in the grapevine, which was carried out as a common viticultural practice for faster and better ripening of grapes. Due to the impact of climate change, leaf removal has recently been increasingly practiced in earlier phases, immediately before flowering or during flowering. In this way, the yield can be regulated, the bunches become looser, less susceptible to diseases. The results showed that early leaf removal increased the accumulation of total polyphenols, particularly anthocyanins, in red grape varieties. Enhanced light exposure stimulated the biosynthesis of flavonoids and improved skin thickness, which contributes to better polyphenolic extraction during maceration. Additionally, grapes from defoliated vines exhibited higher sugar levels and lower acidity, improving overall fruit ripeness. Wines produced from these grapes has a better color intensity and greater phenolic stability over time.

Material and Methods section: The research was conducted over two consecutive years (2015 and 2016) on the grape varieties 'Merlot', 'Syrah' and 'Cabernet Sauvignon', in the vineyard of the University Estate Baštica, University of Zadar, located 20 km north of Zadar (Dalmatia region). Partial leaf removal of 4-6 basal leaves was carried out during flowering and during véraison and both treatments were compared with the control. The beginning of the main phenophases was determined visually. The harvest date was determined by measuring the soluble solids, total acids and pH, and harvest began when soluble solids were above 80 °Oechsle. Weather conditions (temperature and precipitation) were obtained by the Croatian Meteorological and Hydrological Service (Weather station Benkovac) which is 25 km away. All variants were separately vinified using standard oenological procedures. 2 months after alcoholic fermentation, the wines were bottled, stored and matured in cellar conditions. The wines were analyzed immediately after bottling, and then after 6 months and one year, in order to determine the impact of leaf removal on the polyphenolic composition of the wine during aging.

The results: The results are presented in three distinct segments, in accordance with the initial hypotheses. Partial leaf removal significantly affected polyphenol accumulation during grape ripening. Early leaf removal at flowering significantly increased the content of total anthocyanins during grape ripening in 'Merlot' (2015), as well as in 'Syrah' and 'Cabernet Sauvignon' in both experimental years. In addition, early defoliation enhanced the accumulation of total flavonols during ripening in all three cultivars in both years, with the exception of 'Cabernet Sauvignon' in 2016. Defoliation treatments significantly influenced the final concentrations of total anthocyanins and total flavonols at full grape maturity in all three cultivars across both years, with the magnitude of the response depending on the timing of defoliation. The effect of defoliation timing on polyphenol stability in wine during aging, varied among cultivars and was strongly influenced by the climatic conditions of the growing season. The concentration of anthocyanins decreased in all wines during aging, and their degradation ranged from 36% to as high as 90%, but anthocyanins concentration was generally higher in wines produced from defoliated grapes, with the exception of 'Merlot' and 'Cabernet Sauvignon' wines in 2015. A similar trend was observed for total proanthocyanidins, while for other groups of polyphenolic compounds, the effects of defoliation were significant but cultivar and year dependent.

Discussion: Results obtained from this research revealed the importance of applying common viticultural practices, in this case leaf removal, on the polyphenolic composition of grapes and wine. Due to increasingly warm years and the impact of high temperatures on reducing the concentration of anthocyanins, but also other polyphenolic compounds in grapes, the implementation of late defoliation during the grape harvest loses its advantages compared to early defoliation. Early leaf removal positively affects red wine quality by increasing the concentration of polyphenols in grapes and wine. Early leaf removal does not affect the stability of polyphenols in wine during aging. The stability of polyphenols during aging is probably more affected with other factors, such as wine storage conditions, cultivars, but also the different reactions that anthocyanins undergo during wine aging

Conclusion: Leaf removal treatments remain important viticultural practices for red grape and wine production. Despite the fact that leaf removal treatments increased the concentration of polyphenolic compounds in grapes and wine, this is not reflected in their stability in wine. The stability of polyphenolic compounds during aging of varieties included in this study shows that leaf removal treatment itself can.

Given the importance of polyphenolic compounds in wine, and their influence on the quality and stability of wine, future studies should focus on how preserve higher concentrations of polyphenols obtained by leaf removal treatments in red wines during aging.

Keywords: red wine, phenolic compounds, leaf removal, wine aging, phenolic stability

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.2. Hipoteze i ciljevi istraživanja	5
2. PREGLED RELEVANTNE LITERATURE	6
2.1. Polifenolni spojevi u grožđu i vinu	6
2.1.1. Flavonoidi	10
2.1.1.1. Flavan-3-oli (flavanoli)	11
2.1.1.2. Flavonoli	13
2.1.1.3. Antocijani	15
2.1.2. Neflavonoidi.....	18
2.1.2.1. Fenolne kiseline	18
2.1.2.1.1. Hidroksibenzojeve kiseline	19
2.1.2.1.2. Hidroksicimetne kiseline	20
2.1.2.2. Stilbeni	21
2.2. Defolijacija.....	22
3. MATERIJALI I METODE RADA	29
3.1. Materijali.....	29
3.1.1. Sorte u pokusu	29
3.1.1.1. 'Merlot' (<i>Vitis vinifera</i> L.)	29
3.1.1.2. 'Syrah' (<i>Vitis vinifera</i> L.)	30
3.1.1.3. 'Cabernet Sauvignon' (<i>Vitis vinifera</i> L.)	31
3.1.2. Podloga u pokusu.....	32
3.1.3. Pokusni vinograd	33
3.1.4. Meteorološki podaci u dvije istraživane godine	35
3.1.4.1. Temperatura zraka.....	35
3.1.4.2. Količina i raspored oborina	37

3.1.4.3. Insolacija.....	39
3.2. Metode.....	40
3.2.1. Postavljanje pokusa	40
3.2.2. Termini provedbe defolijacije i berbe.....	43
3.2.3. Osnovne fizikalno-kemijske analize mošta i vina	44
3.2.4. Određivanje polifenolnih spojeva primjenom HPLC uz UV/VIS PDA detekciju	45
3.2.4.1. Identifikacija i kvantifikacija polifenolnih spojeva.....	46
3.3. Statistička obrada podataka	47
4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA	48
4.1. Utjecaj djelomične defolijacije na osnovne fizikalno-kemijske parametre u grožđu tijekom dozrijevanja.....	48
4.2. Utjecaj tretmana djelomične defolijacije na nakupljanje i sadržaj antocijana tijekom dozrijevanja grožđa	54
4.3. Utjecaj tretmana djelomične defolijacije na nakupljanje i sadržaj flavonola tijekom dozrijevanja grožđa	68
4.4. Utjecaj djelomične defolijacije na sadržaj antocijana i ostalih fenola u vinu	77
4.4.1. Utjecaj defolijacije na početni sadržaj i stabilnost antocijana tijekom dozrijevanja vina.....	77
4.4.2. Utjecaj defolijacije na početni sadržaj i stabilnost ostalih fenola u vinu	84
4.4.2.1. Utjecaj defolijacije na sadržaj ukupnih fenolnih kiselina i ukupnih proantocijanidina.....	84
4.4.2.2. Utjecaj defolijacije na sadržaj ukupnih flavan-3-ola i ukupnih flavonola.....	88
5. RASPRAVA	91
5.1. Utjecaj meteoroloških prilika na provedbu defolijacije i početak berbe	91
5.2. Utjecaj djelomične defolijacije na osnovne fizikalno-kemijske parametre u grožđu tijekom dozrijevanja.....	93
5.3. Utjecaj djelomične defolijacije na sadržaj antocijana u grožđu tijekom dozrijevanja te njihov sadržaj u vinu.....	94
5.4. Utjecaj djelomične defolijacije na sadržaj flavonola i ostalih polifenola u grožđu tijekom dozrijevanja i njihov sadržaj u vinu	97

5.5. Stabilnost polifenola tijekom dozrijevanja vina.....	99
6. ZAKLJUČCI.....	104
7. POPIS LITERATURE.....	106
8. ŽIVOTOPIS.....	120

Popis tablica

Tablica 1. Datumi provođenja defolijacije u 2015. i 2016. godini

Tablica 2. Vrijeme berbe grožđa 2015. i 2016. godine

Tablica 3. Gradijent za HPLC-UV/VIS/PDA analizu fenolnih spojeva (Zorić i sur., 2014)

Tablica 4. Utjecaj djelomične defolijacije na osnovne analitičke parametre grožđa sorte 'Merlot' u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja, u dvije godine istraživanja (2015.–2016.)

Tablica 5. Utjecaj djelomične defolijacije na osnovne analitičke parametre grožđa sorte 'Syrah' u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja, u dvije godine istraživanja (2015.–2016.)

Tablica 6. Utjecaj djelomične defolijacije na osnovne analitičke parametre grožđa sorte 'Cabernet Sauvignon' u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja, u dvije godine istraživanja (2015.–2016.)

Tablica 7. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih antocijana u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Merlot' u 2015. godini

Tablica 8. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih antocijana u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Merlot' u 2016. godini

Tablica 9. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih antocijana u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Syrah' u 2015. godini

Tablica 10. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih antocijana u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Syrah' u 2016. godini

Tablica 11. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih antocijana u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte sorte 'Cabernet Sauvignon' u 2015. godini

Tablica 12. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih antocijana u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Cabernet Sauvignon' u 2016. godini

Tablica 13. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih flavonola u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Merlot' u 2015. godini

Tablica 14. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih flavonola u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Merlot' u 2016. godini

Tablica 15. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih flavonola u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Syrah' u 2015. godini

Tablica 16. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih flavonola u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Syrah' u 2016. godini

Tablica 17. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih flavonola u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Cabernet Sauvignon' u 2015. godini

Tablica 18. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih flavonola u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Cabernet Sauvignon' u 2016. godini

Tablica 19. Utjecaj tretmana defolijacije na sadržaj antocijana u vinu sorte 'Merlot' neposredno nakon vinifikacije, te nakon dozrijevanja 6 mjeseci i 12 mjeseci u 2015. i 2016. godini

Tablica 20. Utjecaj tretmana defolijacije na sadržaj antocijana u vinu sorte 'Syrah' neposredno nakon vinifikacije, te nakon dozrijevanja 6 mjeseci i 12 mjeseci u 2015. i 2016. godini

Tablica 21. Utjecaj tretmana defolijacije na sadržaj antocijana u vinu sorte 'Cabernet Sauvignon' neposredno nakon vinifikacije, te nakon dozrijevanja 6 mjeseci i 12 mjeseci u 2015. i 2016. godini

Tablica 22: Utjecaj tretmana defolijacije na sadržaj ukupnih fenolnih kiselina i ukupnih proantocijanidina u vinima sorata 'Merlot', 'Syrah' i 'Cabernet Sauvignon' neposredno nakon vinifikacije, te nakon dozrijevanja 6 mjeseci i 12 mjeseci u 2015. i 2016. godini

Tablica 23: Utjecaj tretmana defolijacije na sadržaj ukupnih flavan-3-ola i ukupnih flavonola u vinima sorata 'Merlot', 'Syrah' i 'Cabernet Sauvignon' neposredno nakon vinifikacije, te nakon dozrijevanja 6 mjeseci i 12 mjeseci u 2015. i 2016. godini

Popis grafikona

Grafikon 1. Srednje mjesečne temperature zraka u vegetaciji, klimatološka meteorološka postaja Benkovac, 2015. i 2016. godina

Grafikon 2. Suma efektivnih temperatura u vegetaciji, klimatološka meteorološka postaja Benkovac, 2015. i 2016. godina

Grafikon 3. Količina oborina u vegetaciji, klimatološka meteorološka postaja Benkovac, 2015. i 2016. godina

Grafikon 4. Suma sijanja sunca, glavna meteorološka postaja Zadar, 2015. i 2016. godina

Grafikon 5. Sadržaj ukupnih antocijana u kožici sorte 'Merlot', u 2015. godini tijekom dozrijevanja kod različitih tretmana defolijacije

Grafikon 6. Sadržaj ukupnih antocijana u kožici sorte 'Merlot', u 2016. godini tijekom dozrijevanja kod različitih tretmana defolijacije

Grafikon 7. Sadržaj ukupnih antocijana u kožici sorte 'Syrah', u 2015. godini tijekom dozrijevanja kod različitih tretmana defolijacije

Grafikon 8. Sadržaj ukupnih antocijana u kožici sorte 'Syrah', u 2016. godini tijekom dozrijevanja kod različitih tretmana defolijacije

Grafikon 9. Sadržaj ukupnih antocijana u kožici sorte 'Cabernet Sauvignon', u 2015. godini tijekom dozrijevanja kod različitih tretmana defolijacije

Grafikon 10. Sadržaj ukupnih antocijana u kožici sorte 'Cabernet Sauvignon', u 2016. godini tijekom dozrijevanja kod različitih tretmana defolijacije

Popis slika

Slika 1: Strukturne formule polifenola u vinu (Izvor: Rastija i sur., 2016)

Slika 2. Smještaj polifenola u različitim tkivima bobice grožđa (Izvor: Tomaz, 2016)

Slika 3. Položaj vinograda i čestica na kojoj je proveden pokus (ARKOD preglednik)

Slika 4. Defolijacija u cvatnji (a-prije defolijacije; b-nakon defolijacije)

Slika 5. Defolijacija u šari (a-prije defolijacije; b-nakon defolijacije)

Slika 6: Priprema uzoraka za ekstrakciju i ekstrakcija

1. UVOD

Vinova loza se smatra najrasprostranjenijom voćnom vrstom u svijetu, koja se uzgaja na gotovo svim kontinentima (osim Antartike) u područjima unutar umjerenog klimatskog pojasa u kojima su jasno definirana četiri godišnja doba (Maletić i sur., 2008). Sukladno tome vinogradarstvo i vinarstvo se smatraju značajnim gospodarskim granama širom svijeta. Prema podacima O.I.V.-a u 2024. godini ukupna površina pod vinogradima u svijetu je iznosila 7,1 milijun hektara, proizvodnja grožđa u istoj godini je bila 77,7 milijuna tona, a proizvedeno je 226 milijuna hektolitara vina (OIV, 2024). S obzirom na tako veliku konkurentnost na tržištu, proizvođači teže poboljšanju kvalitete vina i prepoznatljivosti, prvenstveno sadnjom visokokvalitetnih sorti grožđa. Sjeverna Dalmacija, naročito područje Ravnih Kotara, godinama je bilo prepoznatljivo kao vinogradarsko područje u kojem nije bilo značajnih proizvođača vina. U posljednjih nekoliko godina, područje Ravnih Kotara sve više postaje prepoznatljivo po visokokvalitetnim crnim vinima te se razina kvalitete vina značajno podigla zahvaljujući obnovi postojećih vinograda sadnjom introduciranih sorata među kojima prednjače 'Merlot', 'Syrah' i 'Cabernet Sauvignon'.

'Merlot', 'Syrah' i 'Cabernet Sauvignon' su među najznačajnijim sortama za proizvodnju visokokvalitetnih crnih vina podrijetlom iz Francuske koje su zbog svojih pozitivnih karakteristika introducirane u brojna vinogradarska područja svijeta, a u posljednje vrijeme značajnije površine s ovim sortama podignute su i na području sjeverne Dalmacije.

Na kvalitetu grožđa i rast vinove loze utječe niz čimbenika, od kojih je najvažniji genotip vinove loze, ali i brojni abiotički čimbenici poput temperature, sunčeve svjetlosti, primijenjene ampelotehnike i sl. (Rienth i sur., 2021). Primjena modernih tehnologija uzdržavanja tla, ali i kontrola populacije bolesti i štetnika vinove loze, često se povezuje s intenzivnim vegetativnim rastom vinove loze. Bujan rast može negativno utjecati na prirodu i kvalitetu grožđa, ali i povećanu pojavu te težu kontrolu bolesti i štetnika. Temperatura zraka i svjetlost su glavni faktori koji utječu na biokemijske procese tijekom dozrijevanja grožđa (Tarara i sur., 2008; Spayd i sur., 2002).

Grožđe koje je slabo izloženo sunčevoj svjetlosti uglavnom ima usporeno dozrijevanje koje prati manji sadržaj šećera te viša ukupna kiselost u odnosu na grožđe koje je izloženije sunčevoj svjetlosti (Spayd i sur., 2002). Osim pozitivnog utjecaja na osnovne kemijske parametre, umjerena izloženost sunčevoj svjetlosti povoljno utječe i na sintezu fenolnih spojeva, prvenstveno na sintezu antocijana, ali i stilbena, flavonola te hlapivih spojeva koji direktno utječu na aromu vina (Diago i sur., 2012b).

Na kvalitativni sastav grožđa, mošta i vina mogu značajno utjecati i provedeni agrotehnički i ampelotehnički zahvati u vinogradu. U posljednje vrijeme proizvođači grožđa i vina se osim konkurentnosti na tržištu, suočavaju s drugim problemima među kojima su možda najznačajnije klimatske promjene popraćene ekstremnim vremenskim događanjima poput suša ili ekstremnih količina oborina, a sve kao posljedica globalnog zatopljenja. Posljedice klimatskih promjena vidljive su kroz pojavu vrlo visokih temperatura u vrijeme dozrijevanja grožđa što rezultira nakupljanjem visokog sadržaja šećera u grožđu, ranije dozrijevanje i berbu grožđa te manji sadržaj ukupne kiselosti (Jones i sur., 2005). Kako bi se ublažili problemi uzrokovani klimatskim promjenama pokušavaju se uvesti neki od modificiranih ampelotehničkih i agrotehničkih zahvata među kojima je i provedba djelomične defolijacije (Pallioti i sur., 2013). Iako provedba djelomične defolijacije uglavnom ima pozitivne učinke, svakako je treba oprezno primjenjivati u optimalnom terminu i intenzitetu. Djelomičnom defolijacijom tj. uklanjanjem nekoliko bazalnih listova u zoni grožđa omogućuje se bolja prozračnost trsa i cirkulacija zraka, a istovremeno se grožđe izlaže suncu te se na taj način poboljšavaju njegova svojstva (Bledsoe i sur., 1988; Di Profio i sur., 2011b). Defolijacija se može provoditi u različitim fenofazama razvoja vinove loze. Zbog porasta temperature i povećanja sunčeve svjetlosti u fenofazi šare, primjena kasne defolijacije u toj fenofazi se sve manje primjenjuje, jer visoka temperatura i osvjetljenje u fazi dozrijevanja grožđa mogu uzrokovati ožegotine na bobicama, ali i inhibiraju sintezu fenolnih spojeva te značajno utječu na aromatski potencijal vina. Iz tog razloga, vinogradari danas sve više istražuju i primjenu defolijacije u ranijim terminima kako bi se što više prilagodili te ublažili utjecaj klimatskih promjena. Primjenom djelomične defolijacije treba se postići optimalno izlaganje sunčevoj svjetlosti kako bi se proizvelo visokokvalitetno grožđe.

Provedbom djelomične defolijacije povećava se izloženost grozdova sunčevoj svjetlosti čime se značajno utječe na sintezu fenola u grožđu. Fenolni spojevi su u grožđu i vinu prisutni u relativno malim količinama, ali značajno utječu na senzorne karakteristike vina poput boje, astringencije i gorčine te o sadržaju fenolnih spojeva u vinu ovisi i potencijal vina za starenje (Hufnagel i Hofmann, 2008; Keller, 2010, Garcia i sur., 2023). Osim na senzorna svojstva vina, fenolni spojevi imaju jako izraženu antioksidacijsku aktivnost te time pozitivno utječu na zdravlje ljudi (Kanner i sur., 1994), ali i igraju važnu ulogu u obrambenim mehanizmima biljke protiv UV zračenja i brojnih patogena (Kennedy i sur., 2006; Downey i sur., 2006).

Prema kemijskoj strukturi fenolni spojevi se mogu podijeliti na neflavonoide (jedan fenolni prsten) i flavonoide (dva fenolna prstena). Najzastupljeniji neflavonoidi u grožđu i vinu su fenolne kiseline (hidroksicimetne i hidroksibenzojeve) i stilbeni (*trans-resveratrol*), a flavonoidi su flavonoli, flavan-3-oli (flavanoli) i antocijani (Ribéreau-Gayon i sur., 2000). Najveći udio polifenola je sadržan u sjemenkama, zatim u kožici bobice dok se najmanji dio nalazi u mesu bobice (Moreno i Peinado, 2012; Jagatić Korenika i sur., 2015).

Sinteza i nakupljanje fenolnih spojeva u grožđu jako ovisi o okolišnim faktorima prvenstveno o sunčevoj svjetlosti i UV zračenju koji značajno povećavaju sintezu flavonola i antocijana (Downey i sur., 2006). Temperatura utječe na ekspresiju gena koji su uključeni u sintezu flavonoida pa. Optimalne temperature (20°C-25°C) pogoduju sintezi antocijana, dok ekstremno visoke mogu imati suprotan učinak (Mori i sur., 2007). Vodni stres u umjerenoj mjeri potiče sintezu stilbena i flavonoida, dok jaki stres može imati negativan utjecaj (Ojeda i sur., 2001). Osim utjecaja okolišnih faktora, na sadržaj ukupnih fenola u grožđu i vinu utječu sorta, područje uzgoja vinove loze, provedeni ampelotehnički zahvati tijekom vegetacije te provedeni enološki postupci tijekom proizvodnje vina. Sadržaj ukupnih fenola u crnim vinima se kreće od 700 do 4060 mg/L (De beer i sur., 2002). Vrijednosti ukupnih fenola povećane su ako je loza tijekom vegetacije bila izložena stresnim uvjetima (Jagatić Korenika i sur., 2015).

Tijekom starenja vina, polifenoli podliježu brojnim promjenama koje utječu na boju, strukturu, ali i stabilnost vina. Antocijani su u slobodnom obliku relativno nestabilni,

no tijekom vremena reagiraju s taninima i drugim spojevima, stvarajući stabilnije pigmente (Monagas i sur., 2005; Zhang i sur., 2015a). Tanini oksidiraju i polimeriziraju, što smanjuje astringentnost i utječe na harmoničnost okusa (Kennedy i sur., 2006). Resveratrol i drugi stilbeni koji su poznati po svojim zdravstvenim učincima, osjetljivi su na oksidaciju, pH i svjetlost, pa se njihov sadržaj smanjuje tijekom odležavanja vina (Bautista-Ortin i sur., 2006).

S obzirom na značajan utjecaj fenolnih spojeva na senzorna svojstva vina, kontinuirano se istražuju postupci koji bi omogućili njihovu bolju stabilnost i očuvanje vinu tijekom dozrijevanja. Provedeno istraživanje i dobiveni rezultati dati će nove informacije o utjecaju djelomične defolijacije, provedene u različitim terminima, na sintezu i nakupljanje fenolnih spojeva u grožđu tijekom dozrijevanja, kao i njihovu stabilnost u vinima tijekom starenja.

1.2. Hipoteze i ciljevi istraživanja

Temeljem dosadašnjih istraživanja i dobivenih podataka poznato je kakav je utjecaj rane defolijacije na sadržaj i sastav polifenola u grožđu, ali ne postoji dovoljno podataka o tome kako promjene i sadržaj polifenola u grožđu, uvjetovana ranom defolijacijom utječe na njihovu stabilnost u vinu. Iz tog razloga postavljene su sljedeće hipoteze.

1. različiti termini djelomične defolijacije u zoni grožđa značajno utječu na sadržaj polifenola u grožđu tijekom dozrijevanja u uvjetima Sjeverne Dalmacije kod sorata 'Merlot', 'Syrah' i 'Cabernet Sauvignon'
2. različiti termini defolijacije značajno utječu na polifenolni sastav grožđa u punoj zrelosti te na polifenolni sastav vina nakon vinifikacije kod svih istraživanih sorata
3. stabilnost polifenola u vinima tijekom dozrijevanja ovisi o terminu djelomične defolijacije

Ciljevi istraživanja su:

1. utvrditi razlike u sadržaju polifenola u grožđu tijekom dozrijevanja ovisno o terminu djelomične defolijacije kod sorata 'Merlot', 'Cabernet Sauvignon' i 'Syrah'
2. utvrditi razlike u sadržaju polifenola u grožđu u punoj zrelosti i vinima nakon vinifikacije kod istraživanih sorata ovisno o terminu djelomične defolijacije
3. utvrditi stabilnost polifenola u vinima predmetnih sorata tijekom dozrijevanja ovisno o terminu djelomične defolijacije

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Fenolni spojevi u grožđu i vinu

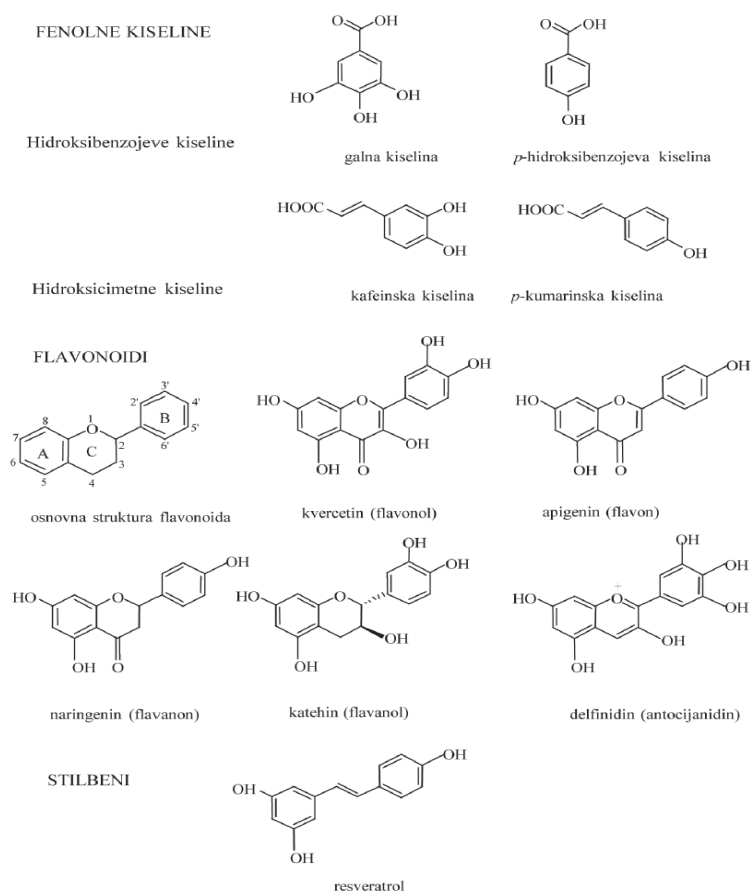
Fenoli predstavljaju važnu veliku skupinu kemijski različitih spojeva koji su jako rašireni u biljnom svijetu. Oni su najrašireniji sekundarni metaboliti u biljnom svijetu. Do sada je istraženo oko 8000 različitih fenolnih struktura koje su podijeljene u nekoliko podskupina ovisno o broju fenolnih prstena i drugih spojeva vezanih na osnovnu jedinicu (Zhang i sur., 2015a). Fenolni spojevi su u grožđu i vinu prisutni u relativno malim količinama, ali imaju značajan utjecaj na senzorne karakteristike vina kao što su boja, okus, astringencija i gorčina (Hufnagel i Hofmann, 2008; Keller, 2010). Upravo su polifenoli spojevi po kojima se razlikuju bijela i crna vina, dok sam tip i stil vina ovisi o sadržaju i sastavu polifenolnih spojeva (Ribéreau-Gayon i sur., 2000). Crno grožđe u pravilu sadrži između 2 i 11 g/L ukupnih polifenola, od toga se u vinu nalazi otprilike 50 % , odnosno između 0,6 i 4 g/L dok je u bijelim vinima ta brojka i znatno niža i iznosi od 0,01 do 0,4 g/L (Herjavec, 2019). Osim značajnog utjecaja na senzorna svojstva vina, polifenoli utječu na fizikalno-kemijsku stabilizaciju vina, a djelom utječu i na procese biološke stabilizacije vina (Herjavec, 2019). Procjenjuje se kako oko 2% ugljika asimiliranog tijekom procesa fotosinteze, biljka prevodi upravo u polifenolne spojeve. Uloga fenolnih spojeva u biljkama je višestruka, od uloge u rastu, oplodnji i razmnožavanju do sudjelovanja u raznim obrambenim reakcijama. Fenolni spojevi imaju izrazitu antioksidacijsku aktivnost te samim time imaju pozitivan utjecaj na ljudsko zdravlje (Kanner i sur., 1994), apripisuju antibakterijska, protuupalna, antialergijska, antimutagena, antivirusna i antikancerogena svojstva (Herjavec, 2019). Najveći dio fenolnih spojeva u vinu potječe iz grožđa iz kojeg se ekstrahiraju tijekom procesa vinifikacije (Stavridou i sur., 2016), dok manji dio može nastati djelovanjem mikroorganizama, metabolizmom kvasaca ili u fazi dozrijevanja vina, ekstrakcijom iz drvenih bačava (Ribéreau-Gayon i sur., 2000; Kennedy, 2008). Sadržaj fenola u vinu ovisi o nizu različitih faktora kao što su sorta grožđa (biološki potencijal za sintezu polifenola), stupanj zrelosti, ekološki uvjeti uzgoja vinove loze, primijenjeni agrotehnički zahvati u vinogradu, ali i o primijenjenoj tehnologiji proizvodnje vina te uvjetima fermentacije

(duljina trajanja maceracije) i dozrijevanja (Garrido i Borges, 2013; Adams, 2006; Downey i sur., 2006). Položaj vinograda jedan je od važnih čimbenika koji utječe na sadržaj polifenola u grožđu. Dobro osunčani položaji u relativno suhoj klimi rezultiraju grožđem koji sadrži veće količine polifenola (Bergqvist i sur., 2001). Također, kvaliteta grožđa je izuzetno važan čimbenik pri određivanju sadržaja polifenola u vinu. Kvalitetnije grožđe ima manje grozdove koji onda sadrže veći udio kože, dok manje kvalitetno grožđe ima veće i mesnatije bobice. Vino koje je proizvedeno od kvalitetnijeg grožđa sadrži veću količinu polifenola izlučenih iz kože bobica (Burns i sur., 2001). Na povećanje sadržaja polifenola u vinu veliki utjecaj ima duljina i trajanje maceracije. Rossi i sur. (2020) su potvrdili tezu da produljenjem trajanja maceracije proporcionalno raste i sadržaj ukupnih fenola. Uz sve navedene čimbenike, najvažniji utjecaj na sadržaj polifenola u grožđu ipak ima genotip, odnosno sorta (Castillo-Munoz i sur., 2007). Na sastav polifenola može utjecati i sastav tla, tj. primjenjena gnojidba. Dušična gnojiva, za razliku od kalijevih, smanjuju nakupljanje polifenola u kožici grožđa (Delgado i sur., 2004).

Po osnovnoj strukturi fenoli imaju aromatski prsten (fenolni, benzenov) sa šest atoma ugljika te s jednom ili više hidroksilnih skupina (OH) ili derivata osnovne strukture. Obzirom na izrazito složenu građu, fenoli su podijeljeni u brojne skupine i podskupine upravo po broju sadržanih fenolnih prstenova (Lattanzio, 2013).

U grožđu i vinu zastupljene su dvije glavne skupine fenolnih spojeva koji utječu na brojne senzorne karakteristike vina : flavonoidi i neflavonoidi. Neflavonoidi su jednostavnije građe i imaju jedan fenolni prsten, dok flavonoidi imaju dva fenolna prstena međusobno povezana lancem od tri ugljikova atoma. Neflavonoidi u grožđu i vinu su fenolne kiseline (hidroksibenzojeve i hidroksicimetne) i stilbeni. Skupinu flavonoida predstavljaju flavonoli, flavan-3-oli (flavanoli) i antocijani (Ribéreau-Gayon i sur., 2000; Jackson, 2008). Osnovnu strukturu flavonoida čini difenolpropanski kostur (C6-C3-C6) (Slika1). Sastoji se od dva fenolna prstena (A i B prsten) koji su međusobno povezani preko heterocikličkog piranskog prstena (C prsten). Skupine flavonoida se međusobno razlikuju prema razlici u stupnju oksidacije i prema supstituciji C prstena. Za flavan-3-ole je karakterističan zasićeni C prsten. Keto skupina na 3 položaju 4 te nezasićenost između položaja 2 i 3 specifična je za flavonole, dok antocijani imaju potpuni aromatski prsten s pozitivnim nabojem. Ukoliko je C prstenu supstituent alkohol, polifenoli dobivaju nastavak –ol,

kao na primjer kod flavan-3-ola (Waterhouse, 2006). Biokemijski put nastanka svih fenolnih spojeva u vinu je jako sličan. Mogu se sintetizirati acetatnim putem ili putem šikiminske kiseline, a početni spoj na tom putu je aminokiselina fenilalanin (Adams, 2006; Kennedy, 2008; Paixao i sur., 2007). Kako bi se karakterizirale sorte vinove loze do nedavno su se koristila morfološka i gospodarska obilježja, ali na mnoga od njih značajan utjecaj imaju okolišni uvjeti. Iz tog razloga pri karakterizaciji su se počeli koristiti mnogi biokemijski i molekularni biljezi. Jedan od njih su i fenolni spojevi iz grožđa koji se koriste kao kemotaksonomski biljezi pri karakterizaciji sorti vinove loze (Castillo-Muñoz i sur., 2007). Na slici 1. prikazane su različite strukture fenolnih spojeva u vinu.

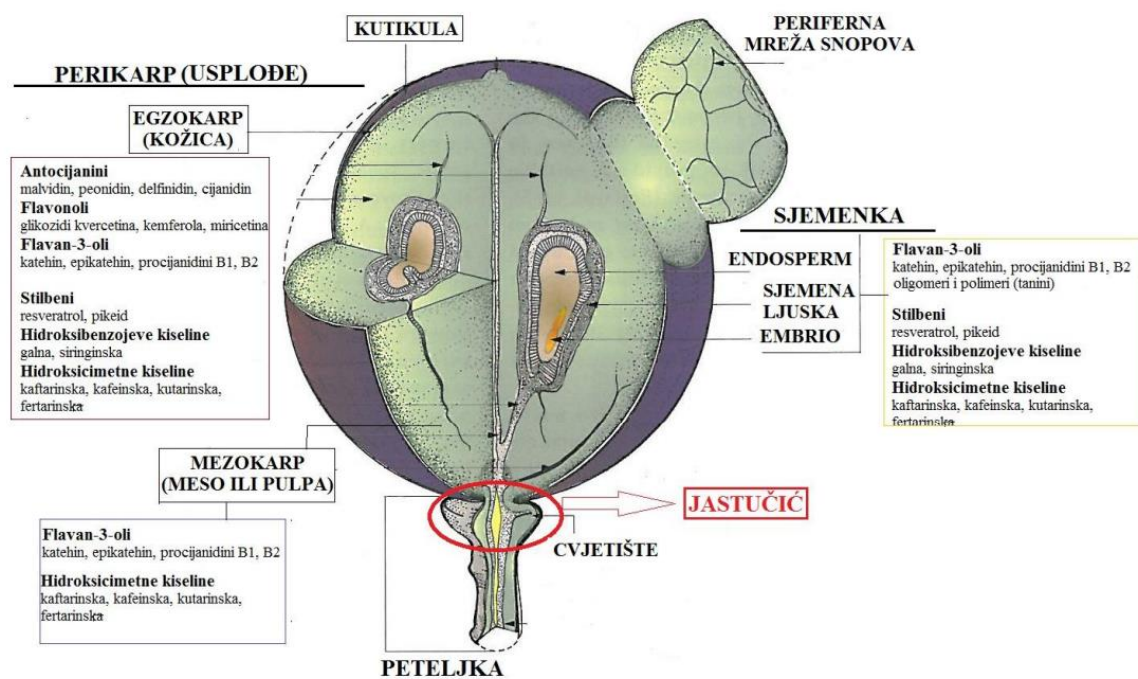


Slika 1. Strukturne formule fenola u vinu (Izvor: Rastija i sur., 2016)

Fenolni spojevi su prisutni u različitim dijelovima grozda. Oko 62 % fenolnih spojeva sadrži sjemenka. Stanice kožice sadrže oko 33 %, a najmanje fenola ima sok (oko 4%) te meso bobice (oko 1%) (Herjavec, 2019). Kožica bobice sastoji se od tri sloja: vanjski sloj ili kutikula, središnji sloj ili epiderma i unutrašnji sloj ili hipoderma. Upravo je većina polifenola kožice smještena upravo u hipodermi. Polifenoli u

hipodermalnom sloju, ovisno o strukturi i sastavu, mogu biti u slobodnom obliku u vakuolama ili citoplazmi (antocijani, flavonoli, monomeri i dimeri flavan-3-ola) ili mogu biti vezani uz staničnu stijenku (fenolne kiseline i flavan-3-oli). Zbog svojih bioloških i organoleptičkih svojstava, antocijani, flavonoli i stilbeni igraju ključnu ulogu u kvalitetni vina, a ekstrakti grožđa se koriste kao izvori prirodnih spojeva u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji (Lattanzio, 2013).

Tijekom procesa vinifikacije, u vino se izlučuju polifenolne tvari iz kože bobice, sjemenki i mesa bobica, te iz peteljke grožđa (Rastija i sur., 2016). Na Slici 2. prikazan je smještaj polifenolnih spojeva u različitim tkivima bobice grožđa. Neflavonoidni spojevi su uglavnom smješteni u mesu, a flavonoidni u kožici, sjemenkama i peteljci (Paixao i sur., 2007).



Slika 2. Smještaj polifenola u različitim tkivima bobice grožđa (Izvor: Tomaz, 2016)

Tijekom razvoja bobice raste sadržaj fenolnih spojeva u grožđu. U prvim fazama razvoja bobice, od zametanja pa sve do šare raste sadržaj tanina i hidroksicimetnih kiselina (Downey i sur., 2003a; Kennedy i sur., 2002). Nakupljanje antocijana započinje u šari, raste tijekom dozrijevanja grožđa dok u kasnim fazama razvoja bobice njihov sadržaj čak može i opadati (Kennedy i sur., 2002). Antocijani su

najbrojniji pigmenti u crnim vinima i nosioci boje, a zbog sposobnosti polimerizacije s taninima značajni su i za stabilnost boje crnih vina (Robinson 2006., Gómez-Míguez i Hereida, 2004; Kennedy, 2008). Osim što postoji razlika u ukupnoj količini polifenolnih spojeva između bijelih i crnih vina, velika razlika postoji i u zastupljenosti pojedinih polifenolnih spojeva. U bijelim vinima najvažnije su hidroksicimetne kiseline koje sudjeluju u definiranju kakvoće bijelih vina jer su supstrat za oksidaciju i prekursori smeđenja (Kennedy, 2008). Polifenoli i fenolne kiseline igraju važnu ulogu u određivanju organoleptičkih svojstva vina zbog toga se njihov sadržaj i sastav često koristi pri određivanju kvalitete neke sorte (Tomaz, 2016).

2.1.1. Flavonoidi

Fenolni spojevi čija je osnovna struktura difenilpropanski kostur sačinjen od dva dihidroksilna (fenolna) benzenska prstena koja su međusobno povezana propanskim lancem od tri atoma ugljika nazivaju se flavonoidi. Flavonoidi mogu biti slobodni ili se mogu vezati sa drugim flavonoidima, neflavonoidima ili šećerima u polimere. Najvećim djelom se sintetiziraju u endoplazmatskom retikulumu prije premještanja i pohranjivanja u vakuolu stanice. Smatra se da je glavna uloga flavanoida u grožđu, ali i u drugim biljkama obrambena, tj. štiti biljku od mikrobnih patogena, štetnih insekata i biljojeda (Jackson, 2008). Najveći sadržaj flavanoida u grožđu je u vrijeme cvatnje, a rastom bobica njihov sadržaj se smanjuje (Garrido i Borges, 2013). Uglavnom su smješteni u kožici i sjemenkama, nešto rjeđe u mesu bobice, te imaju značajan utjecaj na strukturu i boju vina, ali i na potencijal vina za dozrijevanje. Flavonoidi čine većinu polifenola u crnim vinima, a u vino prelaze ekstrakcijom iz kožice i sjemenke pri procesu maceracije i fermentacije (Waterhouse, 2006). Ukupni sastav i sadržaj flavanoida ovisan je o genotipu vinove loze, dok okolišni uvjeti nemaju veliki utjecaj na njihovu koncentraciju u grožđu (Tomaz, 2016). Najzastupljeniji flavonoidi u grožđu su podijeljeni u tri skupine: flavan-3-ole (flavanoli), flavonole te antocijane.

2.1.1.1. Flavan-3-oli (flavanoli)

Flavan-3-oli su najzastupljeniji flavonoidi u grožđu i nalaze se gotovo u svim dijelovima bobice, ali najvećim djelom u sjemenci (Castellarin i sur., 2012), nazivaju se flavan-3-oli jer su hidroksilirani na položaju C3U grožđu su prisutni kao monomeri, oligomeri i polimeri. Najzastupljeniji monomeri u grožđu i vinu su (+) - katehin, izomer katehina (-) - epikatehin, a u nešto manjoj mjeri ima galatnog estera (-)-epikatehina (epikatehin-galat); te galokatehina (Kennedy i sur., 2006; Moreno-Arribas i Polo, 2009). Flavan-3-oli su u vinu odgovorni za osjet gorčine i astringencije (Kennedy i sur., 2006). Osnovni monomeri flavan-3-ola mogu se međusobno spajati u različitim kombinacijama i dati vrlo veliki broj različitih oligomernih i polimernih spojeva (Boulton i sur., 2001). Spajanjem katehina i epikatehina nastaju tanini kojimogu ići u reakciju s drugim polimerima poput polisaharida i na taj način se talože u vinu (Ribéreau-Gayon i sur., 2000; Moreno-Arribas i Polo, 2009). Zasjeňivanje grožđa utječe na povećanje sadržaja epikatehina, a smanjuje se sadržaj epigalokatehina (Cortell i Kennedy, 2006). Oligomeri koji nastaju reakcijom flavan-3-ola i proteina zovu se kondenzirani tanini, sintetiziraju se uglavnom u kožici i sjemenci bobice, za razliku od hidrolizirajućih koji uglavnom potječu iz drveta a najzastupljeniji među njima galotanini i elagitanini (Cheynier i sur., 2006). Oligomeri koji nastaju reakcijom flavan-3-ola i antocijanidina nazivamo proantocijanidini (procijanidini). Proantocijanidini zagrijavanjem u kiselom mediju otpuštaju antocijanidine (Moreno-Arribas i Polo, 2009). Kad se oligomer flavan-3-ola, flavan 3,4-diol spoji sa antocijanidinom nastaju laukoantocijanidini (Terrier, 2009). Ovisno o načinu povezivanja monomernih flavan-3-ola razlikujemo dva tipa proantocijanidina, tip A i tip B. Kod proantocijanidina tipa A monomerni flavan-3-oli se povezuju sa C4-C8; C4-C6, te C2=C7 i C2=C5 vezama, a kod tipa B monomeri se povezuju sa C4-C8 te C4-C6 vezama. Najveći dio proantocijanidina koje nalazimo u grožđu i vinu pripada procijanidinu i prodelfinidinu (Waterhouse i sur., 2006). Sadržaj proantocijanidina u kožici raste povećanjem izloženosti suncu (Downey i sur., 2003b; Cortell i Kennedy, 2006), dok vodni stres nema značajan utjecaj na sadržaj tanina u grožđu (Ojeda i sur., 2002; Kennedy i sur., 2002; Castellarin i sur., 2012). Dimere i trimere procijanidina nalazimo u sjemenki, kožici i peteljci vinove loze (Da Silva i sur., 1991), dok su u mesu bobice u tragovima pronađeni procijanidini B1 i B4 (Bourzeix i sur., 1986). Najviše flavan-3-ola nalazi

se u sjemenkama, i to u vakuolama sjemene opne, dok ih je manje u kožici i mesu (Adams, 2006; Downey i sur., 2006; Moreno-Arribas i Polo, 2009) iako je kod nekih sorti sadržaj flavanola u kožici veći nego u sjemenci (Mane i sur., 2007 b). Biosinteza flavanola u bobici kreće u različito vrijeme u sjemenkama i kožici. Smatra se da se glavna flavanola kožice sintetizira nekoliko tjedana nakon cvatnje (Kennedy i sur., 2002; Downey i sur., 2003b).

Pri definiranju kretanja sadržaja flavanola tijekom dozrijevanja postoje različita mišljenja. Fournand i sur. (2006) navode da je sadržaj flavanola konstantan tijekom dozrijevanja, dok su drugi autori utvrdili pad sadržaja monomera flavan-3-ola i proantocijanidina nakon šare (Kennedy i sur., 2002 ; Downey i sur., 2003b) , a porast (Kennedy i sur., 2002) ili pad proantocijanidina (Downey, 2003b). Za razliku od kožice, nakupljanje flavan-3-ola u sjemenki započinje kasnije i maksimalnu vrijednost postiže nekoliko tjedana nakon šare. Poslije toga sadržaj monomernih flavan-3-ola brzo pada uz povećanje sadržaja procijanidina (Downey i sur., 2003b). Na sadržaj i sastav flavanola u grožđu utječe niz čimbenika, a najznačajniji među njima su sorta (genotip), okolišni uvjeti, vinogradarska godina, rok berbe itd. (Rodríguez Montealegre i sur., 2006; Moreno-Arribas i Polo, 2009).

Ekstrakcija flavanola iz sjemenki u vino uvelike ovisi o načinu vinifikacije, tj. načinu i trajanju maceracije. Što je duže vrijeme trajanja maceracije, viša temperatura i viši alkohol to je i sadržaj flavanola u vinu veći (Terrier i sur., 2009). Tanini kožice se ekstrahiraju prije nego tanini sjemenke. Sadržaj flavanola u grožđu i vinu izražava se u različitim vrijednostima, te se zbog toga, ali i zbog načina ekstrakcije i različitim analitičkim protokolima u literaturi navode vrlo različite vrijednosti. Ukupan sadržaj flavanola se može izražavati u mg/kg svježeg ili sušenog grožđa ili g/bobici i sl. Sadržaj flavanola kod nekih bijelih sorata može ići od 9,7 mg/kg ('Viogner') do 97 mg/kg svježeg grožđa ('Traminac') ; a kod crnih od 40,8 mg/kg ('Syrah') do 96,3 mg/kg ('Merlot'), dok je ta vrijednost u sjemenkama puno veća i iznosi od 560 ('Viogner') do 1390 ('Rizling Rajnski') mg/kg kod bijelih sorti, a od 330 ('Cencibel') pa do 870 ('Merlot') mg/kg svježeg grožđa kod crnih sorti (Rodríguez Montealegre i sur., 2006). Osim ukupnog sadržaja flavanola, u literaturi se nalaze i podaci o masi tanina iz kožice i on može varirati od 1,76 g/kg bobice kod sorte 'Mourverde', do 3,15 g/kg bobice kod sorte 'Muškat hamburg' (Downey i sur., 2003; Fournand i sur., 2006; Souquet i sur., 2006). Neke sorte sadrže puno manje proantocijanidina u

sjemenci nego u kožici, poput sorte 'Maccabeo' (Souquet i sur., 2006), dok kod nekih poput 'Pinot crni' flavan-3-oli iz sjemenke čine 60 % ukupnih flavanola bobice (Mane i sur., 2007a). Veliki dio tanina koji se nalaze i u sjemenci i u kožici su polimeri proantocijanidina i međusobno se jako razlikuju u građi ovisno o smještaju unutar bobice. Tanini sjemenki imaju kraći lanac sastavljen od 4 do 20 podjedinica, i izgrađeni su od podjednakog broja katehinskih i epikatehinskih molekula (Downey i sur., 2003a); a tanini kožice su duži, izgrađeni od 25 do 100 podjedinica uglavnom epikatehinskih molekula (Kennedy i sur., 2002; Downey i sur., 2003b). Ako se molekule katehina i epikatehina nalaze u obliku monomera one daju osjet gorčine (Kennedy, 2008), a povećanjem stupnja polimerizacije, tj. povećavanjem dužine lanca, povećava se osjet trpkocće. I bijele i crne sorte otprilike nakupljaju slične količine flavan-3-ola, međutim zbog primijenjene tehnologije proizvodnje crnih vina, duže maceracije i fermentacije, kod crnih vina je zabilježen veći sadržaj flavan-3-ola nego kod bijelih vina (Singelton i Trousdale, 1992).

2.1.1.2. Flavonoli

Druga najzastupljenija skupina polifenola koja je smještena u kožici grožđa su flavonoli (Tomaz, 2016). Flavonoli su sekundarni metaboliti prisutni u skoro svim višim biljkama. Igraju važnu ulogu u kopigmentaciji, zajedno s antocijanima i korisni su markeri u taksonomiji grožđa te se smatraju bioaktivnim spojevima grožđa/vina od velike važnosti za ljudsko zdravlje i prehranu (Flamini i sur., 2013). Flavonoli su žuti pigmenti koji doprinose boji bijelih vina, a u crnim vinima ih prekriju antocijani. Međutim flavonoli indirektno utječu i na boju crnih vina jer procesom kopigmentacije konjugiraju s antocijanima, na taj način se povećava ekstrabilnost antocijana tijekom vinifikacije (Schwarz i sur., 2005) pa flavonoli povećavaju stabilnost i postojanost boje crnih vina (Castellarin i sur., 2012). Flavonol glikozidi mogu doprinijeti trpkocći vina (Rodríguez Montealegre i sur., 2006; Hufnagel i Hofman, 2008). Flavonoli su prisutni u kožici i kod crnih sorti i kod bijelih sorata, u manjim količinama pronađeni su u mesu bobica dok u sjemenkama nisu pronađeni (Rodríguez Montealegre i sur., 2006).

Sastav flavonola ovisan je o genotipu, međutim na njihov sadržaj osim genotipa utječu i okolišni čimbenici (Tomaz, 2016). Smatra se kako flavonoli djeluju kao UV-zaštitne tvari iz razloga jer snažno apsorbiraju UV-A i UV-B valne duljine, a njihova biosinteza direktno ovisi o osunčanosti grožđa (Downey i sur., 2006). Jedan od dokaza koliko sunčeva svjetlost ima utjecaj na biosintezu flavonola su istraživanja provedena zasjenjivanjem grožđa. Zasjenjeno grožđe je imalo znatno manji sadržaj flavonola od grožđa izloženog sunčevoj svjetlosti. Temperatura u tom slučaju je imala mali ili gotovo nikakav utjecaj na sadržaj flavonola (Price i sur., 1995; Spayd i sur., 2002; Downey i sur., 2006). Biosinteza flavonola u bobici započinje već tijekom cvatnje, ali glavina flavonola se ipak sintetizira nakon šare te nakon dozrijevanja bobica njihov sadržaj konstantno raste (Moreno-Arribas i Polo, 2009).

Flavonoli se u grožđu uglavnom nalaze kao 3-O-glikozidi, a u vinu ih kao posljedica kisele hidrolize možemo naći i kao slobodne aglikone. Najzastupljeniji flavonoli sintetizirani u bobicama crnog grožđa su kvercetin, miricetin, kemferol, laricitin, izoramnetin i siringetin, dok kod bijelih sorti grožđe sadrži samo kvercetin, kemferol te dosta niski sadržaj izoramnetina (Mattivi i sur., 2006). Dugo se smatralo da bijele sorte ne sadrže metilirane flavonole, međutim Rodríguez Montealegre i sur. (2006) su otkrili vrlo mali sadržaj izoramnetin-glukozida u kožici bijelih sorti. Bez obzira na dobivene rezultate, u nekim istraživanjima flavonoli laricitin i siringetin nisu pronađeni niti u grožđu niti u proizvodima od grožđa. U grožđu se flavonoli uglavnom nalaze u obliku glikozida, a uobičajen šećer koji se veže na C-3 poziciju navedenih flavonola je glukoza, dok ponekad na toj poziciji možemo naći i glukuronsku kiselinu (Ribéreau-Gayon, 2000).

Sadržaj flavonola u bobici ovisi o fenofazi razvoja, genetskom potencijalu sorte te o okolišnim uvjetima uzgoja vinove loze. Sadržaj flavonola se razlikuje kod bijelih i kod crnih sorata. Ukupan sadržaj flavonola u grožđu kreće se od 2 do 30 mg/kg kod bijelih sorata, te od 4 do 78 mg/kg bobice kod crnih sorata (Mattivi i sur., 2006). Rodríguez Montealegre i sur. (2006) dobili su znatno veće vrijednosti sadržaja flavonola u sortama pa su tako utvrdili vrijednosti od 170 mg/kg bobica kod sorte 'Vioignier' te 200 mg/kg bobica kod 'Syraha'. Sadržaj flavonola u crnim vinima iznosi do 100 mg/L, dok ih u bijelim vinima ima puno manje, svega 1-3 mg/L (Ribéreau-Gayon i sur., 2000). Razlog tome je što je u kožici crnog grožđa puno veći sadržaj flavonola, te je zbog načina vinifikacije puno veća ekstrakcija flavonola iz grožđa u

vino. Kod bijelih vina nema doticaja kožice s bobicom, te je iz tog razloga i sadržaj flavonola u bijelim vinima znatno manji.

2.1.1.3. Antocijani

Antocijani su glikozidi i acetilirani glikozidi antocijanidina, koji se međusobno razlikuju po broju hidroksilnih i metoksilnih skupina vezanih na njihovu osnovnu strukturu (Boss i Davies, 2009). U prirodi postoji više različitih antocijanidina, dok su u grožđu i vinu najzastupljeniji: cijanidin (narančasto crvena), pelargonidin (narančasto), delphinidin (plavo crvena), petunidin (plavo crvena), peonidin (crvena) te malvidin (plavo crvena) (Monagas i Bartolomé, 2009). Vezanjem šećera, najčešće glukoze, na aromatski prsten antocijanidina nastaju antocijani. Sorte vrste *V. vinifera* L. u kožici isključivo sadrže antocijane kod koji je glukoza vezana na trećem atomu ugljika tj. uglavnom su to 3-O-monoglukozidi ili 3-O-acilirani monoglukozidi najzastupljenijih antocijanidina (Castillo-Muñoz i sur., 2007). Osim glukoze u sastav antocijana mogu biti vezani galaktoza, ramnoza, arabinoza i ksiloza, gdje se onda na -OH skupinu šećera može vezati kafeinska, kumarinska i ferulinska kiselina (Boss i Davies, 2009). Zbog posebnosti vrste *Vitis vinifera* L. da tvori isključivo 3-O-monoglukozide to svojstvo se može koristiti pri determinaciji međuvrskih hibrida, jer druge vrste roda *Vitis*, imaju mogućnost tvorbe diglukozida te mogu vezati molekule šećera i na C-3 i na C-5 atomu (Faveretto i Flamini, 2000). Osim u hibridima diglukozidi se nalaze u američkim vrstama roda *Vitis* te se po prisutnosti diglukozida mogu razlikovati *Vitis vinifera* od američkih *Vitis* vrsta. Prema istraživanjima He i sur. (2010) diglukozidni antocijani su stabilniji, ali imaju slabiji intenzitet boje od monoglukozidnih antocijana. Antocijani su prisutni u crvenom, plavom i ljubičastom voću i cvijeću. Značajno utječu na mnoštvo bioloških procesa jer su najzastupljeniji flavonoidi. Antocijani štite biljke od prejakog djelovanja sunca i UV zračenja, skupljaju na sebe slobodne radikale, pojačavaju antioksidativni kapacitet te štite od brojnih patogenih organizama (He i sur., 2010). Antocijani su najveća grupa topivih pigmenata u prirodi, izvor su crvene boje pokožice grožđa i odgovorni za intenzivnu boju crnih vina. Ukoliko se antocijani nalaze u slobodnom (aglikonskom) obliku oni su poprilično nestabilni jer se pod utjecajem temperature, svjetlosti i drugih vanjskih čimbenika njihove molekule raspadaju ili talože. Iz tih

razloga je za postojanost boje crnih vina izuzetno važno da se antocijani nalaze u stabilnijim (glikozidnim) oblicima. Stabilnost antocijana može se postići na nekoliko načina. Kopigmentacijom ili polimerizacijom antocijana sa flavan-3-olima i procijanidinima stvaraju se novi pigmenti i polimerni antocijani koji značajno utječu na stabilnost boje vina (Boulton, 2001; Jackson, 2008; Boss i Davies, 2009). Stabilnost antocijana može se postići i acilacijom šećera (He i sur., 2010) jer ostatak šećera može biti aciliran s aromatskim ili alifatskim kiselinama na C-6 poziciji .

Antocijani kožice sintetiziraju se u epidermalnom tkivu, a skladište u vakuolama (Ribéreau-Gayon i sur., 2000). Osim u kožici bobice, kod sorata bojadisera antocijani se nalaze u mesu, te se u tom slučaju njihova sinteza odvija i u stanicama mezokarpa (Tomaz, 2016). Na nakupljanje antocijana u kožici crnog grožđa utječe niz agroekoloških čimbenika od kojih su najvažniji sorta, klima, uvjeti tla, uzgojni oblik i navodnjavanje, agrotehnički zahvati te prinos (Ryan i Revilla, 2003). Antocijani se nakupljaju u kožici bobica tijekom dozrijevanja grožđa, najviše nakon nastupa šare, dok je njihov sadržaj najveći u trenutku pune zrelosti (Ribéreau-Gayon i sur., 2000), a tada bi trebao biti i najveći sadržaj šećera u kožici. Nakon što sadržaj antocijana dosegne maksimum on može opadati u kasnijim fazama razvoja bobice (Kennedy i sur., 2006; Fournad i sur., 2006). Do smanjenja sadržaja antocijana u kasnijim fazama dozrijevanja bobice dolazi zbog usporavanja biosinteze, kemijske i enzimatske reakcije uzrokovane oksidacijskim stresom, ali i zbog pretvorbe slobodnih antocijana u derivirane pigmente u kožici (Vidal i sur., 2004, Kennedy i sur., 2002). Temperatura također ima značajan utjecaj na nakupljanje antocijana (Osrečak, 2016). Visoke temperature ($> 35\text{ }^{\circ}\text{C}$) utječu na smanjenje sinteze, a mogu uzrokovati i degradaciju antocijana i na taj način značajno utječu na smanjenje sadržaja antocijana (Boss i Davies, 2009). Zbog previsokih temperatura u fazi dozrijevanja grožđa dolazi do neravnomjernog metabolizma šećera i organskih kiselina (Rienth i sur., 2016), ali i metabolizma šećera i antocijana (Sadras i Moran, 2012). Pri umjerenoj temperaturi kod određenih sorata (npr. Pinot crni), zasjenjivanje grozdova ne utječe značajno na sadržaj ukupnih antocijana, ali utječe na sastav pojedinačnih antocijana tj. smanjenje udjela malividina. (Lee i Skinkis, 2013). Antocijani su tvari koje su odgovorne za boju vina, ali boja ne ovisi samo o sadržaju nego i o ekstrakciji ovih pigmenta. Sadržaj antocijana u grožđu osim sortom uvjetovan je i različitim okolinskim

uvjetima u kojima se nalazi vinograd (*terroir*) posebno klimatskim uvjetima, vrsti i svojstvima tla, ekspoziciji i sl. Međutim, brzina degradacije stanica kožice i sukladno tome brzina ekstrakcije antocijana su karakteristika sorte (Vivas de Gaulejac i sur., 2001).

Antocijani doprinose u kreiranju arome grožđa i vina jer mogu biti u interakciji s aromatskim spojevima a sudjeluju i u senzaciji astringencije (Vidal i sur., 2004; He i sur., 2010). Sadržaj antocijana u vinu određen je prvenstveno sadržajem antocijana u grožđu međutim veliki utjecaj ima primijenjena tehnologija vinifikacije. Na sadržaj antocijana značajan utjecaj ima duljina i trajanje maceracije te način dozrijevanja i starenja vina. Najveći dio antocijana iz kožice se ekstrahira u prvih nekoliko dana maceracije, a nakon toga zbog adsorpcije antocijana u stanične stijenke kvasaca dolazi do njihovog naglog opadanja (Moreno-Arribas i Polo, 2009). Iako je početni sadržaj antocijana u mladim vinima neposredno nakon fermentacije visok, zbog svoje nestabilnosti sadržaj tih aciliranih antocijana pada već nakon fermentacije (Ribéreau-Gayon i sur., 2000). Najzastupljeniji antocijanidin kod crnih sorti *V. vinifere* je malvidin (Moreno-Arribas i Polo, 2009; Garrido i Borges, 2013). Sadržaj antocijana u grožđu se nalazi u rasponu od 26 mg/kg do 6300 mg/kg svježih bobica (Ryan i Revilla, 2003; Castellarin i sur., 2012; Flamini i sur., 2013). Vino sadrži 200-350 mg antocijana/L, a ti se antocijani transformiraju u različite složene strukture kako vino stari (Lattanzio, 2013). O sadržaju antocijana ovisi nijansa i stabilnost boje crnih vina tijekom dozrijevanja i starenja. pH vrijednost i količina slobodnog sumporovog dioksida utječu na nijansu i stabilnost boje crnih vina. Antocijani su crveni ili narančasto-crveni pri jako niskom pH ($\text{pH} \leq 3$) zbog prisutnosti flavilijevog kationa. Niži pH utječe na povećanje udjela stabilnijih i obojanih oblika antocijana, dok rastom pH vrijednosti dolazi do povećanog broja oblika koji su manje obojeni i nestabilni čime se direktno utječe na boju vina (Ribéreau-Gayon i sur., 2006). Sumporov dioksid koji se dodaje u procesu proizvodnje vina kao zaštita od oksidacije i patogenih mikroorganizama, tvori bezbojne produkte s flavilijevim kationom te su na taj način antocijani obezbojeni ovisno o količini dodanog sumporovog dioksida (Fulcrand i sur., 2006; He i sur., 2012). Sumporov dioksid inhibira i polimerizaciju antocijana s drugim fenolnim spojevima (Kojić, 2019). Sadržaj nestabilnih slobodnih antocijana u crnim vinima pada tijekom dozrijevanja i starenja u bačvama ili bocama (Figueiredo-González i sur., 2014). Nakon šest

mjeseci sadržaj antocijana smanjio se sa početnih 433 mg/L na 54 mg/L kod likerskih vina, a sa 93 mg/L na 16 mg/L kod prirodnih slatkih vina. Nakon godinu dana ta vrijednost je bila još niža, pa je kod likerskih bilo 43 mg/L, a kod prirodnih slatkih samo 12 mg/L. Slične rezultate su dobili i Mateus i de Freitas (2001) na Porto vinima. Vina su ostala crvena i nakon nekoliko godina dozrijevanja, ali se struktura antocijana promijenila. U odležanim vinima nisu bili prisutni monomerni antocijani, već su oni polimerizirali u spojeve koji su stabilniji od početnih, i ne gube boju, bez obzira na primjenu sumporovog dioksida i utjecaj pH vrijednosti. Ti novi spojevi nastaju različitim reakcijama preko direktnih antocijan-flavanol i antocijan-antocijan reakcija kondenzacije, ali i preko drugih koje dovode do sinteze piroantocijana. Starenjem vina mijenja se sastav fenolnih spojeva te dolazi do formiranja stabilnijih polimernih pigmenata i kompleksa antocijana i tanina, što može doprinijeti povećanju ili očuvanju antioksidacijske aktivnosti vina (Burns i sur., 2001).

Antocijani i njihovi derivati imaju brojne pozitivne učinke na ljudsko zdravlje u vidu skupljanja slobodnih radikala i antioksidacijske aktivnosti, ali i antivirusno, antimikrobno djelovanje, te antikancerogeno i antimutageno djelovanje (Maletić i sur., 2008). He i sur. (2010) navode kako se antocijani razmatraju kao potencijalni prirodni pigmenti koji bi se mogli koristiti kao zamjena za brojna sintetska bojila u proizvodnji hrane.

2.1.2. Neflavonoidi

Neflavonoidi su spojevi jednostavnije građe od flavonoida te najčešće imaju samo jedan fenolni prsten, iako neki (npr. stilbeni) mogu imati dva. Najzastupljeniji neflavonoidi u grožđu i vinu su fenolne kiseline (hidroksibenzojeve i hidroksicimetne) i stilbeni (Waterhouse, 2006; Jackson, 2008). Neflavonoidi utječu na stabilnost boje vina iako su u pravilu nebojeni. Isto tako utječu na okus vina i biološki su aktivni (Moreno-Arribas i Polo, 2009).

2.1.2.1. Fenolne kiseline

Fenolne kiseline su najjednostavniji polifenoli i posjeduju jedno zajedničko strukturno obilježje, aromatski prsten s najmanje jednom hidroksilnom skupinom.

One su primarni neflavonoidi kod vina koja ne dozrijevaju u drvenim bačvama, iako se ekstrahiraju iz grožđa već u primarnoj preradi jer su smješteni u vakuolama stanica mesa i kožice (Jackson, 2008). Razlika u sadržaju fenolnih kiselina između bijelih i crnih vina je znatno manja u odnosu na ostale fenolne spojeve zbog lagane ekstrakcije iz bobice (Kennedy i sur., 2006). U grožđu i vinu razlikujemo dvije skupine fenolnih kiselina: hidroksibenzojeve kiseline i hidroksicimetne kiseline te njihove derivate (Rastija i sur., 2016). U crnim sortama grožđa fenolne kiseline su najzastupljenije u kožici dok ih kod bijelih sorti najviše ima u mesu bobica (Rastija i Medić-Šarić, 2009). Fenolne kiseline utječu na kakvoću i stabilnost vina jer sudjeluju u stvaranju taloga, a osim toga, uzrok su promjene nijansi i intenziteta boje vina jer reagirajući s kisikom mijenjaju pigmentaciju (Budić-Leto i sur., 2002).

2.1.2.1.1. Hidroksibenzojeve kiseline

U grožđu je sadržano nekoliko hidroksibenzojevih kiselina: galna, protokatehinska, gentizinska, salicilna, *p*-hidroksibenzojeva, siringinska te vanilinska kiselina. Njihove strukture se međusobno razlikuju s obzirom na broj i položaj hidroksilnih i metoksilnih skupina na benzenskom prstenu (Rastija i Medić-Šarić, 2009). Hidroksibenzojeve kiseline karakterizira C1-C6 građa i derivati su benzenke kiseline, u grožđu se uglavnom nalaze u glikozidnom obliku, a oslobađaju se kiselom hidrolizom ili alkalnom hidrolizom kao esteri galotanina i elagitanina (Ribéreau-Gayon i sur., 2000). Fenolne kiseline mogu biti uzrok nestabilnosti u vina zato što sudjeluju u stvaranju taloga ili su uključene u proces posmeđivanja vina (Budić-Leto i sur., 2002). U sjemenkama bobica nalazi se galna kiselina, koja je najzastupljenija hidroksibenzojeva kiselina, te se njen sadržaj u crnim vinima kreće oko 70 mg/L, a kod bijelih oko 10 mg/L (Waterhouse, 2006). Galna kiselina u vinu djelom potječe iz grožđa a drugi dio nastaje hidrolizom kondenziranih tanina (Moreno-Arribas i Polo, 2009). Zbog svoje stabilnosti tijekom starenja i dozrijevanja vina analitički je prisutna i kod starijih crnih vina (Waterhouse, 2002). Utjecaj posuda u kojima je vino dozrijevalo, na sadržaj pojedinih fenolnih kiselina na sortama 'Merlot', 'Cabernet Sauvignon' i 'Syrah' istraživali su Stavridou i sur. (2016) te utvrdili da sadržaj galne kiseline raste tijekom dozrijevanja neovisno o posudama u kojima vino dozrijeva kod sve tri istraživane sorte ('Merlot', 'Cabernet Sauvignon' i 'Syrah'),

ali isto tako raste i sadržaj *p*-hidroksibenzojeve, vanilinske, siringinske i elaginske kiseline. U istom istraživanju utvrđen je i utjecaj sorte na sadržaj fenolnih kiselina. 'Cabernet Sauvignon' ima manji sadržaj galne kiseline u usporedbi sa 'Syrahom', dok 'Merlot' ima manji sadržaj vanilinske kiseline.

2.1.2.1.2. Hidroksicimetne kiseline

Za razliku od hidroksibenzojevih, hidroksicimetne kiseline imaju C3-C6 strukturu. U slobodnom obliku su nestabilne i jako slabo zastupljene, te se u grožđu nalaze u obliku estera s vinskom kiselinom i s taninima sudjeluju u procesima polimerizacije (Ribéreau-Gayon i sur., 2000). Od hidroksicimetnih kiselina najzastupljenije u grožđu i vinu su esteri kafeinske, *p*-kumarinske i ferulinske kiseline s vinskom kiselinom. Ti esteri su kaftarinska, fertarinska i kutarinska kiselina (Jackson, 2008). Najzastupljenija hidroksicimetna kiselina u vinu je kafeinska kiselina te njen sadržaj može biti i do 170 mg/kg (Waterhouse, 2006). Esteri su skloni oksidaciji i zbog toga mogu uzrokovati posmeđivanje vina (Ribéreau-Gayon i sur., 2000). Do posmeđivanja vina može doći već u samoj primarnoj preradi jer pod utjecajem enzima polifenoloksidaze koji se oslobađa prilikom muljanja i prešanja, hidroksicimetne kiseline se oksidiraju do kinona. Kinoni u moštu mogu reagirati s glutationom tvoreći bezbojne produkte. Iz navedenog proizlazi da manji potencijal posmeđivanja imaju vina bogata glutationom (Waterhouse, 2006). Hidroksicimetne kiseline su smještene u hipodermalnim stanicama bobice te njihov sadržaj iznosi i do 150 mg/kg. Biosinteza hidroksicimetnih kiselina počinje tijekom i nakon cvatnje, maksimum dosežu neposredno pred šaru i nakon toga dozrijevanjem bobice njihov sadržaj pada (Romeyer i sur., 1983). Hidroksicimetne kiseline su odgovorne za boju bijelih vina i glavni su polifenolni spojevi u njima te zbog toga uzrokuju oksidaciju i posmeđivanje bijelih moštava (Jackson, 2008). Njihov sadržaj u vinu je oko 100 mg/L. S obzirom da se hidroksicimetne kiseline mogu vezati s antocijanima utječu i na stabilnost boje crnih vina kroz proces kopigmentacije (Boulton, 2001; Pérez-Magariño i González-San José, 2005). Negativan utjecaj hidroksicimetnih kiselina na miris vina izražen je kroz njihovu sposobnost da budu prekursori u stvaranju hlapivih fenola (Moreno-Arribas i Polo, 2009). Hlapivi fenoli su zastupljeni u crnim vinima u dosta niskim koncentracijama od svega 600-700 µg/L, ali je njihov utjecaj

na miris jako intenzivan i taj miris se opisuje kao animalni, konjski znoj, miris štale i slično. Najzastupljeniji hlapivi fenoli u crnom vinu su etil-fenol i etil-gvajakol (Ribéreau-Gayon i sur., 2000). Hlapivi fenoli se mogu javiti i u bijelim vinima, i to vinil-fenol i vinil-gvajakol. Niža koncentracija ovih spojeva je poželjna dok viša uzrokuje neugodne mirise na lijekove, farmaceutski miris (Ribéreau-Gayon i sur., 2000).

Na sadržaj fenolnih kiselina uvelike utječu sorta grožđa, ali i klimatski uvjeti, provedeni agrotehnički zahvati, rok berbe, tehnologije vinifikacije (Stavridou i sur., 2016) .

2.1.2.2. Stilbeni

Stilbeni pripadaju skupini neflavonoidnih polifenola, derivati su cimetine kiseline sastavljeni od dva benzenska prstena međusobno povezana etanskim ili etilenskim lancem (Ribéreau-Gayon i sur., 2006). Stilbeni su polifenolni sekundarni metaboliti koji se javljaju u nekoliko biljnih porodica, uključujući *Vitaceae* (Gatto, 2008). Iako se flavonoidi nalaze u svim višim biljkama, samo nekoliko vrsta proizvodi stilbene te im se pripisuju antimikrobna, antikancerogena i antimutagena svojstva (Flamini i sur., 2013). Stilbeni štite bobicu od različitih biotičkih i abiotičkih utjecaja (Tomaz, 2016). Sinteza stilbena odvija se u kožici, a njihov sadržaj raste nakon šare. Maseni udio stilbena tijekom rasta i razvoja vinove loze može se mijenjati, a to uvelike ovisi o samoj sorti, ali i o okolišnim uvjetima kao i o uvjetima uzgoja. Do smanjenja sadržaja stilbena može doći u cijelom periodu rasta i razvoja, od faze zelene bobice do pune zrelosti (Gatto i sur., 2008). Obzirom na ukupni maseni udio stilbena, sorte vinove loze se dijele u dvije skupine. Prva skupina su sorte koje sadrže velike masene udjele stilbena (od 1,2 mg/ kg do 22,5 mg/ kg svježih bobica) te druga skupina čiji su maseni udjeli stilbena znatno manji (od 0,03 mg/kg do 1,7 mg/kg svježih bobica) (Gatto i sur., 2008). Oksidativnom polimerizacijom iz stilbena se stvaraju mnogi oligomerni i polimerni oblici poput viniferina koji je determiniran u listu, ali i u vinu (Moreno-Labanda i sur., 2004).

Najpoznatiji predstavnik skupine stilbena je *trans*-resveratrol (Flamini i sur., 2013). Sinteza resveratrola započinje kao odgovor biljke na stres koji može biti uzrokovan

infekcijom nekog patogena ili abiotskim čimbenicima poput na primjer, izloženosti prekomjernom UV zračenju. Tijekom dozrijevanja grožđa sadržaj resveratrola obično raste do sredine fenofaze šare, a zatim se stabilizira ili lagano opada prema tehnološkoj zrelosti. Na dinamiku resveratrola značajno utječu stresni uvjeti poput prekomjernog UV zračenja ili napad patogena (Jeandet i sur., 1995).

S obzirom da se stilbeni u vino ekstrahiraju tijekom alkoholne fermentacije na njihov sadržaj utječe tehnologija proizvodnje odnosno duljina maceracije (Rossi i sur., 2020). U svom istraživanju pri produljenoj maceraciji u trajanju 21 dana kod sorte 'Teran' Rossi i sur. (2020) dobili su najveći sadržaj pojedinačnih i ukupnih stilbena 35,74 mg/L dok je kod uobičajenog trajanja maceracije u trajanju od 7 dana ta vrijednost bila 30,52 mg/L. Sadržaj *trans*-resveratrola nije se značajno razlikovao između maceracije od 7 ili 21 dan. Pretpostavlja se da je razlog tomu što ekstrakcija resveratrola završava dok traje ili pri samom kraju alkoholne fermentacije. Zbog duljeg kontakta kožice i tekuće frakcije tijekom fermentacije, crna vina obično sadrže veći sadržaj stilbena nego ružičasta ili bijela vina. Na sadržaj stilbena veliki utjecaj uz okolišne uvjete ima sorta, zdravstveno stanje grožđa i vina te tehnike vinifikacije. Sadržaj stilbena je veći kod mladih vina nego kod vina koja su dozrijevala, ali bez obzira na zastupljenost u vinima stilbeni nemaju značajan utjecaj na senzorna svojstva vina (Lattanzio, 2013).

2.2. Defolijacija

Agrotehnički i ampelotehnički zahvati mogu značajno utjecati na kvalitativni sastav grožđa, mošta i vina. Bujan vegetativni rast vinove loze i zasjenjenost zone grožđa je pojava koja je prisutna u gotovo svim vinogradarskim regijama svijeta. Intenzivan vegetativni rast vinove loze najčešće je povezan sa neuravnoteženom gnojdbom i navodnjavanjem, ali se javlja i kao posljedica korištenja vertikalnih sustava uzgoja koji se dominantno koriste u modernim vinogradima.

Djelomična defolijacija (u daljnjem tekstu koristi se paralelno i skraćeni termin defolijacija kojim se podrazumijeva djelomična defolijacija) vinove loze definira se kao zahvat zelene rezidbe kojim se u zoni grožđa odstranjuje dio listova. Uobičajeno se odstranjuje tek nekoliko listova po mladici u zoni grožđa i to najčešće bazalnih

listova (3-4) u neposrednoj blizini grozda (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008). Provedbom defolijacije utječe se na dozrijevanje grožđa, na sadržaj šećera i ukupnu kiselost, polifenola te samim time na kvalitetu i stil vina kojeg želimo proizvesti. Primjenom defolijacije direktno se utječe na proces fotosinteze preostalih neodstranjenih listova, što u konačnici ima pozitivan utjecaj na ukupnu bilancu ishrane trsa, te bolje i ujednačenije dozrijevanje grožđa jer se tok asimilata preusmjerava (Chanishvili i sur., 2005).

Zahvatom djelomične defolijacije omogućuje se bolja cirkulacija zraka, a uslijed smanjene relativne vlažnosti u zoni grožđa smanjuje se zaraženost gljivičnim bolestima, efikasnija je primjena sredstava za zaštitu bilja, a grožđe se na takav način izlaže suncu kako bi se poboljšala njegova kvalitativna svojstva (Bledsoe i sur., 1988; Di Profio i sur., 2011b). Defolijacija se može provoditi na različite načine, pa razlikujemo ručnu i strojnu defolijaciju. Razlike u načinu izvođenja defolijacije su istraživane od raznih autora i na različitim sortama te su mnogi dobili slične rezultate. Strojna defolijacija, ako je pravovremeno provedena, može postati dobra tehnika za reguliranje rodosti, ali i unaprjeđenje kvalitete grožđa i vina (Intrieri i sur., 2008; Tardaguila i sur.; 2010). Između strojno i ručno provedene defolijacije, izuzev velike uštede vremena nema značajnije razlike u efikasnosti, što je važno, uzimajući u obzir da ručno provođenje zahvata defolijacije zahtijeva dosta ljudskog rada i vremena pa treba naći prihvatljivije načine za provođenje ovog važnog ampelotehničkog zahvata (Intrieri i sur., 2008). U povijesti je djelomična defolijacija uglavnom primjenjivana kod stolnih sorata, zbog postizanja boljeg obojenja bobica. Defolijacijom se uklanjalo 20-35 % ukupne mase lista čime se utjecalo na dinamiku dozrijevanja grožđa, ali i na kemijski sastav mošta, dozrijevanje mladica i nakupljanje rezervnih tvari.

Zahvat defolijacije može se provoditi u različitim fenofazama razvoja vinove loze. U osnovi razlikujemo ranu defolijaciju, koja se uobičajeno provodi neposredno prije ili neposredno nakon cvatnje do faze zametanja bobica; te kasnu defolijaciju koja se obično provodi u fenofazi šare. Obzirom na vrijeme provođenja defolijacije, različit je utjecaj ovog ampelotehničkog zahvata na pojedine kvalitativne i kvantitativne parametre grožđa, a samim time i vina. Defolijacija u kasnijim fenofazama se uglavnom provodila zbog bržeg i boljeg dozrijevanja, dok se danas provođenjem djelomične defolijacije u ranijim fazama razvoja regulira prinos, ali postiže bolja

kvaliteta grožđa (Diago i sur., 2012a; Tardaguilla i sur., 2010). Zbog porasta temperatura i klimatskih promjena, sve više se smanjuje pozitivan učinak provođenja kasne defolijacije u fenofazi šare (Lemut i sur., 2013).

U posljednje vrijeme zbog utjecaja klimatskih promjena koje iz godine u godinu dovode do sve toplijih vinogradarskih godina sve više istraživanja je povezano s primjenom rane defolijacije. Rana defolijacija je termin koji se odnosi na djelomičnu defolijaciju trsova koja se provodi u ranijem terminu od uobičajenog odnosno neposredno prije cvatnje ili u samoj fazi zametanja bobica. Najkasnije se provodi kada bobice imaju promjer od 2 do 4 mm. Kod zahvata rane defolijacije trsova odstranjuje se nešto više lišća od uobičajenog. Vrlo je važno zahvat rane defolijacije obaviti u pravo vrijeme, te se on ne bi trebao obavljati nakon što bobice prerastu veličinu od 4 mm u promjeru. Ako se defolijacija ne provede u optimalnom roku izostaju njezini pozitivni učinci, a rizik od opekotina na bobicama se povećava. Pri obavljanju rane defolijacije odstranjuju se najrazvijeniji listovi na mladici koji su tada i fotosintetski najaktivniji čime se trsu smanjuje razina dostupnih asimilata koji su nužni za normalno odvijanje cvatnje i oplodnje. Trs je u tom trenutku u privremenom stanju nedostatka asimilata što posljedično dovodi do slabije oplodnje, zametanja manjeg broja bobica, ali i ograničava rast zametnutih bobica uslijed čega bobice ostaju manje (Nicolosi i sur., 2012). Rana defolijacija provedena prije cvatnje i u samom početku cvatnje značajno utječe na smanjenje prinosa uz poboljšanje osnovnih parametara kakvoće grožđa, dok takav utjecaj izostaje ako je defolijacija provedena nakon cvatnje (Lohitnavy i sur., 2010; Nicolosi i sur., 2012).

Veliki dio dosadašnjih istraživanja vezanih za djelomičnu defolijaciju odnosio se na crne sorte, međutim pozitivan učinak djelomične defolijacije utvrđen je i kod bijelih sorata, prvenstveno zbog učinka na smanjenje zaraze sivom plijesni (*Botrytis cinerea*). Provođenjem rane defolijacije povećava se cirkulacija zraka, modificira se mikroklima trsa i grožđa, te se na takav način pozitivno utječe na pojavu zaraze sivom plijesni u području kontinentalne klime gdje je uobičajena velika količina oborina u vrijeme dozrijevanja grožđa (Bubola, 2015). Zahvat defolijacije smanjuje pojavnost sive plijesni kod sorata zbijenog grozda i mekane kožice koje imaju veći potencijal truljenja jer su grozdovi nakon primjene defolijacije uglavnom rastresitiji, pa time i manje podložni napadu sive plijesni (Hed i sur., 2009). Osim botrytisa vinova loza je podložna i drugim gljivičnim bolestima od kojih je najznačajnija

pepelnica čiji je uzročnik gljivica *Uncinula necator*. Protiv ove bolesti uglavnom se koriste kemijske mjere zaštite, ali provedba djelomične defolijacije 2 tjedna nakon cvatnje, uklanjanjem bazalnih listova, značajno smanjuje štetu od ove bolesti (Austin i Wilcox, 2011). Kasnijim provođenjem defolijacije nije postignut takav učinak.

Provedbom defolijacije izravno se mijenja mikroklima u zoni grožđa, ponajprije povećanjem osunčanosti i temperature, što za posljedicu ima utjecaj na uvjete dozrijevanja i na osnovne kvalitativne parametre grožđa. Učinak defolijacije na pojedine parametre u grožđu ovisi o terminu provedbe, sorti ali i klimatskim uvjetima.

Defolijacija pozitivno utječe na nakupljanje šećera u grožđu (Poni i sur., 2006., Tardaguila i sur., 2010; Pallioti i sur., 2013). Međutim, s obzirom na trend sve viših koncentracija šećera u grožđu i posljedično viših alkohola u vinu, defolijacija provedena u fenofazi šare može doprinijeti smanjenju nakupljanja šećera (Petrie i Sadras, 2008).

Rana defolijacija značajno utječe na smanjenje ukupne kiselosti što se može pripisati intenzivnijoj razgradnji jabučne kiseline (Anić i sur., 2021). Enzimi uključeni u metabolizam jabučne kiseline pokazuju veću aktivnost pri višim temperaturama koje su rezultat veće izloženosti grožđa sunčevom zračenju nakon defolijacije (Rienth i sur., 2021). Smanjenje sadržaja jabučne kiseline uslijed provedbe rane defolijacije u vrijeme zametanja bobice u odnosu na kasnije defolijaciju u fazi šare utvrdili su i Tardaguila i sur. (2010).

Osim na sadržaj jabučne kiseline, provedba defolijacije utječe i na sadržaj vinske kiseline u grožđu. Ranije provedena defolijacija dovodi do povećanja sadržaja vinske kiseline, dok defolijacija provedena u kasnijim fazama razvoja bobice, posebno oko fenofaze šare, rezultira njezinim smanjenjem (Bledsoe i sur., 1988, Kozina i sur., 2008).

Djelomična defolijacija u zoni grožđa ima značajnu ulogu pri sintezi polifenola u grožđu. Uklanjanjem dijela lišća postiže se bolja osvjetljenost grozdova, povećava se temperatura i insolacija što dovodi do boljeg dozrijevanja grožđa, rasta udjela polifenola, te jačeg intenziteta boje grožđa crnih sorti (Osrečak i sur., 2016).

Povećanje sadržaja antocijana počinje u fenofazi šare, raste tijekom dozrijevanja a u kasnijim fazama dozrijevanja grožđa njihov sadržaj se može lagano i snižavati

(Kennedy i sur., 2006). Uslijed prejake insolacije i UV zračenja biljka sintetizira antocijane kao obrambeni mehanizam (He i sur., 2010). Unatoč dokazima da viša razina osvjetljenosti grožđa pozitivno utječe na nakupljanje antocijana u bobicama (Spayd i sur., 2002.; Tarara i sur., 2008.) utvrđeno je da prejako osvjetljenje može, indirektno zagrijavanjem bobica, dovesti do njihovog smanjenja (Haselgrove i sur., 2000; Bergqvist i sur., 2001), jer temperature iznad 30° C dovode do inhibicije sinteze antocijana (Mori i sur., 2007). Takav utjecaj značajno ovisi o sorti, pa tako kod određenih sorata provedena djelomična defolijacija ima pozitivan utjecaj na sintezu polifenola (Pastore i sur., 2013; Diago i sur., 2012b) te nema negativnog utjecaja povišene temperature (Price i sur., 1995; Haselgrove i sur., 2000).

Pozitivan učinak defolijacije ovisi i o intenzitetu defolijacije. Uklanjanje većeg broja bazalnih listova (6) prije cvatnje utječe na smanjenje prinosa, a povećava se sadržaj ukupnih polifenola, ukupnih antocijana, pojedinačnih antocijana te antioksidacijska aktivnost (Bubola i sur., 2017; Drenjančević i sur., 2017).

Rano provođenje defolijacije potiče rast mladica drugog reda koje zasjenjuju grozd, čime se smanjuje utjecaj visokih temperatura i inhibicija sinteze antocijana, te se utječe na povećanje njihovog sadržaja (Pastore i sur., 2013). Ovaj efekt povećanja sadržaja ukupnih antocijana provedbom rane defolijacije zabilježen je i kod drugih sorata, uključujući 'Tempranillo' (Diago i sur., 2012a), 'Carignan' (Tardaguila i sur., 2010) te 'Barbera' i 'Lambrusca' (Poni i sur., 2009).

Na crnim sortama 'Merlot', 'Cabernet Sauvignon' i 'Cabernet franc', defolijacija je dovela do povećanja sadržaja ukupnih antocijana te intenziteta boje (Di Profio i sur., 2011a). Pri tome je utvrđen različiti utjecaj na pojedinačne antocijane, posebno na povećanje malvidin-3-O-glukozida kod sve tri istraživane sorte. S druge strane, defolijacija provedena nakon šare nije značajno utjecala na sadržaj antocijana, koji se nije bitno razlikovao od kontrolnih trsova bez defolijacije (Pallioti i sur., 2013).

Osim na povećanje sadržaja antocijana rana defolijacija utječe i na povećanje koncentracije ostalih polifenolnih spojeva poput flavonola, ali i na spojeve koji utječu na aromatski profil vina. Provedba defolijacije ima pozitivan utjecaj na sintezu kvercetina, jer uslijed povećanog izlaganja svjetlu nakon uklanjanja lišća dolazi do izraženijeg porasta sadržaja kvercetina u odnosu na druge flavonole čiji je porast manje izražen (Price i sur., 1995). Provedba rane defolijacije na sorti 'Sangiovese'

prije cvatnje pa čak i u kasnijim fazama u šari, značajno utječe na povećanu sintezu flavonola u usporedbi s trsovima na kojima defolijacija nije provedena (Pastore i sur., 2013). Provedbom kasnije defolijacije u fenofazi šare povećava se sadržaj kemferol-3-O-glukozida i kvercetin-3-O-glukozida (Perera i sur., 2006).

Defolijacija može utjecati na povećanu koncentraciju hidroksicimetnih kiselina u grožđu i vinu pojedinih sorata što se pripisuje povećanju osunčanosti grožđa (Bubola i sur., 2019, 2020; Anić i sur., 2021). S obzirom da hidroksicimetne kiseline kopigmentiraju s antocijanima, provođenje defolijacije može pozitivno utjecati na stabilnost boje vina (Marković i sur., 2000). Na koncentraciju hidroksicimetnih i hidroksibenzojeveih kiselina utječe vrijeme provođenja defolijacije. Koncentracija navedenih fenolnih kiselina je bila najniža kod defolijacije prije cvatnje, a najviša kod defolijacije provedene u fazi zametanja bobica kod sorte 'Malvazija Istarska' (Bubola i sur., 2012). Osim ukupnih, tu je izmjerena i najviša koncentracija pojedinačnih hidroksicimetnih kiselina, posebno *trans*-kaftarinske i kafeinske koje imaju visok antioksidacijski potencijal (Ribéreau-Gayon i sur., 2000).

Vremenske prilike tijekom vegetacije uvelike utječu na učinak defolijacije. Defolijacija u hladnijim godinama utječe na povećanje sadržaja ukupnih i pojedinačnih antocijana u kožici te na povećanje sadržaja flavonola zahvaljujući povećanju UV radijacije u zoni grožđa (Anić i sur., 2021). Provođenje defolijacije u hladnijim godinama ima veći pozitivan utjecaj na dozrijevanje grožđa i poboljšavanje kemijskog sastava nego defolijacija u sušnijim i toplijim godinama (Bavaresco i sur., 2008; Osrečak i sur., 2016). S druge strane na sastav suhe tvari i ukupnu kiselost više utječe vrijeme i intenzitet defolijacije nego vremenske prilike (Anić i sur., 2021). Bavaresco i sur. (2008) su istraživanjem utjecaja defolijacije na sintezu *trans*-resveratrola na sortama 'Croatina', 'Malvasia di Candida' i 'Barbera' utvrdili da provođenje defolijacije u hladnijim klimatskim prilikama tijekom dozrijevanja smanjuje sintezu *trans*-resveratrola. To se između ostalog, može povezati s tim da je biljka u tom trenutku pod manjim stresom, jer sinteza resveratrola započinje kao odgovor biljke na stres uzrokovan i nepoželjnim vanjskim faktorima poput izloženosti prekomjernom UV zračenju.

Pri provođenju djelomične defolijacije treba voditi računa u kojim uvjetima se ona provodi, u kom vremenu i koliki je intenzitet defolijacije. Postoje razlike pri

provođenju defolijacije u kontinentalnim i južnim toplijim krajevima. U kontinentalnim uvjetima djelomična defolijacija je uobičajen ampelotehnički zahvat kojim se uz ostale ranije navedene prednosti, prvenstveno smanjuje rizik od pojave gljivičnih bolesti, naročito sive plijesni. Osim toga, provođenjem defolijacije jakog intenziteta (skinuti svi listovi do iznad zadnjeg grozda) kod sorte 'Pinot crni' povećana je koncentracija polifenolnih i drugih hlapivih spojeva bez da je došlo do izazivanja ožegotina na bobicama. Na ovaj način je ova tehnika opravdana za primjenu u područjima hladnijeg klimata (Feng i sur., 2015). U južnijim i toplijim krajevima pažnju treba usmjeriti na to da intenzivno provedena defolijacija i prekomjerno izlaganje grozdova suncu može izazvati ožegotine na grozdovima (Licul, 1971). Osim ožegotina intenzivnom defolijacijom zone grožđa povećava se temperatura grozdova, pa može doći do problema pri formiranju boje, ali i naglog pada jabučne kiseline (Price i sur.,1995).

3. MATERIJALI I METODE RADA

1.1. Materijali

Istraživanje je provedeno na sortama 'Merlot', 'Syrah' i 'Cabernet Sauvignon', 2015. i 2016. godine na Sveučilišnom dobru Baštica, Sveučilišta u Zadru.

3.1.1. Sorte u pokusu

3.1.1.1. 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.)

Francuska visokokvalitetna crna sorta vinove loze, potječe iz Boredeauxa, a roditelji su joj 'Magdeleine Noire des Charentes' i 'Cabernet franc'. Rasprostranjena je u gotovo svim vinorodnim zemljama umjerene klime zahvaljujući prilagodljivosti različitim klimatskim uvjetima. U Hrvatskoj je najzastupljenija u obalnom djelu Hrvatske, od Istre do Konavala. Mjestimice se uzgaja i u sjevernim područjima, ali tu postiže nešto slabije rezultate.

Zahvaljujući ranijem dozrijevanju, tankoj kožici i zbijenijem grozdu, 'Merlot' je slabo otporan na najvažnije biljne bolesti (Keller, 2020). Umjereno je otporan na sušu i toplinu, ali zbog svoje tanke kožice osjetljiv je na jaka sušna razdoblja bez navodnjavanja. Vrlo brzo dolazi u stanje stresa. Zbog svoje tanje kožice i ranijeg dozrijevanja osjetljiv je na intenzivno provedenu defolijaciju, dok na umjerenu defolijaciju provedenu u pravo vrijeme dobro reagira. Rana defolijacija provedena prije cvatnje smanjuje zametanje bobica čime se direktno utječe i na smanjenje prinosa, ali se povećava sadržaj polifenola. Provedbom umjerene defolijacije povećava se sadržaj antocijana i poboljšava ravnomjerno dozrijevanje. Ukoliko se defolijacija provede preintenzivno postoji opasnost od pojave ožegotina na bobicama ali i dolazi i do degradacije antocijana (Filippetti i sur., 2015).

Merlot je sorta koja je visoko bogata fenolima, naročito antocijanima, flavan-3-olima i katehinima, te se u nekim istraživanjima navodi da njihov sadržaj može biti i veći nego kod 'Syraha' i 'Cabernet Sauvigona' (Ivanova-Petropulos i sur., 2015). Ovisno o klimatu u kojem je proizvedeno vina se mogu razlikovati po strukturi. Sorte iz hladnijih klimata daju svježija, elegantnija vina pogodnija za piće kao mlada vina,

dok su vina u toplijim regijama bogatije strukture s većim sadržajem alkohola i potencijalom za dozrijevanje (Jackson, 2020).

3.1.1.2. 'Syrah' (*Vitis vinifera* L.)

'Syrah' je visokokvalitetna crna sorta grožđa, podrijetlom iz Francuske, sjeverne doline rijeke Rhone, gdje je nastala najvjerojatnije prirodnim križanjem dviju starih francuskih sorata 'Durez' i 'Mondeuse Blanche' (Robinson i sur., 2012).

Rasprostranjena je u europskim zemljama, u sjevernoj i južnoj Africi, Južnoj i Sjevernoj Americi, te Australiji i Novom Zelandu te je sorta koja uglavnom daje visokokvalitetna crna vina.

'Syrah' se dobro prilagođava raznim klimatskim uvjetima, i iako preferira kontinentalnu klimu sa sunčanim i umjereno vrućim ljetima, zbog svoje debele pokožice i strukture grozda, dobro podnosi sušu i visoke temperature ali i UV zračenje, te je pojava ožegotina na bobicama vrlo rijetka. Zahvaljujući debljoj pokožici ali i obliku grozda, te polifenolnom sastavu, srednje je otporan na najznačajnije biljne bolesti plamenjaču, pepelnicu ali i sivu plijesan (Keller, 2020).

'Syrah' je sorta koja vrlo dobro reagira na provedbu defolijacije. Defolijacijom se znatno utječe na povećanje sadržaja antocijana i polimeriziranih tanina u grožđu. U područjima hladnije klime, defolijacija značajno pomaže u dozrijevanju (Poni i sur., 2006).

Zahvaljujući visokom sadržaju antocijana vina su jako obojena. Među crnim vinima, Syrah ima najvišu koncentraciju resvertrola što je važno iz zdravstvenih razloga. Zbog visokog sadržaja tanina, vino je prikladno za dozrijevanje, te postiže odlična senzorna svojstva i nakon 10-15 godina dozrijevanja (Bindon i sur., 2014).

Kvaliteta i tip vina proizvedena od ove sorte ovisi o klimatu u kojem se uzgaja pa tako vina mogu biti elegantna, jaka sa profinjenim okusima dok kod klimata s visokim temperaturama vina mijenjaju senzorna svojstva te prevladavaju okusi džema, marmelade i šlive (Visan i sur., 2019).

3.1.1.3. 'Cabernet Sauvignon' (*Vitis vinifera* L.)

'Cabernet Sauvignon' je visokokvalitetna sorta koja potječe iz francuske (Bordeaux) a rasprostranjena je, osim u Francuskoj, više ili manje u gotovo svim vinorodnim zemljama. Roditelji su joj 'Cabernet Franc' i 'Sauvignon bijeli'.

Cabernet Sauvignon dobro uspjeva u toplijim vinorodnim regijama gdje može potpuno dozrijeti. Umjereno je tolerantan na sušu, a veliki nedostatak vode može uzrokovati značajan gubitak prinosa (Özmen i sur., 2025). Slabo je otporan na glave gljivične bolesti te je dosta osjetljiv na pepelnicu.

Bobice su male, tamne s debelom kožicom, sa visokim sadržajem tanina. Osim tanina, 'Cabernet Sauvignon' ima i visoki sadržaj drugih polifenola, uključujući antocijane i stilbene (resveratrol) koji utječu na boju i strukturu vina ali i na potencijal dozrijevanja (Muñoz, i sur. 2021).

'Cabernet Sauvignon' dobro podnosi provedbu defolijacije. Rana defolijacija može blago utjecati na smanjenje prinosa, dok kasna defolijacija nema takav učinak. Provedbom defolijacije poboljšava se fenolna zrelost i smanjuje prisutnost metoksipirazina, koji daje karakteristične zelene arome ovoj sorti. Ukoliko se kasna defolijacija provodi u toplijim regijama može doći do povećanja alkohola i smanjenja ukupne kiselosti (Filippetti i sur., 2015).

'Cabernet Sauvignon' daje robustna crna vina punog tijela s izraženim taninima i intenzivnom tanocrvenom bojom. Zbog visoke koncentracije polifenola vina imaju potencijal za odležavanje u drvenim bačvama i duže dozrijevanje. Ovisno o klimatu u kojem su proizvedena vina se razlikuju po svojoj strukturi. Vina iz toplijeg klimata su snažnog alkohola i bogata taninima, dok hladnija područja daju elegantnija i aromatičnija vina s većom kiselinom (Jackson, 2020).

3.1.2. Podloga u pokusu

U pokusu je korištena podloga Kober 5BB (*Vitis berlandieri* × *Vitis riparia*), jedna od najčešće primjenjivanih podloga u suvremenoj vinogradarskoj proizvodnji zbog dobre adaptacije na različite tipove tala ali i njenom dobrom afinitetu prema svim sortama *V. vinifera* ali i visokom postotku ukorijenjivanja (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008).

Podloga Kober 5BB je poznata po izraženoj bujnosti koju prenosi na cijepljene sorte, osobito u uvjetima dobre opskrbe vodom (Keller, 2020; Rühl, 1989). Zbog svojih pozitivnih karakteristika povećava otpornost biljke na stresne uvjete poput suše ili visoke temperature (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008). Odlikuje se visokom otpornošću na filokseru te umjerenom tolerancijom na fiziološki aktivno vapno (Reynolds i Wardle, 2001). Kober 5BB također pokazuje povećanu sposobnost usvajanja kalija, što može utjecati na pH mošta i posredno modulirati ekstraktibilnost i stabilnost fenolnih spojeva u grožđu (Jackson, 2020).

Podloga potiče snažan vegetativni rast loze, što može rezultirati većom gustoćom lisne mase i potencijalno sporijim dozrijevanjem grožđa u nedostatku odgovarajućih ampelotehničkih mjera (Keller, 2020; Winkler i sur., 1974). U uvjetima povećane bujnosti često se bilježi sporije nakupljanje šećera i dulje trajanje fenolnog dozrijevanja, dok dobro uravnotežena bujnost omogućuje stabilnu sintezu antocijana i tanina kod sorti s visokim fenolnim potencijalom, kao što su Merlot, Syrah i Cabernet Sauvignon (Robinson, 2006; Jackson, 2020). Podloga Kober 5BB pozitivno utječe na nakupljanje ukupnih i pojedinačnih proantocijanidina u kožici bobica (Reynolds, 2010).

Zbog navedenih svojstava Kober 5BB prikladna je za istraživanja utjecaja rano provedenih ampelotehničkih zahvata, poput djelomične defolijacije, na fenolni sastav grožđa. Kao podloga koja snažno utječe na bujnost i mikroklimu zone grožđa, Kober 5BB može modulirati sintezu polifenola, njihovu ekstraktibilnost te kasniju stabilnost u vinu (Reynolds, 2010; Keller, 2020). U kombinaciji sa sortama Merlot, Syrah i Cabernet Sauvignon omogućuje pouzdanu interpretaciju reakcija trsa na promjene u lisnoj površini i izloženosti grozdova svjetlu.

3.1.3. Pokusni vinograd

Istraživanje je provedeno u dvije uzastopne vegetacijske godine (2015. i 2016.) na Sveučilišnom dobru Baštica, Sveučilišta u Zadru, koje se nalazi 20 km sjeverno do Zadra (44°9'26"N, 15°26'12"E).

Pokusni vinograd je podignut 2007. godine na ukupnoj površini od 6,1 ha sa 25 000 trsova. Razmak između redova iznosi 2,8 m, a između trsova 0,9 m, što čini sklop od 4000 trsova/ha. Orijehtacija redova je sjeveroistok-jugozapad. Vinograd je na ravnom položaju, južne ekspozicije, na 105 m nadmorske visine. Vinograd se nalazi u podregiji Dalmatinska zagora, a pripada vinogorju Benkovac-Stankovci. Vinogorje Benkovac-Stankovci obuhvaća dio vinorodnog područja koje se nalazi u zaleđu Zadra i Biograda te obuhvaća velik dio plodnih Ravnih Kotara. S obzirom na velike različitosti unutar samog vinogorja koje obuhvaća dosta veliko područje, svaki položaj ima i svoje specifičnosti. Najboljim položajima unutar vinogorja smatraju se Nadinsko blato, te pojedini brežuljkasti položaji duž cijelog vinogorja.

Istraživanje je provedeno u istom vinogradu u obje istraživane godine, na sortama 'Merlot', 'Syrah' i 'Cabernet Sauvignon'. Sve tri sorte su podignute na podlozi Kober 5BB. 'Merlot' je posađen na ukupnoj površini od 1,3 ha, 'Syrah' na 0,41 ha, a 'Cabernet Sauvignon' na 2,11 ha. Položaj Arkod čestice vinograda na karti vinogradarskih regija Hrvatske prikazan je na slici 3.



Slika 3. Položaj vinograda i čestica na kojoj je proveden pokus (ARKOD preglednik)

Sorte se nalaze unutar istog vinograda, na odvojenim blokovima sa ujednačenim tlom (pjeskovita ilovača) i na terenu bez nagiba. Kod sve tri sorte primjenjuju se isti ampelotehnički zahvati, ujednačena gnojidba i zaštita od bolesti i štetnika. Uzgojni oblik kod sve tri sorte je jednostruki Guyot s jednim prigojnim reznikom i jednim lucnjem. Uobičajenom rezidbom se na rezniku ostavljaju 2 pupa, a na lucnju 10 do 12 pupova, što čini ukupno opterećenje od 12 do 14 pupova po trsu. Visina stabla je oko 100 cm, te se na toj visini nalazi i osnovna žica. 50 cm i 90 cm iznad osnovne žice nalaze se i dva para pomoćnih žica. U godinama provođenja pokusa u vinogradu nije postojala mogućnost navodnjavanja. Unutar reda primjenjivani su herbicidi u herbicidnom pojasu (širine cca 30 cm), a tlo između redova je bilo zatravljeno te se održavalo malčiranjem. Tlo u pokusnom nasadu na Sveučilišnom dobru Baštica je rigosol pješčano-glinaste teksture, dosta teške strukture te zbog toga nešto teže za obradu. Reakcija tla je alkalna te se prosječna pH vrijednost u površinskim slojevima tla kreće od 7,8 do 8,4. Značajnih razlika nema niti u dubljim slojevima tla. Prosječna vrijednost biljci dostupnih hranjiva iznosi 5-8 mg/100 g tla za fosfor, te 13-15 mg/100 g tla za kalij. Prema izmjerenom sadržaju fosfora i kalija, tlo pripada u kategoriju siromašno opskrbljenih navedenim elementima. U pokusnom vinogradu je u vrijeme provođenja pokusa obavljena redovna jesenska i proljetna gnojidba granuliranim mineralnim gnojivima različitih formulacija, prema

prethodno napravljenoj analizi tla. Prema razini organske tvari tlo je vrlo slabo humozno, te se % humusa nalazi u granicama 1,4 do 1,6 %.

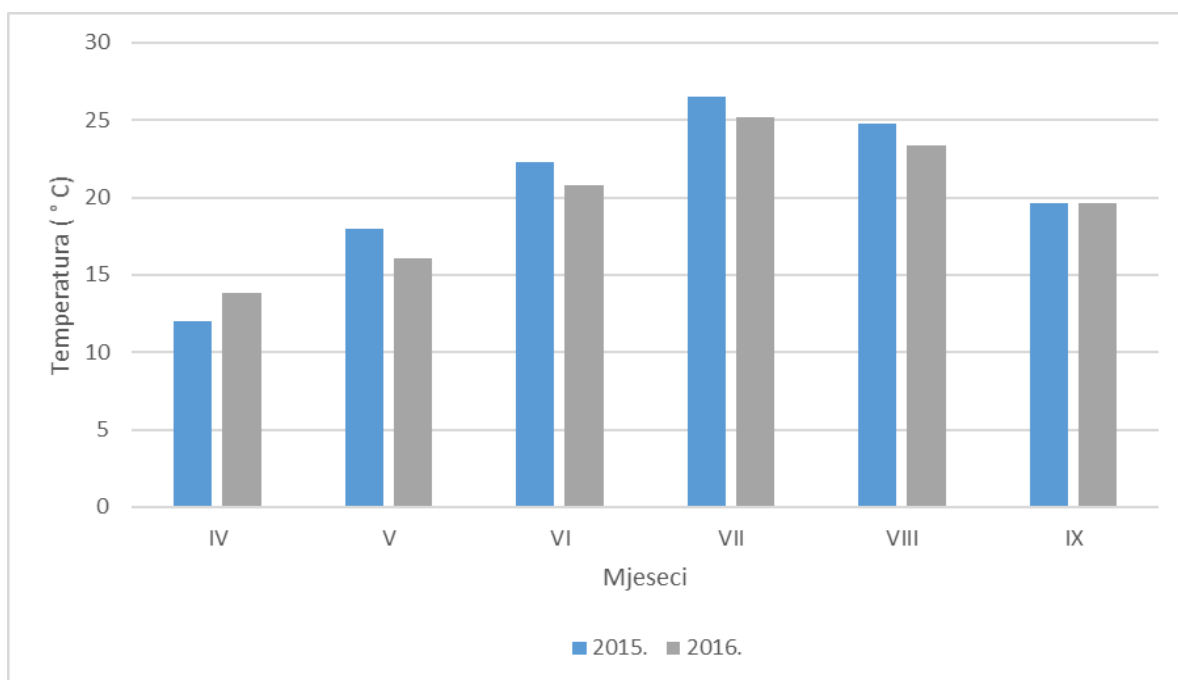
3.1.4. Meteorološki podaci u dvije istraživane godine

Podaci o temperaturama i količini oborina za istraživano razdoblje preuzeti su sa klimatološke meteorološke postaje Benkovac, a podaci o satima sijanja sunca s glavne meteorološke postaje Zadar, Državnog hidrometeorološkog zavoda. Navedene mjerne postaje udaljene su oko 20 km od pokusnog vinograda. Za obradu podataka korištene su srednje mjesečne temperature zraka (°C), količine oborina po mjesecima (mm) te sati sijanja sunca za obje istraživane godine. Na osnovu raspoloživih meteoroloških podataka izračunate su srednje mjesečne i vegetacijske temperature zraka. Iz dobivenih podataka izračunata je i suma efektivnih temperatura koja čini zbroj srednjih dnevnih temperatura iznad 10°C i umanjenih za 10 (biološka nula za vinovu lozu).

3.1.4.1. Temperatura zraka

Srednje mjesečne temperature zraka u vegetaciji za obje godine istraživanja prikazane su u grafikonu 1, te iz prikazanih podataka možemo vidjeti da je u obje godine najtopliji mjesec bio srpanj, s najvišom prosječnom temperaturom 26,5 °C 2015. godine, te 25,2 °C 2016. godine. Najhladniji mjesec u vegetacijskom periodu u obje promatrane godine je bio travanj. Srednja mjesečna temperatura u travnju iznosila je 12,0 °C 2015. godine, a 13,08 °C 2016. godine. Iz grafikona je vidljivo da su temperature u periodu od svibnja do rujna bile više u 2015. u odnosu na 2016. godinu.

Srednja vegetacijska temperatura je u 2015. godini bila viša za 0,7 °C u odnosu na 2016. godinu i iznosila je 20,5 °C, dok je u 2016. srednja vegetacijska temperatura od travnja do rujna iznosila 19,8°C. Svi izmjereni parametri su na nivou višegodišnjeg prosjeka pa možemo zaključiti da su izmjerene temperature u obje godine pogodne za rast i razvoj vinove loze te za dozrijevanje grožđa.

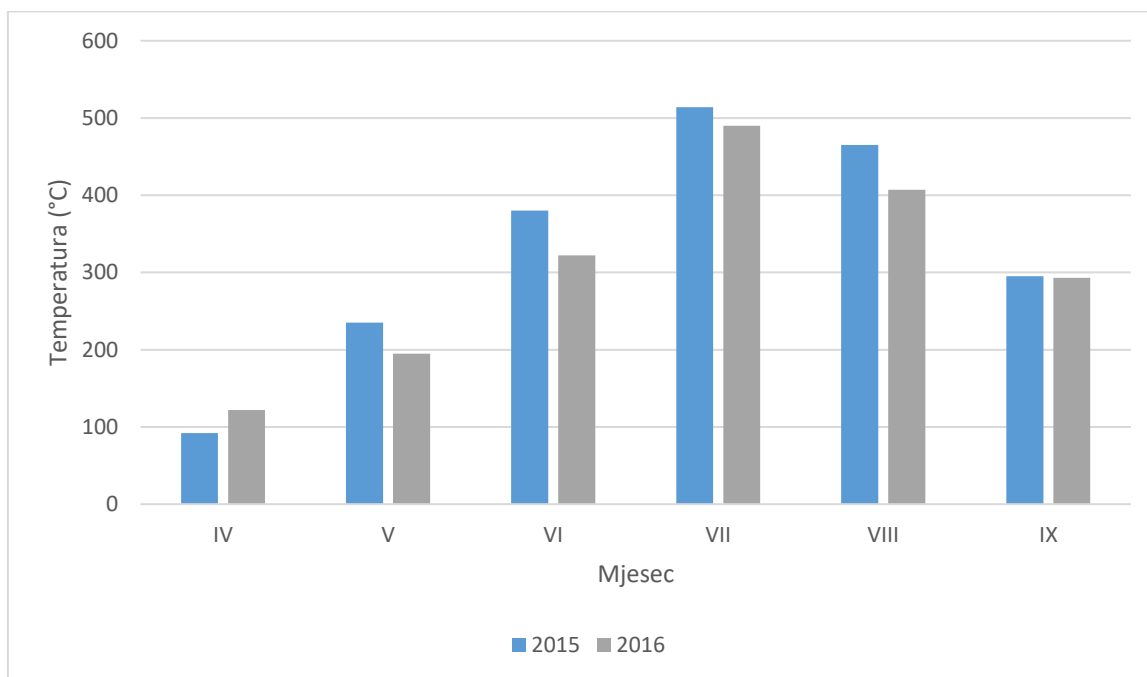


Grafikon 1. Srednje mjesečne temperature zraka u vegetaciji, klimatološka meteorološka postaja Benkovac, 2015. i 2016. godina.

Ako se gleda srednja godišnja temperatura, razlika između godina nije bila toliko značajna jer je srednja godišnja temperatura 2015. godine iznosila 14,8 °C, a 2016. 14,6 °C. U promatranom razdoblju maksimalna prosječna dnevna temperatura izmjerena je 18., 20. i 21.7.2015. godine i iznosila je 30,6 °C, dok je minimalna prosječna dnevna temperatura od -1,1 °C izmjerena 9.2.2015. godine.

Srednje dnevne temperature optimalne za dozrijevanje grožđa kreću se između 20 i 30 °C, pa možemo reći da su temperature dozrijevanja u obje godine bile pogodne. Temperature u fazi cvatnje, te u fenofazi rasta i razvoja bobica su nešto povoljnije bile 2015. nego 2016. godine. Za normalno dozrijevanje grožđa temperature u fazi dozrijevanja ne smiju biti ispod 18 °C, te prema izmjerenim temperaturama možemo reći da je u obje godine temperatura bila povoljna za dozrijevanje.

U grafikonu 2, prikazana je suma efektivnih temperatura u periodu vegetacije u obje godine.

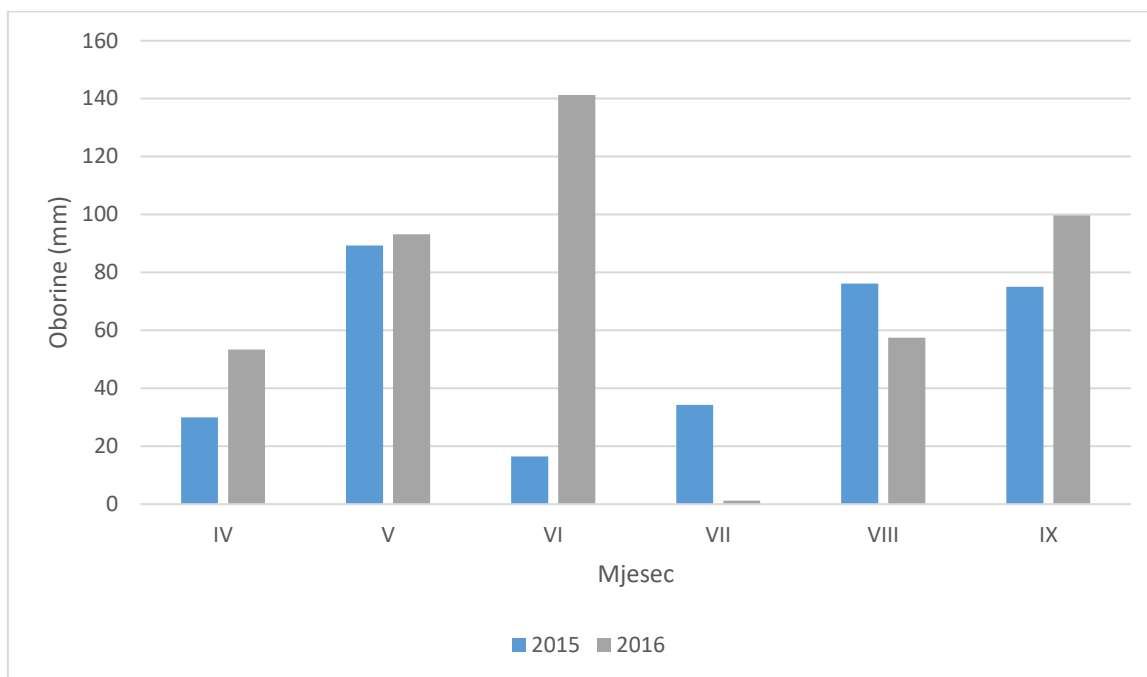


Grafikon 2. Suma efektivnih temperatura u vegetaciji, klimatološka meteorološka postaja Benkovac, 2015. i 2016. godina.

Suma efektivnih temperatura 2015. godine iznosila je ukupno 2083 °C, te prema izmjerenoj sumi ulazi u raspon efektivnih temperatura koje pripadaju zoni C3 u kojoj je suma efektivnih temperatura > 2000 °C. 2016. je imala nešto nižu sumu efektivnih temperatura, 1947 °C, te prema tome pripada rasponu temperatura koje odgovaraju vinogradarskoj zoni C2 a kreću se od 1650 do 2000 °C.

3.1.4.2. Količina i raspored oborina

Prema podacima iz grafikona 3. vidljivo je da je 2016. ukupna količina oborina bila viša nego 2015. godine. Ukupna količina oborina tijekom vegetacije 2015. godine iznosila je 321,4 mm, dok je u 2016. godini bila veća za 125 mm tj. tijekom vegetacije u 2016. godini palo je ukupno 446,2 mm oborina.



Grafikon 3. Količina oborina u vegetaciji, klimatološka meteorološka postaja Benkovac, 2015. i 2016. godina

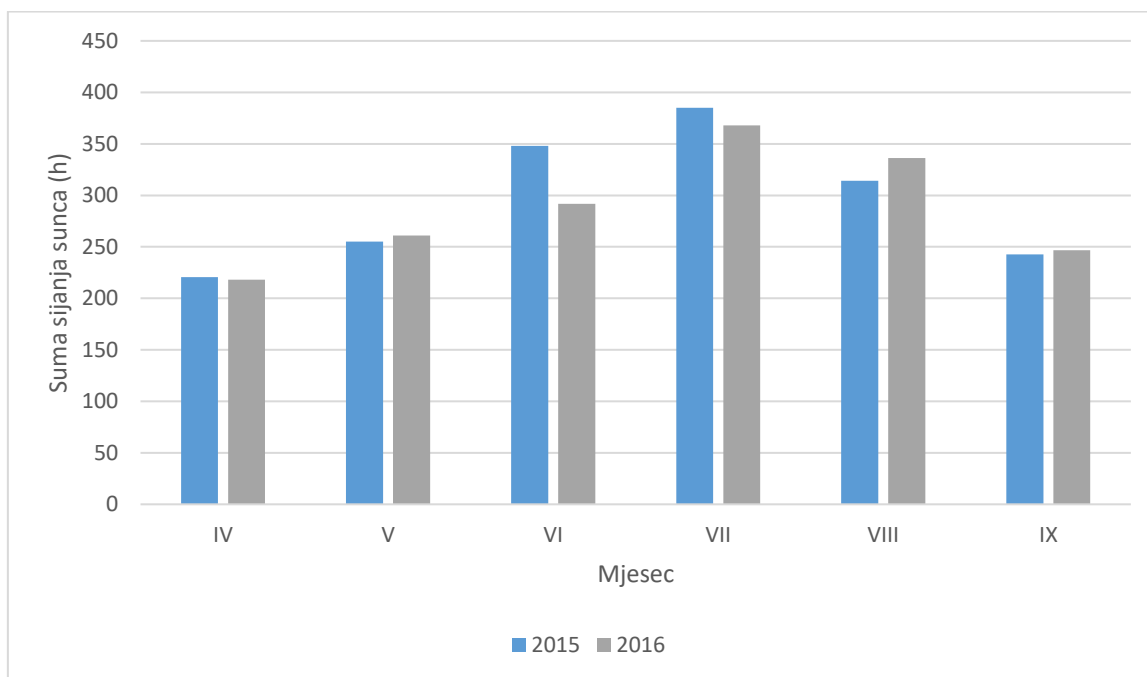
Ukupne količine oborina izmjerene u vegetaciji tijekom obje godine su bile dovoljne za uspješan rast i razvoj vinove loze, međutim raspored oborina tijekom vegetacije se značajno razlikovao. 2015. godina je bila nešto sušnija do sredine listopada, kad je zabilježena i najviša količina oborina u 2015. i u listopadu je iznosila 305 mm, što je iznadprosječna količina oborina. Ta značajna količina oborina krajem listopada nije utjecala na dozrijevanje grožđa jer je berba završena početkom listopada.

Najsušniji mjesec u vegetaciji 2015. godine bio je lipanj sa 16,5 mm oborina, a 2016. godine srpanj kada je zabilježena količina oborina od samo 1,2 mm te je okarakteriziran kao izrazito sušan period.

Ukupna godišnja količina oborina je bila ista u obje godine i iznosila je 942 mm, ali kao što je ranije rečeno, raspored oborina tijekom godine se značajno razlikovao. Iz mjerenih podataka je vidljivo da je 2015. u fazi intenzivnog porasta i razvoja bobica količina oborina bila dosta niska (lipanj i srpanj), dok je 2016. sušni period zabilježen u fazi intenzivnog razvoja bobica u srpnju.

3.1.4.3. Insolacija

Insolacija tj. količina svjetla izražava se sumom sisanja sunca tijekom vegetacije, te je jedan od klimatskih pokazatelja koji značajno utječe na fiziološke procese u vinovoj lozi utječući direktno i na pravilno odvijanje svih fenofaza razvoja. U Grafikonu 4. prikazan je raspored sisanja sunca tijekom vegetacije. Ukupna suma sisanja sunca 2015. godine iznosila je 2603 h; a 2016. godine 2478 h.



Grafikon 4. Suma sisanja sunca, glavna meteorološka postaja Zadar, 2015. i 2016. godina.

Tijekom vegetacijskog ciklusa 2015. godine bilo je ukupno 1766 sunčanih sati, dok je 2016. bilo nešto manje, 1722 sata. Za uspješan rast i razvoj vinove loze potrebno je 1500 do 2500 sati sisanja sunca tijekom vegetacije. Po navedenim podacima, suma sisanja sunca u obje istraživane godine je bila povoljna za normalan rast, razvoj i dozrijevanje vinove loze. U obje godine srpanj je bio mjesec s najviše sunčanih sati, 2015. godine je srpanj imao 385 sati sisanja sunca, a 2016. godine 368 sati. Razlike su u satima sisanja sunca u preostalim vegetacijskim mjesecima. Tako je u 2015. godini sunčaniji mjesec bio lipanj sa 348 sata sisanja sunca, dok je u 2016. godini sunčaniji bio kolovoz sa 336 sata. Travanj je u obje godine bio mjesec sa najmanje sunčanih sati tijekom vegetacije. Svi navedeni podaci su u skladu s višegodišnjim prosjecima sisanja sunca.

3.2. Metode

3.2.1. Postavljanje pokusa

Pokus je postavljen unutar svake sorte po slučajnom bloknom rasporedu s tri tretmana u tri ponavljanja. Svako ponavljanje obuhvatilo je 15 uzastopnih trsova, što je činilo ukupno 135 trsova po sorti tj. pokusom je obuhvaćeno ukupno 405 trsova. Sorte se nalaze u istom vinogradu, u zasebnim redovima, pa je pokus postavljen na isti način kod sve tri sorte. Svi tretmani su ponovljeni u istim redovima u vinogradu u obje istraživane godine. U vinogradu se kod sve tri sorte provode isti ampelotehnički zahvati, ujednačena gnojidba i zaštita od bolesti i štetnika.

Zahvat djelomične defolijacije obavljen je u različitim terminima tj. fenofazama. Prvi tretman djelomične defolijacije obavljen je u fenofazi cvatnje, a drugi u fenofazi šare. Početak glavnih fenofaza određen je vizualno. Fenofaza cvatnje je određena je opadanjem 50 % cvjetnih kapica tj. 50 % otvorenih cvjetova (faza 23. po modificiranoj Eichhorn-Lorenz (E-L) skali), a faza šare procijenjena promjenom boje pokožice (faza 35. po po modificiranoj Eichhorn-Lorenz (E-L) skali) (Coombe,1995).

Na sve tri istraživane sorte postavljen je pokus po varijantama kako slijedi:

- (1) ručna djelomična defolijacija u fenofazi cvatnje (DE-CV)
- (2) ručna djelomična defolijacija u fenofazi šare (DE-Š)
- (3) kontrola u kojoj nije proveden zahvat djelomične defolijacije (K)

U oba tretmana defolijacije uklonjeni su bazalni listovi do visine zadnjeg grozda na mladici (četiri do pet listova) (Slika 4. i 5.)



a)

b)

Slika 4. Defolijacija u cvatnji (a-prije defolijacije; b-nakon defolijacije)



a)

b)

Slika 5. Defolijacija u šari (a-prije defolijacije; b-nakon defolijacije)

Istraživanje je provedeno u tri osnovna dijela:

U prvom djelu praćena je dinamika dozrijevanja grožđa i sinteze polifenola kroz osnovne fizikalno-kemijske analize mošta te analize sadržaja polifenola. Istraživanje je provedeno u periodu od fenofaze šare (što predstavlja prvi termin uzorkovanja u provedenom istraživanju) do fenofaze pune zrelosti (što predstavlja zadnji, peti termin uzorkovanja u provedenom istraživanju) grožđa kod sve tri sorte u obje godine istraživanja. Svi tretmani defolijacije provedeni su prije prvog uzorkovanja vezanog uz praćenje dinamike dozrijevanja. Tijekom navedenog perioda, svakih 10-12 dana brani su uzorci 100 bobica, uzetih sa nasumce

odabranih 20 grozdova, sa različitim pozicijama na grozdu. U svakom terminu uzorkovanja uziman je nezavisan uzorak bobica, prikupljenih s 20 nasumično odabranih grozdova unutar 15 trsova. Uzorkovanje je u svakom terminu provedeno destruktivno, pri čemu su bobice prikupljene s novih, nasumično odabranih grozdova, čime su izbjegnuta ponovljena mjerenja iste eksperimentalne jedinice kako bi se smanjio utjecaj uzorkovanja na daljnje dozrijevanje na razini pojedinog grozda. Od prikupljenih uzoraka bobica, 50 % je uzeto odmah te su u uzorku mošta dobivenog od bobica napravljene sljedeće analize: određivanje sadržaja šećera, ukupna kiselost i pH vrijednosti. Postupak je bio isti za svaku sortu i varijantu.

Preostali uzorci bobica su zaleđeni na -20 °C. Kad su svi uzorci bili prikupljeni, u trenutku berbe grožđa, u njima je napravljena analiza polifenolnog sastava metodom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (High-Performance Liquid Chromatography-HPLC) sukladno metodologiji Zorić i sur. (2014). U uzorcima grožđa tijekom dozrijevanja analizirani su i obrađeni pojedinačni i ukupni antocijani, te pojedinačni i ukupni flavonoli koji su uz antocijane jedini detektirani polifenolni spojevi u kožici bobice u svim uzorcima.

U drugom djelu istraživanja, grožđe je brano u fazi pune zrelosti (zadnji peti termin u obradi podataka). Svaka sorta i varijanta je brana zasebno. Iz svake mase ubranog grožđa izdvojen je nasumični uzorak od 20 grozdova, sa kojih je skinuto po 100 bobica. U skinutim bobicama je napravljena osnovna kemijska analiza, te analiza polifenola u kožici po istim metodama koje su navedene i u prvoj fazi istraživanja.

U trećem, završnom dijelu istraživanja odrađena je berba i vinifikacija. Grožđe je pobrano u trenutku pune zrelosti. Berba je obavljena ručno u plastične sanduke zapremnine 20 kg. Svaka sorta i varijanta je brana zasebno. Ubrano grožđe je vinificirano po standardnom enološkom postupku za crna vina. Nakon muljanja i runjanja na električnoj muljači/runjači, masulj je ostavljen u otvorenim plastičnim posudama gdje se provodila klasična otvorena maceracija sa fermentacijom u trajanju od 7 dana. Prije pokretanja alkoholne fermentacije iz svake posude su uzeti uzorci mošta te su u njima izmjerni sadržaj šećera, ukupna kiselost i pH vrijednost. Svaki dan za vrijeme trajanja maceracije klobuk je potapan dva puta dnevno. Alkoholna fermentacija je vođena na temperaturi između 25°C i 28 °C. Volumen

masulja u svim posudama je bio oko 100 litara. Masulj je sulfitiran K-metabisulfitom (5 g/100L) te su nakon nekoliko sati inokulirani kvasci *Saccharomyces cerevisiae* (D254, ICV, Lallemmand, Montreal) u dozi 25 g/100L. Kvasci su prethodno rehidrirani u skladu s uputama proizvođača, pokrenuta je alkoholna fermentacija. Poslije 7 dana maceracije i fermentacije vino je otočeno, a fermentacija je nastavljena u staklenim posudama volumena 54 L sa vrelnjačom. Po završetku fermentacije, vino je sulfitirano s 5 g K-metabisulfita/100 lit i obavljen je prvi pretok. Dva mjeseca po završetku fermentacije (siječanj) vino od svake sorte i varijante napunjeno je u boce od 0,75 L (50 butelja po varijanti). Vino je dozrijevalo u boci u standardnim podrumskim uvjetima pri temperaturi od 15 °C do 18°C . Uzorkovanje vina za analize provedeno je neposredno nakon punjenja u boce, te nakon 6 mjeseci i nakon godinu dana dozrijevanja (0,6,12). Svako uzorkovanje je provedeno nasumičnim odabirom triju boca koje su činile tri ponavljanja. U svim uzorcima napravljena je analiza polifenolnih spojeva prema prethodno opisanoj metodi. Zbog važnosti i zastupljenosti antocijana u crnim vinima, u svim uzorcima vina naglasak je stavljen na prikaz pojedinačnih i ukupnih antocijana, dok su ostali polifenolni spojevi prikazani zbirno.

3.2.2. Termini provedbe defolijacije i berbe

Vremenski uvjeti su utjecali na početak pojedinih fenofaza te samim time i na provođenje tretmana defolijacije. Nešto niže temperature zraka tijekom svibnja i lipnja 2016. godine odgodili su cvatnju pa je defolijacija u cvatnji provedena 11 dana kasnije u odnosu na 2015. godinu. Kako su srednje dnevne temperature bile niže i tijekom srpnja i fenofaza šare počela nešto kasnije. Tretmani defolijacije u šari su sukladno tome obavljani također 10 dana kasnije u 2016. godini, ali samo kod sorti 'Merlot' i 'Syrah' , dok je defolijacija u šari kod 'Cabernet Sauvignona' obje godine obavljena na isti datum. U tablici 2. prikazani su datumi provođenja tretmana defolijacije u obje istraživane godine.

Tablica 1. Datumi provođenja defolijacije u 2015. i 2016. godini

Sorta	<i>Defolijacija u cvatnji</i>		<i>Defolijacija u šari</i>	
	2015	2016	2015	2016
'Merlot'	26.5.	6.6.	28.7.	8.8.
'Syrah'	26.5.	6.6.	28.7.	8.8.
'Cabernet Sauvignon'	3.6.	14.6.	12.8.	12.8.

Vrijeme berbe u obje istraživane godine razlikovalo se u samo nekoliko dana. Berba 'Merlota' je u 2016. godini bila nešto ranija u odnosu na berbu 2015. godine, vjerojatno zbog ranije spomenutog sušnog razdoblja tijekom srpnja. Datumi berbe za svaku pojedinu sortu prikazani su u tablici 3.

Tablica 2. Vrijeme berbe grožđa 2015. i 2016. godine

Sorta	2015	2016
'Merlot'	25.9.	22.9.
'Syrah'	25.9.	30.9.
'Cabernet Sauvignon'	9.10.	13.10.

3.2.3. Osnovne fizikalno-kemijske analize mošta i vina

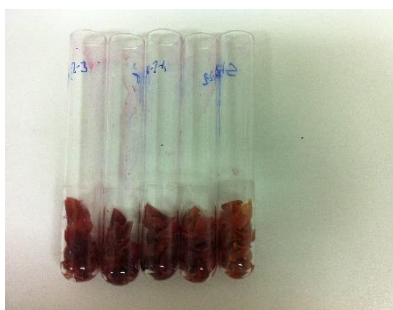
Grožđe iz svakog uzorkovanja od šare do berbe ručno je prešano kako bi se dobio mošt u kojem su mjereni osnovni fizikalno-kemijski parametri. Udio šećera u moštu je mjeran ručnim refraktometrom (RHB 32 ATC; Kina,2007), te je izražen u stupnjevima Oechsle-a (°Oe).

Ukupna kiselost mošta određena je metodom neutralizacije s 0,1 M NaOH uz indikator bromtimol plavi, sukladno O.I.V. (2001) te je izražena u g/L kao vinska kiselina.

pH vrijednost mošta mjerena je pH-metrom Schott, Lab 860 (Njemačka).

3.2.4. Određivanje polifenolnih spojeva primjenom HPLC uz UV/VIS PDA detekciju

Pri svakom uzorkovanju grožđa tijekom dozrijevanja dio uzorka od 3 x 50 bobica je zamrznut na -20°C i čuvan u plastičnim vrećicama do provođenja daljnjih analiza. Sadržaj ukupnih i pojedinačnih polifenola u grožđu i vinu određen je metodom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC) prema metodi Zorić i sur. (2014). Ekstrakcija polifenola iz kožice bobica grožđa provedena je prema metodi koju su ranije opisali Elez Garofulić i sur. (2015). Prije same ekstrakcije odvojena je kožica bobice od preostalog dijela dok je bobica još bila smrznuta i kožice su potom ostavljene na odmrzavanju. Odmrznute kožice su se osušile i usitnile kako bi se masa homogenizirala. U menzure je odvagano 1 g uzorka usitnjenih kožica, dodano je 4 mL ekstrakcijskog otapala (1% mravlje kiseline, 80 % metanol). Ekstrakcija je provedena u ultrazvučnoj kupelji Elmasonic S 40H, Elma, Njemačka 20 minuta na 50 °C. Nakon završene ekstrakcije, dobiveni ekstrakti su filtrirani preko filter papira u odmjerne tikvice od 5 mL, nadopunjene ekstrakcijskim otapalom do oznake.



Slika 6: Priprema uzoraka za ekstrakciju i ekstrakcija

Uzorci su potom filtrirani preko 0,45 μm filtera (Machery-Nagel GmbH & Co.KG, Duren, Njemačka) u staklene posudice za uzorke. Kromatografsko odvajanje provedeno je pomoću HPLC sustava Agilent Infinity 1260 opremljenog detektorom s nizom dioda (PDA; Agilent, Santa Clara, CA, SAD), s automatskim injektorom i softverom za obradu podataka i kontrolu instrumenta ChemStation (verzija C.01.03). Fenolni spojevi razdvojeni su pomoću kolone Luna 100-5C18, 5 μm (250 x 4,6 mm; Phenomenex, Aschaffenburg, Njemačka) uz gradijentno eluiranje. Kao otapalo A korištena je 3 % mravlja kiselina u redestiliranoj vodi, a otapalo B je bila otopina 3 % mravlje kiseline u 80 % acetonitrilu. Korišten je detektor UV/VIS PDA, temperatura kolone 22 °C, injektiran je volumen od 5 μL . u Tablici 1. prikazan je gradijent za analizu fenolnih spojeva.

Tablica 3. Gradijent za HPLC-UV/VIS/PDA analizu fenolnih spojeva (Zorić i sur., 2014)

t (min)	Otapalo A (mL)	Otapalo B (mL)	Protok (mL/min)
0	100	0	0,8
28	75	25	0,8
35	50	50	0,8
40	20	80	0,8
45	100	0	0,8
55	100	0	0,8

3.2.4.1. Identifikacija i kvantifikacija polifenolnih spojeva

Identifikacija polifenolnih spojeva provedena je usporedbom vremena zadržavanja razdvojenih spojeva (R_t) s vremenima zadržavanja standarda i usporedbom karakterističnih UV/VIS-spektara prema podacima koji su prethodno opisani u literaturi (Zorić i sur., 2014). Antocijani su identificirani na 520 nm, flavonoli na 360 nm i fenolne kiseline na 280 nm. Kvantifikacija pojedinačnih spojeva provedena je metodom vanjskog standarda, a vrijednosti su izražene u mg/L u slučaju vina dok

su u slučaju bobica izražene u masenim udjelima (mg/100 g s.tv.). U slučaju spojeva za koje ne postoje komercijalno dostupni standardi vrijednosti su izražene u ekvivalentima kemijski najsirodnijih spojeva.

3.3. Statistička obrada podataka

Kako bi se detaljno procijenio utjecaj termina djelomične defolijacije u zoni grožđa na osnovni kemijski sastav grožđa (mošta) te na sadržaj polifenola tijekom procesa dozrijevanja, provedena je dvosmjerna analiza varijance (ANOVA). U okviru ove analize ispitivana je interakcija dvaju glavnih faktora: tretman defolijacije i termin uzorkovanja. Na temelju interakcije tretmana i termina utvrdilo se da li postoji utjecaj tretmana defolijacije na dinamiku dozrijevanja grožđa (osnovni parametri) i promjenu sadržaja polifenola tijekom dozrijevanja grožđa. Kako je navedeno u poglavlju 3.2.2., svi tretmani defolijacije provedeni su prije prvog termina uzorkovanja.

U dijelu istraživanja usmjerenom na definiranje utjecaja termina defolijacije na stabilnost polifenola tijekom dozrijevanja vina, također je primijenjena dvosmjerna ANOVA. U tom su slučaju testirana je interakcija faktora tretman defolijacije i vrijeme dozrijevanja vina, čime je omogućeno praćenje promjena polifenolnog profila u dinamici dozrijevanja te potencijalnih različitih reakcija pojedinih tretmana kroz vrijeme.

Analize su provedene odvojeno za svaku sortu i godinu istraživanja kako bi se izbjegao mogući utjecaj među-godišnjih varijacija i sortnih specifičnosti, što povećava preciznost interpretacije rezultata.

Nakon provedene dvosmjerne ANOVA-e provedena je usporedba srednjih vrijednosti primjenom Tukey HSD testa na razini pouzdanosti $p < 0$, u slučajevima u kojima je utvrđena statistički značajna interakcija između tretmana defolijacije i termina uzorkovanja, odnosno tretmana defolijacije i vremena dozrijevanja.

Svi prikupljeni podaci bili su organizirani u standardiziranom formatu, a statističke analize provedene su korištenjem softverskog paketa Statistica v. 14.0 (TIBCO Software, Palo Alto, CA, SAD).

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

4.1. Utjecaj djelomične defolijacije na osnovne fizikalno-kemijske parametre u grožđu tijekom dozrijevanja

Rezultati utjecaja različitih tretmana djelomične defolijacije na osnovne analitičke parametre grožđa tijekom dozrijevanja prikazani su u tablicama 4, 5 i 6. Utjecaj različitih tretmana defolijacije na osnovne analitičke parametri mjerene u grožđu tijekom dozrijevanja sorte 'Merlot' prikazan je u tablici 4. Dobiveni rezultati pokazuju određene razlike između dvije vegetacijske sezone u izmjerenim vrijednostima analitičkih parametara. U 2015. godini grožđe je u fazi pune zrelosti, ovisno o tretmanu defolijacije, doseglo sadržaj šećera u rasponu od 83 do 85,67 °Oe te ukupnu kiselost od 4,37 do 4,57 g/L. U 2016. godini utvrđen je veći sadržaj šećera i viša ukupna kiselost u odnosu na prethodnu godinu, pri čemu je izmjeren sadržaj šećera od 88,67 do 89,33 °Oe i 5,83 do 6,15 g/L ukupne kiselosti. Kao što je i očekivano, najveći sadržaj šećera u 2015. godini izmjeren je u zadnjim terminima uzorkovanja, odnosno u fazi pune zrelosti, dok je u 2016. godini najveći sadržaj šećera izmjeren u predzadnjem terminu uzorkovanja iako se sadržaj šećera nije značajno razlikovao od zadnjeg termina uzorkovanja. Vrijeme provedbe djelomične defolijacije pokazalo se važnim čimbenikom u procesu nakupljanja šećera i smanjenju ukupne kiselosti u grožđu tj. utvrđena je značajna interakcija tretmana i termina uzorkovanja za sve parametre u obje godine istraživanja osim pH vrijednosti u 2015. godini.

U obje godine istraživanja, najveći sadržaj šećera u zadnjem terminu uzorkovanja (puna zrelost) izmjeren je u grožđu u kojem je provedena djelomična defolijacija u cvatnji međutim razlika nije statistički značajna u odnosu na kontrolu i defolijaciju u šari. U 2015. godini, osnovna razlika u dinamici sadržaja šećera između oba tretmana defolijacije i kontrole, jest veći sadržaj šećera i niža ukupna kiselost kod kontrole u prvom terminu uzorkovanja, dok se ta razlika kroz dozrijevanje smanjuje. U 2016. godini je dinamika nakupljanja sadržaja šećera bila slična u tretmanima defolijacije i kontroli od početnih uzorkovanja pa do pune zrelosti. Ukupna kiselost u prvim uzorkovanjima bila je nešto viša u tretmanima defolijacije u odnosu na kontrolu, a konačne vrijednosti u punoj zrelosti se nisu značajno razlikovale.

Tablica 4. Utjecaj djelomične defolijacije na osnovne analitičke parametre grožđa sorte 'Merlot' u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja, u dvije godine istraživanja (2015.–2016.)

Tretman defolijacije (T) ^B	Termin uzorkovanja (TU) ^C	2015			2016		
		Sadržaj šećera (°Oe)	Ukupna kiselost (g/L)	pH	Sadržaj šećera (°Oe)	Ukupna kiselost (g/L)	pH
Kontrola	1	63,33±2,08 ^h	9,78±0,24 ^b	3,17±0,06	61,00±2,65 ^d	10,90±0,70 ^b	2,60±0,10 ^g
	2	69,67±2,08 ^g	6,43±0,06 ^e	3,35±0,05	74,33±1,53 ^c	8,70±0,70 ^c	2,93±0,06 ^{ef}
	3	76,67±1,15 ^{de}	5,63±0,06 ^{fg}	3,45±0,05	85,33±0,58 ^{ab}	7,13±0,15 ^d	3,15±0,05 ^{cd}
	4	81,00±2,00 ^{bc}	5,03±0,06 ^h	3,55±0,05	88,67±1,15 ^a	6,37±0,12 ^{de}	3,35±0,02 ^{ab}
	5	83,00±1,00 ^{ab}	4,53±0,06 ⁱ	3,62±0,05	86,33±0,58 ^{ab}	6,15±0,05 ^{de}	3,27±0,03 ^{abc}
Cvatnja	1	61,00±1,00 ^{hi}	9,32±0,10 ^c	3,18±0,03	64,33±1,53 ^d	11,57±0,21 ^{ab}	2,53±0,06 ^g
	2	73,67±1,15 ^{ef}	6,68±0,08 ^{de}	3,35±0,05	73,67±0,58 ^c	8,63±0,40 ^c	2,78±0,08 ^f
	3	76,67±0,58 ^{de}	5,30±0,10 ^{gh}	3,53±0,06	82,33±1,53 ^b	7,20±0,17 ^d	3,03±0,08 ^{de}
	4	83,67±0,58 ^{ab}	4,97±0,06 ^h	3,57±0,06	89,33±1,53 ^a	6,38±0,08 ^{de}	3,27±0,02 ^{abc}
	5	85,67±0,58 ^a	4,42±0,08 ⁱ	3,62±0,03	88,33±0,58 ^a	6,08±0,08 ^{de}	3,18±0,03 ^{bcd}
Šara	1	58,00±1,00 ⁱ	10,23±0,32 ^a	3,07±0,06	60,67±1,53 ^d	12,30±0,90 ^a	2,53±0,06 ^g
	2	70,67±0,58 ^{fg}	6,90±0,10 ^d	3,28±0,03	73,33±0,58 ^c	8,70±0,26 ^c	3,03±0,06 ^{de}
	3	78,33±0,58 ^{cd}	5,87±0,15 ^f	3,45±0,05	83,33±0,58 ^b	7,03±0,23 ^d	3,28±0,03 ^{abc}
	4	82,33±0,58 ^{ab}	5,00±0,10 ^h	3,50±0,00	88,67±2,08 ^a	5,83±0,21 ^e	3,42±0,02 ^a
	5	84,67±0,58 ^a	4,37±0,06 ⁱ	3,57±0,06	87,67±0,58 ^a	5,83±0,06 ^e	3,37±0,06 ^a
ANOVA TxTU ^A		**	***	n.s.	*	*	*

Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). ^ATxTU signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja temeljem dvosmjerne analize varijance, n.s.– interakcija nije signifikantna, *, ** i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora. ^BTretman defolijacije (T): Kontrola – bez defolijacije; Cvatnja-djelomična defolijacija u cvatnji; Šara-djelomična defolijacija u šari, ^CTermin uzorkovanja (TU) : 1–šara, 5–puna zrelost, dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perioda.

Utjecaj različitih tretmana defolijacije na osnovne analitičke parametre mjerene u grožđu tijekom dozrijevanja sorte 'Syrah' prikazan je u tablici 5.

Rezultati također pokazuju da su se dvije godine istraživanja međusobno razlikovale u izmjerenim vrijednostima osnovnih analitičkih parametara kod grožđa u punoj zrelosti, pri čemu je za razliku od 'Merlota', kod 'Syraha' je u 2015. godini izmjeren nešto veći sadržaj šećera, ali niža ukupnu kiselost nego u 2016. godini. U 2015. godini grožđe je u fazi pune zrelosti doseglo sadržaj šećera od 87,67 do 90,67 °Oe te ukupnu kiselost od 4,80 do 5,50 g/L. U 2016. godini izmjeren je nešto manji sadržaj šećera (82,33-86,67°Oe) i viša ukupna kiselost (5,47-6,07 g/L).

Kao i kod prethodne sorte, tretman djelomične defolijacije pokazalo se važnim čimbenikom u procesu nakupljanja šećera i smanjenju ukupne kiselosti u grožđu tj. utvrđena je značajna interakcija tretmana i termina uzorkovanja za sve parametre u obje godine istraživanja osim pH vrijednosti u 2015. godini.

Kod oba tretmana djelomične defolijacije su u 2015. godini utvrđene značajne razlike u dinamici nakupljanja šećera tj. značajno povećanje sadržaja šećera u grožđu u zadnja dva termina prema punoj zrelosti u odnosu na kontrolu, premda je u početnim terminima veći sadržaj šećera izmjeren u kontroli. U 2016. godini razlika u dinamici nakupljanja šećera vidljiva je tek u zadnjem terminu uzorkovanja gdje je u oba tretmana defolijacije izmjeren veći sadržaj šećera u odnosu na kontrolu.

Utjecaj defolijacije na ukupnu kiselost razlikovao se ovisno o godini istraživanja. U 2015. godini defolijacija provedena u šari utjecala je na sporije smanjenje ukupne kiselosti u odnosu na kontrolu i defolijaciju u cvatnji. U 2016. godini dinamika kod kontrole se značajno razlikovala u odnosu na oba tretmana defolijacije, pri čemu se to očitovalo u značajno većim vrijednostima u prvom uzorkovanju, a prema punoj zrelosti su se te razlike smanjivale što je na kraju rezultiralo vrijednostima koje nisu statistički značajne.

Provedeni tretmani defolijacije nisu pokazali značajan utjecaj na dinamiku promjene pH vrijednosti kroz termine u 2015. godini, dok je u 2016. godini utvrđen manji, ali statistički značajan utjecaj na promjene pH vrijednosti tijekom dozrijevanja. Defolijacija u šari je značajnije utjecala na povećanje pH vrijednosti u punoj zrelosti u odnosu na preostala dva tretmana.

Tablica 5. Utjecaj djelomične defolijacije na osnovne analitičke parametre grožđa sorte 'Syrah' u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja, u dvije godine istraživanja (2015.–2016.)

Tretman defolijacije (T) ^B	Termin uzorkovanja (TU) ^C	2015			2016		
		Sadržaj šećera (°Oe)	Ukupna kiselost (g/L)	pH	Sadržaj šećera (°Oe)	Ukupna kiselost (g/L)	pH
Kontrola	1	65,67±0,58 ⁱ	9,55±0,05 ^a	3,07±0,06	52,67±1,53 ^g	14,83±0,40 ^a	2,73±0,06 ^e
	2	68,67±0,58 ^{gh}	7,22±0,10 ^b	3,27±0,06	63,67±1,15 ^f	10,20±0,10 ^c	2,93±0,06 ^d
	3	77,00±1,00 ^e	6,37±0,12 ^c	3,37±0,06	70,67±0,58 ^e	8,90±0,10 ^{de}	3,12±0,03 ^{bc}
	4	81,33±0,58 ^d	5,82±0,10 ^d	3,48±0,03	79,00±3,00 ^{bc}	6,63±0,15 ^{fg}	3,27±0,05 ^{ab}
	5	87,67±0,58 ^b	4,87±0,12 ^f	3,63±0,06	82,33±1,53 ^{ab}	6,07±0,15 ^{gh}	3,24±0,06 ^{ab}
Cvatnja	1	62,33±0,58 ^j	9,77±0,06 ^a	3,13±0,06	54,33±2,08 ^g	13,82±0,18 ^b	2,63±0,06 ^e
	2	70,33±1,15 ^g	7,22±0,08 ^b	3,35±0,05	62,67±2,52 ^f	10,40±0,10 ^c	2,97±0,06 ^{cd}
	3	79,00±1,00 ^e	6,33±0,06 ^c	3,45±0,05	73,00±2,00 ^{de}	8,60±0,36 ^{de}	3,13±0,06 ^b
	4	84,33±0,58 ^c	5,43±0,06 ^e	3,50±0,0	74,33±1,53 ^{cde}	7,07±0,15 ^f	3,27±0,03 ^{ab}
	5	90,67±0,58 ^a	4,80±0,10 ^f	3,62±0,03	86,67±1,53 ^a	5,57±0,23 ^h	3,37±0,06 ^a
Šara	1	60,67±0,28 ^j	9,77±0,06 ^a	3,12±0,03	53,33±2,79 ^g	13,80±0,20 ^b	2,77±0,06 ^e
	2	67,33±0,58 ^{hi}	7,22±0,03 ^b	3,28±0,03	64,00±1,00 ^f	9,57±0,97 ^{cd}	2,93±0,06 ^d
	3	74,67±0,58 ^f	6,43±0,06 ^c	3,40±0,00	71,00±1,00 ^e	8,53±0,35 ^e	3,12±0,08 ^{bc}
	4	83,33±0,58 ^{cd}	5,58±0,08 ^{de}	3,45±0,05	77,33±1,15 ^{bcd}	6,63±0,06 ^{fg}	3,23±0,06 ^{ab}
	5	90,67±0,58 ^a	5,50±0,10 ^e	3,57±0,06	86,67±2,08 ^a	5,47±0,06 ^h	3,37±0,06 ^a
ANOVA TxTU ^A		***	***	n.s.	**	*	*

Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). ^ATxTU signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja temeljem dvosmjerne analize varijance, n.s.– interakcija nije signifikantna, *, ** i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora. ^BTretman defolijacije (T): Kontrola – bez defolijacije; Cvatnja-djelomična defolijacija u cvatnji; Šara-djelomična defolijacija u šari, ^CTermin uzorkovanja (TU) : 1–šara, 5–puna zrelost, dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perioda.

Utjecaj različitih tretmana defolijacije na osnovne analitičke parametri mjerene u grožđu tijekom dozrijevanja sorte 'Cabernet Sauvignon' prikazani su u tablici 6.

Dvije vegetacijske sezone su se također međusobno razlikovale u izmjerenim parametrima kao i kod prethodne dvije opisane sorte. Kao i kod sorte 'Merlot', u 2016. godini je grožđe sorte 'Cabernet Sauvignon' imalo veći sadržaj šećera. U 2015. godini grožđe je u punoj zrelosti, ovisno o tretmanu defolijacije, nakupilo od 85,33 do 87 °Oe, a ukupna kiselost bila je u rasponu od 5,80 do 5,97 g/L. U 2016. godini grožđe je u vrijeme pune zrelosti imalo veći sadržaj šećera (89-92 °Oe) te nižu ukupnu kiselost (5,33-5,50 g/L). Kao što je i bilo očekivano, najveći sadržaj šećera izmjeren je u zadnjim terminima uzorkovanja, odnosno u fazi pune zrelosti.

Značajna interakcija između tretmana i termina uzorkovanja utvrđena je u obje godine kod svih parametara osim kod pH vrijednosti u 2016. godini. Razlike u dinamici sadržaja šećera vidljive su kroz značajno više vrijednosti u prvom uzorkovanju kod defolijacije provedene u cvatnji, zatim u šari u odnosu na kontrolu, međutim navedene razlike se tijekom dozrijevanja smanjuju i u punoj zrelosti nisu značajne. Ovakav utjecaj jače je izražen u 2015. godini, dok je u 2016. godini zanemariv.

Utjecaj defolijacije na dinamiku ukupne kiselosti razlikovao se između godina. U 2015. godini provedba defolijacije u cvatnji utjecala je na razliku ukupne kiselosti samo u prvom terminu uzorkovanja gdje je izmjerena niža ukupna kiselost u odnosu na preostala dva tretmana. Tijekom dozrijevanja, te u punoj zrelosti izmjerene su slične vrijednosti tj. nije evidentiran utjecaj provedbe defolijacije. Sličan utjecaj je zabilježen i u 2016. godini.

Provedeni tretmani defolijacije nisu pokazali značajan utjecaj na dinamiku pH vrijednosti kroz termine u 2016. godini, dok je u 2015. godini utvrđen manji, ali statistički značajan utjecaj na promjene pH vrijednosti tijekom dozrijevanja. Defolijacija u cvatnji u predzadnjem terminu uzorkovanja značajno je utjecala na povećanje pH vrijednosti u odnosu na preostala dva termina. Provedba defolijacije nije utjecala na pH vrijednost u grožđu u punoj zrelosti.

Tablica 6. Utjecaj djelomične defolijacije na osnovne analitičke parametre grožđa sorte 'Cabernet sauvignon' u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja, u dvije godine istraživanja (2015.–2016.)

Tretman defolijacije (T) ^B	Termin uzorkovanja (TU) ^C	2015			2016		
		Sadržaj šećera (°Oe)	Ukupna kiselost (g/L)	pH	Sadržaj šećera (°Oe)	Ukupna kiselost (g/L)	pH
Kontrola	1	66,00±1,00 ^h	11,77±0,31 ^a	2,97±0,06 ^h	67,67±0,58 ^{gh}	11,23±0,38 ^b	2,90±0,10
	2	70,00±1,00 ^f	8,60±0,60 ^c	3,17±0,06 ^{fg}	70,33±0,58 ^{fg}	11,10±0,30 ^b	3,03±0,06
	3	78,00±1,00 ^e	6,13±0,15 ^{ef}	3,32±0,03 ^{de}	80,67±0,58 ^{de}	9,10±0,17 ^c	3,20±0,05
	4	84,67±0,58 ^{abc}	5,97±0,15 ^f	3,43±0,06 ^{abc}	84,67±1,53 ^c	7,37±0,31 ^d	3,31±0,01
	5	85,67±0,58 ^a	5,80±0,10 ^f	3,52±0,03 ^a	91,67±1,53 ^a	5,50±0,26 ^e	3,43±0,06
Cvatnja	1	69,67±2,08 ^{fg}	10,10±0,36 ^b	3,10±0,00 ^g	67,00±1,00 ^{gh}	12,32±0,13 ^a	2,80±0,10
	2	71,33±0,58 ^f	8,13±0,15 ^c	3,27±0,03 ^{ef}	72,67±1,53 ^f	10,95±0,40 ^b	3,07±0,06
	3	81,33±1,53 ^{cde}	7,00±0,20 ^d	3,40±0,05 ^{bcd}	82,33±0,58 ^{cde}	9,27±0,06 ^c	3,20±0,00
	4	83,67±0,58 ^{abc}	6,00±0,20 ^f	3,52±0,03 ^a	84,33±2,31 ^{cd}	7,73±0,35 ^d	3,27±0,03
	5	87,00±1,00 ^a	5,90±0,10 ^f	3,50±0,00 ^{ab}	92,00±1,00 ^a	5,33±0,06 ^e	3,40±0,00
Šara	1	66,33±1,15 ^{gh}	11,37±0,67 ^a	3,10±0,03 ^g	64,33±0,58 ^h	12,30±0,20 ^a	2,87±0,06
	2	71,67±1,53 ^f	8,27±0,25 ^c	3,28±0,03 ^e	69,33±1,15 ^{f,g}	10,55±0,61 ^b	3,07±0,06
	3	80,67±1,15 ^{de}	6,80±0,20 ^{de}	3,37±0,06 ^{cde}	79,00±1,00 ^e	8,95±0,06 ^c	3,22±0,03
	4	82,00±1,00 ^{bcd}	5,97±0,15 ^f	3,48±0,03 ^{ab}	85,33±2,08 ^{bc}	7,35±0,21 ^d	3,28±0,03
	5	85,33±1,15 ^{ab}	5,97±0,06 ^f	3,50±0,00 ^{ab}	89,00±1,00 ^{ab}	5,47±0,25 ^e	3,43±0,06
ANOVA TxTU ^A		**	***	*	*	**	n.s.

Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). ^ATxTU signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja temeljem dvosmjerne analize varijance, n.s.– interakcija nije signifikantna, *, ** i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora. ^BTretman defolijacije (T): Kontrola – bez defolijacije; Cvatnja-djelomična defolijacija u cvatnji; Šara-djelomična defolijacija u šari, ^CTermin uzorkovanja (TU) : 1–šara, 5–puna zrelost, dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perioda.

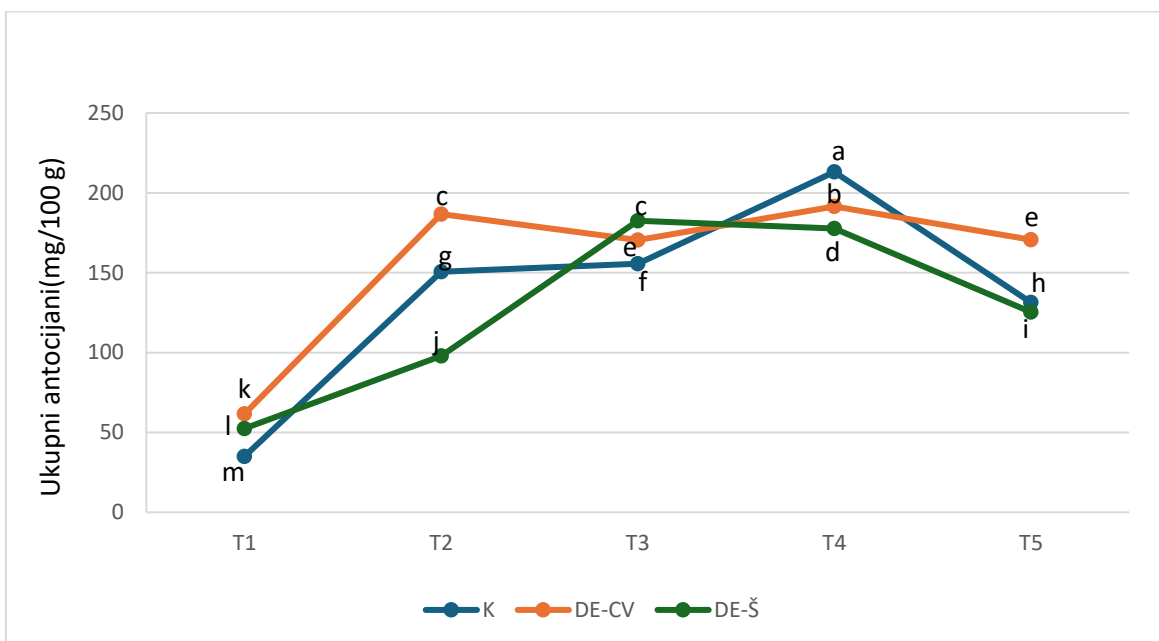
4.2. Utjecaj tretmana djelomične defolijacije na nakupljanje i sadržaj antocijana tijekom dozrijevanja grožđa

U svim analiziranim uzorcima kože grožđa detektirane su dvije skupine polifenolnih spojeva i to antocijani i flavonoli. U kožici grožđa svih istraživanih sorti ukupno je identificirano i kvantificirano 15 pojedinačnih polifenolnih spojeva koji pripadaju navedenim skupinama. U kožici sorti 'Merlot' i 'Syrah' u obje istraživane godine te u 'Cabernet Sauvignonu' u 2016. godini identificirano je devet pojedinačnih antocijana, dok je u kožici iste u 2015. godini identificirano osam pojedinačnih antocijana. Većina identificiranih antocijana bila je prisutna u glukozidnom obliku, dok su acetilni i kumarilni derivati bili zastupljeni u manjoj mjeri. Najzastupljeniji antocijan u svim istraživanim sortama u obje godine bio je malvidin-3-O-glukozid. Iznimku je činila sorta 'Syrah' u 2015. godini kod kojeg je zabilježen najveći sadržaj petunidin-3-O-glukozida (Tablice 7,8 i 9).

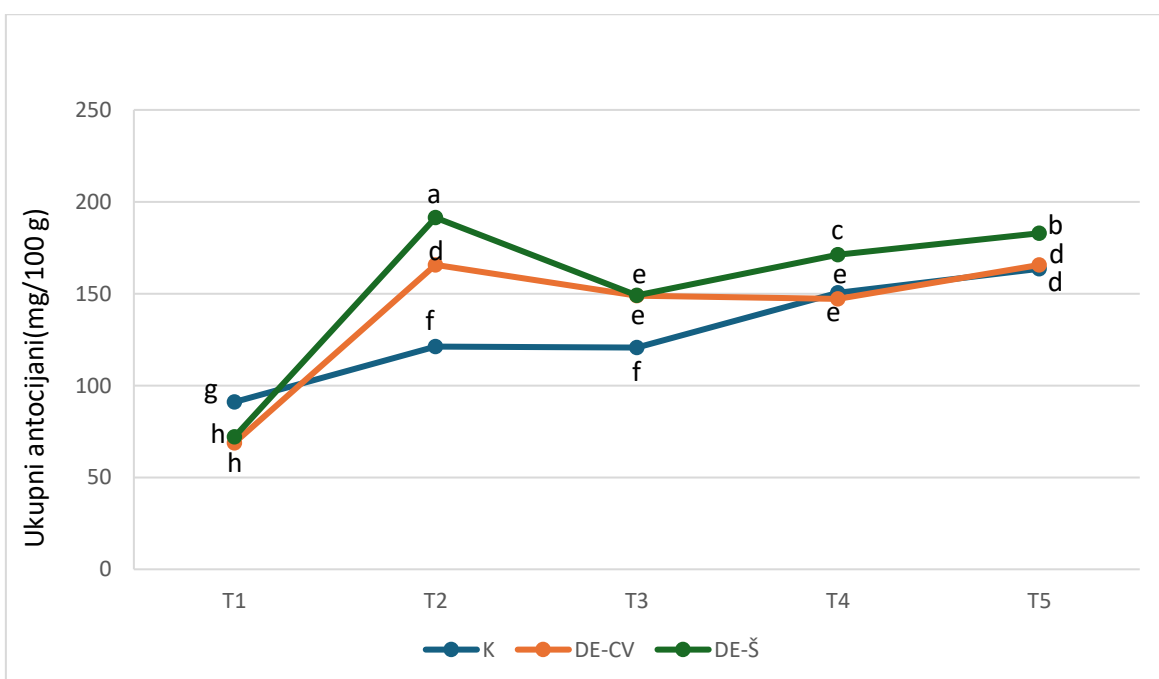
Budući da je grožđe uzorkovano u 5 termina, počevši od šare pa sve do pune zrelosti, nakupljanje ukupnih antocijana tijekom dozrijevanja grožđa kod sve tri istraživane sorte prikazana je u grafikonima 5 do 10.

Grafikoni 5 i 6 prikazuju dinamiku nakupljanja ukupnih antocijana u kožici tijekom dozrijevanja kod sorte 'Merlot' u dvije godine istraživanja (2015. i 2016.)

Dvosmjernom analizom varijance utvrđena je značajna interakcija između tretmana defolijacije i termina uzorkovanja u obje godine istraživanja na temelju čega zaključujemo kako je dinamika nakupljanja antocijana bila različita tijekom dozrijevanja grožđa ovisno o tretmanu defolijacije. 2015. godini najveći sadržaj ukupnih antocijana tijekom dozrijevanja grožđa izmjeren je u predzadnjem terminu uzorkovanja u kontrolnom tretmanu (213,1 mg/100 g). Nakon toga je došlo do smanjenja sadržaja ukupnih antocijana u zadnjem terminu uzorkovanja odnosno u fazi pune zrelosti. U fazi pune zrelosti najveći sadržaj ukupnih antocijana izmjeren je u tretmanu defolijacije u cvatnji (170,67 mg/100 g).



Grafikon 5. Sadržaj ukupnih antocijana u koži sorte 'Merlot', u 2015. godini tijekom dozrijevanja kod različitih tretmana defolijacije (Termin: 1-šara, 5-puna zrelost dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perioda. K-kontrola bez defolijacije, DE-CV-defolijacija u cvatnji, DE-Š-defolijacija u šari). Srednje vrijednosti označene različitim slovima statistički su značajno različite uz $p < 0,05$ korištenjem Tukey HSD test na razini interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja.



Grafikon 6. Sadržaj ukupnih antocijana u koži sorte 'Merlot', u 2016. godini tijekom dozrijevanja kod različitih tretmana defolijacije (Termin: 1-šara, 5-puna zrelost dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perioda. K-kontrola bez defolijacije, DE-CV-defolijacija u cvatnji, DE-Š-defolijacija u šari). Srednje vrijednosti označene različitim slovima statistički su značajno različite uz $p < 0,05$ korištenjem Tukey HSD test na razini interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja.

U 2016. godini zabilježen je nešto drukčiji obrazac nakupljanja antocijana tijekom dozrijevanja grožđa u odnosu na prethodnu godinu. Najveći sadržaj ukupnih antocijana u vrijeme dozrijevanja izmjeren je u drugom terminu uzorkovanja kod tretmana defolijacije u šari (191,34 mg/100 g), koji je i u vrijeme berbe imao najveći sadržaj ukupnih antocijana (182,79 mg/100 g) (Grafikon 6).

Iz prikazanih rezultata je vidljivo da je provedba tretmana defolijacije utjecala na povećanje sadržaja ukupnih antocijana tijekom dozrijevanja grožđa sorte 'Merlot', ali i u grožđu u punoj zrelosti. Na konačni sadržaj ukupnih antocijana u 2015. godini veći utjecaj je imala provedba defolijacije u cvatnji, a 2016. godine provedba defolijacije u šari.

Utjecaj provedbe tretmana defolijacije na sadržaj pojedinačnih antocijana u 'Merlotu' prikazan je u tablicama 7 i 8. Provedeni tretmani djelomične defolijacije u obje godine istraživanja rezultirali su povećanjem sadržaja većine pojedinačnih antocijana u odnosu na kontrolu u punoj zrelosti, osim na cijanidin-3-O-glukozid i peonidin-3-O-glukozid u 2015. godini. U 2015. godini veći utjecaj na povećanje sadržaja pojedinačnih antocijana imala je defolijacija provedena u cvatnji, dok je u 2016. godini izraženiji utjecaj zabilježen kod defolijacije provedene u šari.

Interakcija tretmana defolijacije i termina uzorkovanja bila je značajna kod svih pojedinačnih antocijana u obje godine istraživanja što nam potvrđuje da promjena njihovog sadržaja tijekom dozrijevanja ovisila o tretmanu defolijacije. Kod najzastupljenijeg pojedinačnog spoja iz ove skupine, malvidina (svih derivata) u 2015. godini, dinamika kretanja bila je specifična po najvišoj koncentraciji u početnom i završnom terminu uzorkovanja, tj. imala je najmanji pad u odnosu na kontrolu i defolijaciju u šari. Sličnu dinamiku nalazimo i kod ostalih pojedinačnih antocijana u 2015. godini.

U 2016. godini dinamika kontrolnog tretmana razlikuje se po najvišem početnom sadržaju malvidina (svih derivata) i delphinidin-3-O-glukozida koja je kasnije prema punoj zrelosti niža od tretmana defolijacije u šari. Defolijacija u cvatnji u 2016. godini ostaje na razini kontrole ili čak blago ispod u određenim terminima uzorkovanja

Tablica 7. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih antocijana u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Merlot' u 2015. godini

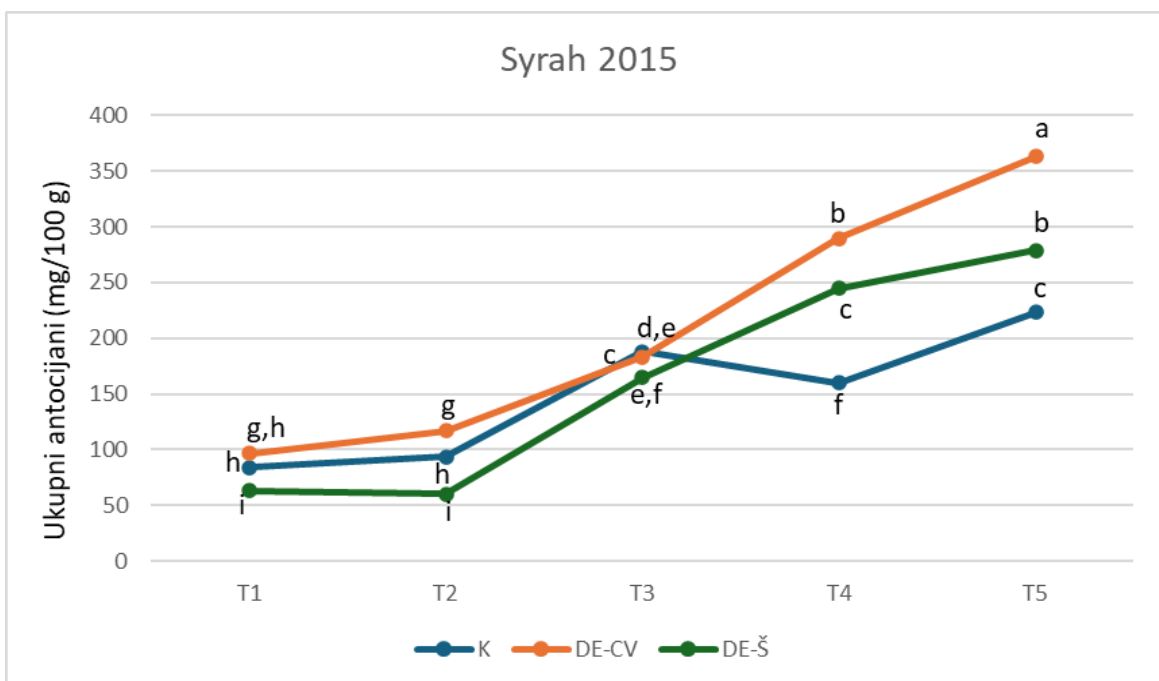
		Sadržaj antocijana (mg/100 g)								
Tretman defolijacije (T) ^B	Termin uzorkovanja (TU) ^C	Del-3-O-Glc	Cij-3-O-Glc	Pet-3-O-Glc	Peo-3-O-Glc	Malv-3-O-Glc	Pet-3-O-Ac-Glc	Peo-3-O-Ac-Glc	Mal-3-O-Ac-Glc	Mal-3- <i>p</i> -kum-Glc
Kontrola	1	2,25±0,30 ⁱ	0,40±0,14 ^h	2,19±0,23 ^g	1,28±0,26 ⁱ	14,84±0,17 ^k	n.d.	0,55±0,11 ^h	7,37±0,12 ^j	6,20±0,24 ^m
	2	7,62±0,21 ^f	1,04±0,25 ^{fg}	8,36±0,22 ^d	5,45±0,33 ^f	62,72±2,51 ^f	1,21±0,13 ^{de}	1,79±0,04 ^{abc}	32,86±0,32 ^{ef}	29,18±0,21 ^g
	3	8,44±0,38 ^{ef}	1,28±0,11 ^{efg}	8,46±0,47 ^d	6,03±0,06 ^{ef}	65,29±0,90 ^e	1,77±0,31 ^{bc}	1,75±0,22 ^{bcd}	32,19±0,21 ^f	30,39±0,25 ^f
	4	12,26±0,41 ^a	1,66±0,14 ^{cde}	11,15±0,30 ^{ab}	7,46±0,43 ^{bc}	89,46±0,78 ^a	1,97±0,13 ^{ab}	2,31±0,15 ^{ab}	42,22±0,30 ^a	44,62±0,56 ^a
	5	8,98±0,65 ^{de}	6,32±0,21 ^a	8,55±0,51 ^d	7,31±0,27 ^{cd}	51,36±0,50 ^g	0,66±0,20 ^f	0,88±0,14 ^{gh}	22,14±0,19 ^h	25,24±0,24 ^h
Cvatnja	1	4,10±0,23 ^h	0,93±0,10 ^{fg}	3,83±0,09 ^f	2,63±0,17 ^h	24,60±0,56 ⁱ	0,71±0,04 ^f	1,08±0,24 ^{fgh}	12,87±0,17 ⁱ	10,89±0,21 ^k
	2	12,00±0,23 ^a	1,88±0,29 ^{bc}	11,76±0,70 ^a	7,22±0,25 ^{cd}	74,96±0,45 ^b	1,90±0,13 ^{ab}	2,46±0,34 ^a	37,32±0,40 ^b	37,15±0,29 ^{bc}
	3	11,09±0,19 ^b	1,96±0,20 ^{bc}	9,85±0,24 ^c	6,71±0,16 ^{de}	68,75±0,48 ^{cd}	1,89±0,14 ^{ab}	2,08±0,22 ^{abc}	33,20±0,25 ^{ef}	34,96±0,45 ^d
	4	12,10±0,25 ^a	2,02±0,18 ^{bc}	10,23±0,22 ^{bc}	7,16±0,17 ^{cd}	75,00±0,39 ^b	1,88±0,07 ^{ab}	2,05±0,10 ^{abc}	36,17±0,22 ^c	44,89±0,39 ^a
	5	10,18±0,15 ^c	1,83±0,06 ^{cd}	8,59±0,16 ^d	6,96±0,12 ^{cd}	67,22±0,25 ^{de}	1,64±0,11 ^{bcd}	1,84±0,08 ^{abc}	34,26±0,32 ^d	38,15±0,27 ^b
Šara	1	3,54±0,10 ^h	0,81±0,06 ^{gh}	3,12±0,15 ^{fg}	2,87±0,16 ^h	19,91±0,15 ⁱ	0,66±0,08 ^f	1,29±0,59 ^{efg}	10,43±0,21 ⁱ	9,87±0,23 ^l
	2	5,24±0,23 ^g	1,21±0,21 ^{efg}	5,75±0,26 ^e	3,98±0,32 ^g	39,18±0,68 ^h	1,09±0,15 ^{ef}	1,44±0,17 ^{def}	21,37±0,55 ^h	18,70±0,19 ^j
	3	9,82±0,26 ^{cd}	1,81±0,15 ^{cd}	9,91±0,10 ^c	8,07±0,17 ^{ab}	77,30±0,31 ^b	1,76±0,06 ^{bc}	2,33±0,07 ^{ab}	36,67±0,50 ^b	33,88±0,39 ^e
	4	12,24±0,22 ^a	2,34±0,10 ^{bc}	10,67±0,45 ^{bc}	8,31±0,26 ^a	70,22±0,43 ^{cd}	2,29±0,23 ^a	2,23±0,15 ^{abc}	33,14±0,23 ^e	36,25±0,27 ^c
	5	7,59±0,15 ^f	1,33±0,11 ^{def}	6,34±0,34 ^e	7,08±0,16 ^{cd}	51,20±0,38 ^g	1,34±0,25 ^{cde}	1,59±0,27 ^{cde}	25,49±0,20 ^g	23,45±0,54 ⁱ
ANOVA TxTU ^A		***	**	**	***	***	*	**	***	***

Del-3-O-Glc – delfinidin-3-O-glukozid; Cij-3-O-Glc – cijanidin-3-O-glukozid; Pet-3-O-Glc – petunidin-3-O-glukozid; Peo-3-O-Glc – peonidin-3-O-glukozid; Malv-3-O-Glc – malvidin-3-O-glukozid; Del-3-O-Ac-Glc – delfinidin-3-O-acetil glukozid; Malv-3-O-Ac-Glc – malvidin-3-O-acetil glukozid; Peo-3-*p*-kum-Glc – peonidin-3-*p*-kumaril glukozid; Mal-3-*p*-kum-Glc – malvidin-3-*p*-kumaril glukozid. n.d- nije detektirano. *Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). ^ATxTU signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja temeljem dvosmjerne analize varijance- n.s. interakcija nije signifikantna. *,** i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora. ^BTretman defolijacije (T): Kontrola – bez defolijacije; Cvatnja –djelomična defolijacija u cvatnji; Šara –djelomična defolijacija u šari, ^CTermin uzorkovanja (TU) : 1 – šara, 5– puna zrelost dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perioda.

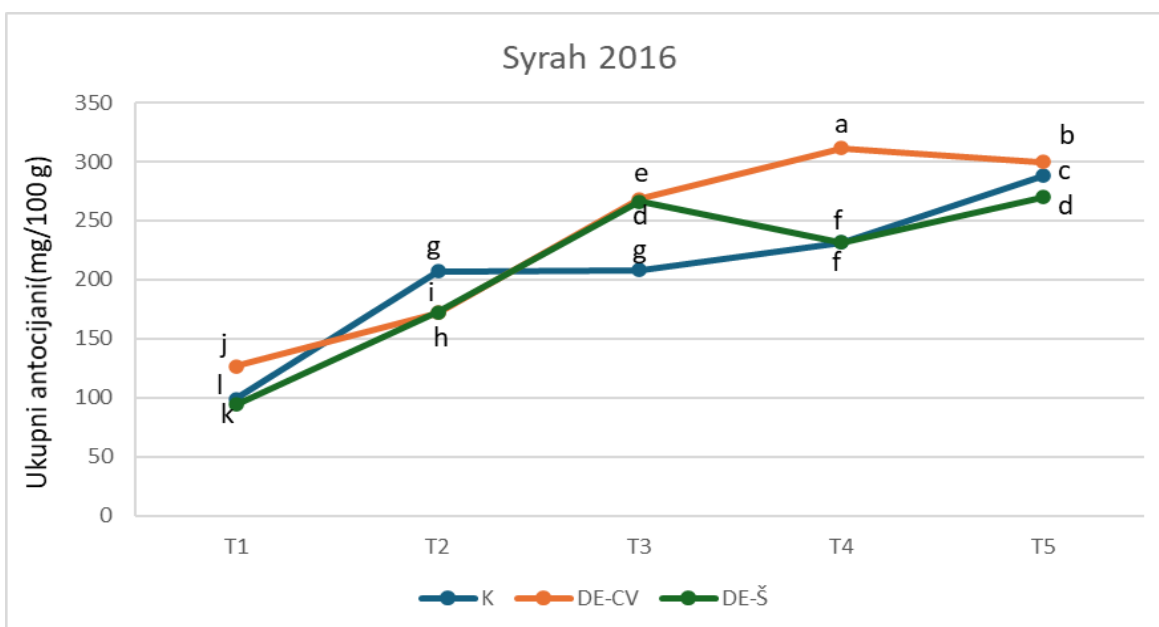
Na grafikonima 7 i 8. prikazano je nakupljanje ukupnih antocijana u kožici tijekom dozrijevanja kod sorte 'Syrah'. Na temelju značajne interakcije između tretmana i termina uzorkovanja potvrđenih dvosmjernom analizom varijance kod sorte 'Syrah' u obje godine istraživanja utvrđen je značajan utjecaj provedenih tretmana defolijacije na dinamiku nakupljanja antocijana. U 2015. godini najveći sadržaj ukupnih antocijana u kožici izmjerena u zadnjim terminima uzorkovanja u obje varijante defolijacije. Najveći sadržaj ukupnih antocijana tijekom dozrijevanja, ali i u vrijeme berbe izmjeren je u zadnjem terminu uzorkovanja tretmana djelomične defolijacije u cvatnji (362,88 mg/100 g). U 2015. godini oba tretmana djelomične defolijacije utjecala su na povećanje sadržaja ukupnih antocijana u odnosu na kontrolni tretman, pri čemu je izraženije povećanje utvrđeno kod tretmana defolijacije u cvatnji.

Sličan trend nakupljanja antocijana zabilježen je i u 2016. godini. Najveći sadržaj (311,47 mg/100 g) ukupnih antocijana tijekom dozrijevanja izmjeren je u predzadnjem terminu uzorkovanja u varijanti defolijacije u cvatnji. U istoj varijanti je izmjeren je i najveći sadržaj ukupnih antocijana u punoj zrelosti grožđa (299,50 mg/100 g). Iz prikazanih rezultata je vidljivo da je provedba defolijacije u cvatnji utjecala na povećanje sadržaja ukupnih antocijana tijekom dozrijevanja grožđa, ali u fazi pune zrelosti grožđa sorte 'Syrah'.

Utjecaj provedbe tretmana defolijacije na sadržaj pojedinačnih antocijana kod sorte 'Syrah' u obje godine istraživanja prikazan je u Tablicama 9 i 10. Interakcija između tretmana defolijacije i termina uzorkovanja grožđa tijekom dozrijevanja bila je značajna kod svih pojedinačnih antocijana u obje godine istraživanja. Provedba djelomične defolijacije u cvatnji u 2015. utjecala je na povećanje sadržaja svih pojedinačnih antocijana, osim peonidin-3-O-acetil-glukozida. U 2016. godini zabilježen je različit utjecaj provedenih tretmana defolijacije na sadržaj pojedinačnih antocijana, no i tada je provedbom defolijacije u cvatnji došlo do povećanja sadržaja najzastupljenijih antocijana u grožđu. U obje istraživane godine, najveći sadržaj pojedinačnih antocijana izmjeren je u zadnjem terminu uzorkovanja, odnosno u fazi pune zrelosti. Delfinidin-3-O-glukozid i cijanidin-3-O-glukozid nisu detektirani u prvim uzorkovanjima u 2015. godini.



Grafikon 7. Sadržaj ukupnih antocijana u koži sorte 'Syrah', u 2015. godini tijekom dozrijevanja kod različitih tretmana defolijacije (Termin: 1-šara, 5-puna zrelost dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perioda. K-kontrola bez defolijacije, DE-CV-defolijacija u cvatnji, DE-Š-defolijacija u šari). Srednje vrijednosti označene različitim slovima statistički su značajno različite uz $p < 0,05$ korištenjem Tukey HSD test na razini interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja.



Grafikon 8. Sadržaj ukupnih antocijana u koži sorte 'Syrah', u 2016. godini tijekom dozrijevanja kod različitih tretmana defolijacije (Termin: 1-šara, 5-puna zrelost dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perioda. K-kontrola bez defolijacije, DE-CV-defolijacija u cvatnji, DE-Š-defolijacija u šari). Srednje vrijednosti označene različitim slovima statistički su značajno različite uz $p < 0,05$ korištenjem Tukey HSD test na razini interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja.

Tablica 9. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih antocijana u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Syrah' u 2015. godini

		Sadržaj antocijana (mg/100 g)								
Tretman defolijacije (T) ^B	Termin uzorkovanja (TU) ^C	Del-3-O-Glc	Cij-3-O-Glc	Pet-3-O-Glc	Peo-3-O-Glc	Malv-3-O-Glc	Pet-3-O-Ac Glc	Peo-3-O-Ac Glc	Mal-3-O-Ac Glc	Mal-3-p kum Glc
Kontrola	1	n.d.	n.d.	17,17±1,86 ^{fg}	1,22±0,09 ^{de}	13,85±1,62 ^{lj}	3,38±0,73 ^{ef}	0,81±0,63 ^{bcd}	9,67±1,52 ^{def}	38,64±5,30 ^g
	2	n.d.	3,89±1,75 ^{de}	22,18±2,64 ^{efg}	1,26±0,23 ^{cde}	15,86±0,98 ^{ij}	2,98±0,67 ^{fg}	1,62±0,37 ^{abc}	9,16±1,85 ^{ef}	36,55±3,31 ^g
	3	n.d.	6,44±0,44 ^{bcd}	45,44±0,92 ^c	2,41±0,31 ^{abc}	38,26±2,07 ^{de}	4,48±0,34 ^{cd}	2,60±0,28 ^a	13,45±1,18 ^{bcd}	75,15±3,77 ^e
	4	3,02±2,65 ^{cd}	4,13±0,57 ^{de}	33,40±1,20 ^{de}	1,65±0,35 ^{bcd}	28,70±1,76 ^{fg}	3,32±0,61 ^{ef}	1,55±0,25 ^{abc}	13,54±1,08 ^{bcd}	71,68±1,69 ^e
	5	5,44±1,17 ^{bc}	5,22±2,29 ^{cde}	46,48±5,92 ^c	1,41±0,21 ^{cde}	40,71±3,35 ^d	4,43±0,45 ^{cde}	1,73±0,25 ^{abc}	16,06±0,95 ^{bc}	101,97±4,55 ^{cd}
Cvatnja	1	n.d.	n.d.	23,29±4,21 ^{efg}	1,56±0,30 ^{bcd}	12,55±0,94 ^l	4,51±0,37 ^{bcd}	0,70±0,25 ^{cd}	11,91±1,25 ^{cde}	41,87±3,15 ^{fg}
	2	n.d.	2,78±0,98 ^{ef}	25,15±3,80 ^{ef}	1,33±0,67 ^{cde}	23,96±2,44 ^{gh}	3,26±0,48 ^{efg}	2,54±0,61 ^a	6,98±1,21 ^f	50,93±1,71 ^f
	3	1,23±2,13 ^{cd}	9,81±1,87 ^{ab}	43,42±2,98 ^{cd}	2,42±0,70 ^{abc}	32,54±0,93 ^{ef}	4,48±0,72 ^{bcd}	2,25±0,39 ^a	13,79±1,32 ^{bcd}	73,02±2,08 ^e
	4	8,74±1,70 ^{ab}	8,75±1,62 ^{ab}	68,03±2,40 ^a	2,66±0,47 ^{ab}	48,95±3,70 ^{bc}	6,21±0,89 ^{ab}	1,54±0,24 ^{abc}	24,80±3,04 ^a	119,61±3,61 ^b
	5	10,87±0,58 ^a	10,09±0,95 ^a	91,19±6,53 ^a	2,73±0,24 ^{ab}	65,11±2,11 ^a	6,72±0,49 ^a	1,71±0,14 ^{abc}	23,72±1,96 ^a	150,74±4,77 ^a
Šara	1	n.d.	n.d.	12,86±5,80 ^g	1,21±0,29 ^{de}	12,65±1,16 ⁱ	2,57±0,77 ^g	0,80±0,26 ^{bcd}	7,04±0,56 ^f	26,69±2,12 ^h
	2	n.d.	2,14±0,47 ^{ef}	23,53±2,78 ^{efg}	0,98±0,16 ^e	20,57±1,20 ^{hi}	0,53±0,09 ^h	n.d.	2,29±0,27 ^g	10,24±1,24 ⁱ
	3	n.d.	4,97±0,64 ^{cde}	39,26±2,93 ^{cd}	1,67±0,10 ^{abc}	30,93±2,55 ^{fg}	3,53±0,14 ^{efg}	1,87±0,58 ^{ab}	12,51±0,70 ^{bcd}	70,00±1,12 ^e
	4	8,09±1,45 ^{ab}	7,86±0,70 ^{abc}	64,42±6,59 ^a	2,28±0,24 ^{abc}	43,03±1,27 ^{cd}	4,88±0,20 ^{bcd}	1,52±0,28 ^{abc}	16,48±0,40 ^b	95,95±3,48 ^d
	5	9,67±3,67 ^{ab}	9,13±1,53 ^{ab}	75,52±2,57 ^a	2,83±0,69 ^a	51,25±5,08 ^b	5,37±0,85 ^{abc}	2,15±0,4 ^a	16,33±1,03 ^b	106,62±2,53 ^c
ANOVA TxTU ^A		*	**	**	**	***	**	*	*	***

Del-3-Glc – delphinidin-3-glukozid; Cij-3-Glc – cijanidin-3-glukozid; Pet-3-Glc – petunidin-3-glukozid; Peo-3-Glc – peonidin-3-glukozid; Malv-3-Glc – malvidin-3-glukozid; Del-3-Ac-Glc – delphinidin-3-acetil glukozid; Malv-3-Ac Glc – malvidin-3-acetil glukozid; Peo-3-p-kum-Glc – peonidin-3-p-kumaril glukozid; Mal-3-p-kum-Glc – malvidin-3-p kumaril glukozid. n.d- nije detektirano. *Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). ^ATxTU signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja temeljem dvosmjerne analize varijance- n.s. interakcija nije signifikantna. *,** i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije tretmana defolijacije i termina uorkovanja sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora. ^BTretman defolijacije (T): Kontrola – bez defolijacije; Cvatnja –djelomična defolijacija u cvatnji; Šara –djelomična defolijacija u šari, ^CTermin uzorkovanja (TU) : 1 – šara, 5 – puna zrelost dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perio

Tablica 10. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih antocijana u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Syrah' u 2016. godini

Sadržaj antocijana (mg/100 g)										
Tretman defolijacije (T) ^B	Termin uzorkovanja (TU) ^C	Del-3-O-Glc	Cij-3-O-Glc	Pet-3-O-Glc	Peo-3-O-Glc	Malv-3-O-Glc	Pet-3-O-Ac-Glc	Peo-3-O-Ac-Glc	Mal-3-O-Ac-Glc	Mal-3-p-kum-Glc
Kontrola	1	4,53±0,05 ^h	n.d.	4,73±0,12 ⁱ	5,03±0,23 ^k	37,03±0,39 ^m	0,98±0,04 ^f	1,67±0,03 ^g	14,14±0,18 ^j	30,54±0,09 ^k
	2	8,75±0,09 ^c	1,76±0,08 ^b	9,61±0,10 ^{cd}	10,90±0,26 ^d	73,71±0,65 ^h	1,88±0,04 ^c	4,34±0,06 ^b	29,82±0,65 ^g	66,30±0,12 ^h
	3	6,82±0,15 ^e	1,60±0,03 ^{bc}	8,07±0,16 ^e	10,85±0,18 ^d	67,85±0,38 ^j	1,50±0,05 ^d	4,42±0,19 ^{ab}	31,27±0,24 ^f	75,74±0,30 ^g
	4	5,46±0,09 ^g	1,03±0,06 ^{ef}	7,18±0,17 ^{fg}	8,94±0,06 ^{ef}	70,99±0,39 ⁱ	1,44±0,04 ^d	3,83±0,17 ^{cd}	36,90±0,15 ^e	95,91±0,30 ^d
	5	10,46±0,10 ^b	1,20±0,02 ^{def}	10,65±0,36 ^b	9,02±0,30 ^{ef}	102,53±0,6 ^d	0,94±0,08 ^f	4,79±0,14 ^a	39,77±0,29 ^c	108,44±0,22 ^b
Cvatnja	1	6,99±0,16 ^e	1,45±0,07 ^{cd}	7,37±0,29 ^{efg}	7,32±0,20 ^h	48,00±0,44 ^l	1,37±0,11 ^d	2,21±0,17 ^f	16,67±0,18 ^j	35,45±0,98 ^j
	2	8,91±0,25 ^c	2,08±0,20 ^a	6,62±0,10 ^g	6,63±0,29 ⁱ	76,79±0,33 ^g	2,05±0,09 ^{bc}	3,79±0,10 ^{cd}	39,02±0,28 ^{cd}	25,97±0,55 ^l
	3	12,97±0,16 ^a	2,27±0,14 ^a	13,97±0,20 ^a	12,21±0,22 ^c	100,32±0,4 ^e	2,32±0,05 ^a	3,60±0,14 ^{cde}	36,95±0,24 ^e	83,43±0,81 ^f
	4	8,72±0,10 ^c	1,62±0,08 ^{bc}	11,00±0,32 ^b	12,87±0,15 ^b	108,21±0,22 ^b	2,04±0,10 ^{bc}	3,05±0,20 ^{ef}	54,82±0,20 ^a	112,19±0,66 ^a
	5	8,11±0,19 ^d	1,19±0,13 ^{def}	10,33±0,07 ^{bc}	13,64±0,08 ^a	109,94±0,08 ^a	1,85±0,06 ^c	4,44±0,19 ^{ab}	45,95±0,35 ^b	104,05±0,28 ^c
Šara	1	4,78±0,08 ^h	1,27±0,11 ^{de}	5,60±0,61 ^h	5,72±0,37 ⁱ	32,29±0,16 ⁿ	1,11±0,13 ^{ef}	1,72±0,06 ^g	12,41±0,21 ^k	29,47±0,91 ^k
	2	6,03±0,16 ^f	n.d.	7,46±0,34 ^{ef}	6,20±0,27 ^{ij}	58,90±0,33 ^k	1,41±0,07 ^d	2,57±0,09 ^f	25,79±0,52 ^h	64,16±0,47 ⁱ
	3	4,77±0,25 ^h	n.d.	6,67±0,10 ^{fg}	8,47±0,14 ^g	83,77±0,45 ^f	1,28±0,04 ^{de}	3,50±0,13 ^{de}	45,93±0,59 ^b	111,87±0,35 ^a
	4	7,67±0,12 ^d	1,01±0,11 ^{ef}	9,33±0,32 ^d	8,08±0,12 ^g	77,29±0,27 ^g	1,95±0,06 ^{bc}	3,29±0,18 ^e	38,02±0,46 ^d	84,70±0,81 ^{ef}
	5	10,33±0,26 ^b	0,98±0,14 ^f	13,23±0,33 ^a	9,32±0,18 ^e	106,80±0,54 ^c	2,15±0,13 ^{ab}	3,95±0,08 ^c	36,71±0,16 ^e	86,42±0,92 ^e
ANOVA TxTU ^A		**	*	***	*	***	*	*	***	**

Del-3-Glc – delfinidin-3-glukozid; Cij-3-Glc – cijanidin-3-glukozid; Pet-3-Glc – petunidin-3-glukozid; Peo-3-Glc – peonidin-3-glukozid; Malv-3-Glc – malvidin-3-glukozid; Del-3-Ac-Glc – delfinidin-3-acetil glukozid; Malv-3-Ac-Glc – malvidin-3-acetil glukozid; Peo-3-p-kum-Glc – peonidin-3-p-kumaril glukozid; Mal-3-p-kum-Glc – malvidin-3-p-kumaril glukozid. n.d- nije detektirano*Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). ^ATxTU signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja temeljem dvosmjerne analize varijance- n.s. interakcija nije signifikantna. *,** i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije tretmana defolijacije i termina uorkovanja sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora. ^BTretman defolijacije (T): Kontrola – bez defolijacije; Cvatnja –djelomična defolijacija u cvatnji; Šara -djelomična defolijacija u šari, ^CTermin uzorkovanja (TU) : 1 – šara, 5 – puna zrelost dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog period

Nakupljanje ukupnih antocijana u kožici grožđa 'Cabernet Sauvignon' tijekom dozrijevanja prikazana je na grafikonima 9 i 10 . Za razliku od prethodne dvije istraživane sorte, kod 'Cabernet Sauvignona' je sličan trend zabilježen u obje istraživane godine.

Interakcija između tretmana djelomične defolijacije i termina uzorkovanja bila je značajna kod ukupnih antocijana, ali i kod svih pojedinačnih antocijana prikazanih u tablicama 11. i 12. u obje godine istraživanja čime je potvrđen utjecaj tretmana defolijacije na dinamiku nakupljanja antocijana u grožđu tijekom dozrijevanja kod ove sorte.

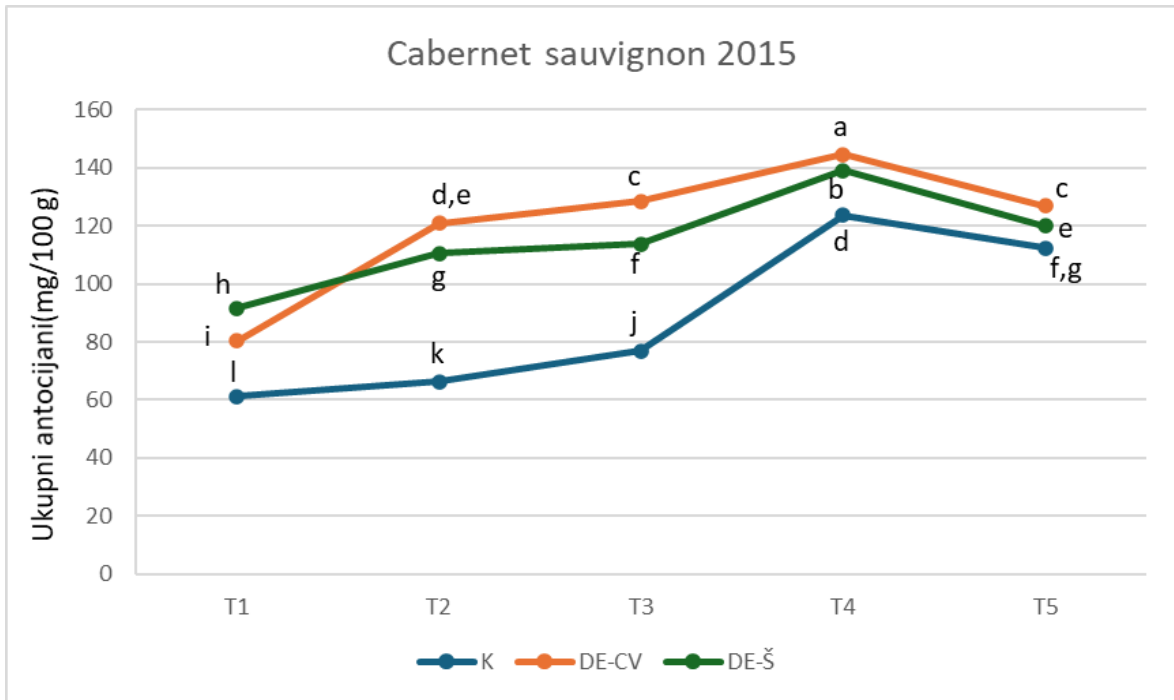
Najveći sadržaj ukupnih antocijana u obje godine izmjeren je u predzadnjem terminu uzorkovanja u varijanti provedbe tretmana djelomične defolijacije u cvatnji (2015. godina-144,69 mg/100 g; 2016. godina-334,34 mg/100 g).

Provedba tretmana defolijacije u cvatnji također je utjecala i na značajno povećanje sadržaja ukupnih antocijana u punoj zrelosti grožđa pri čemu je defolijacija u cvatnji o obje godine istraživanja rezultirala značajno najvećim sadržajem, dok je defolijacija u šari u 2015. rezultirala značajno većim sadržajem ukupnih antocijana u grožđu u odnosu na kontrolu, dok u 2016. ista pokazuje značajno manji sadržaj u odnosu na kontrolu.

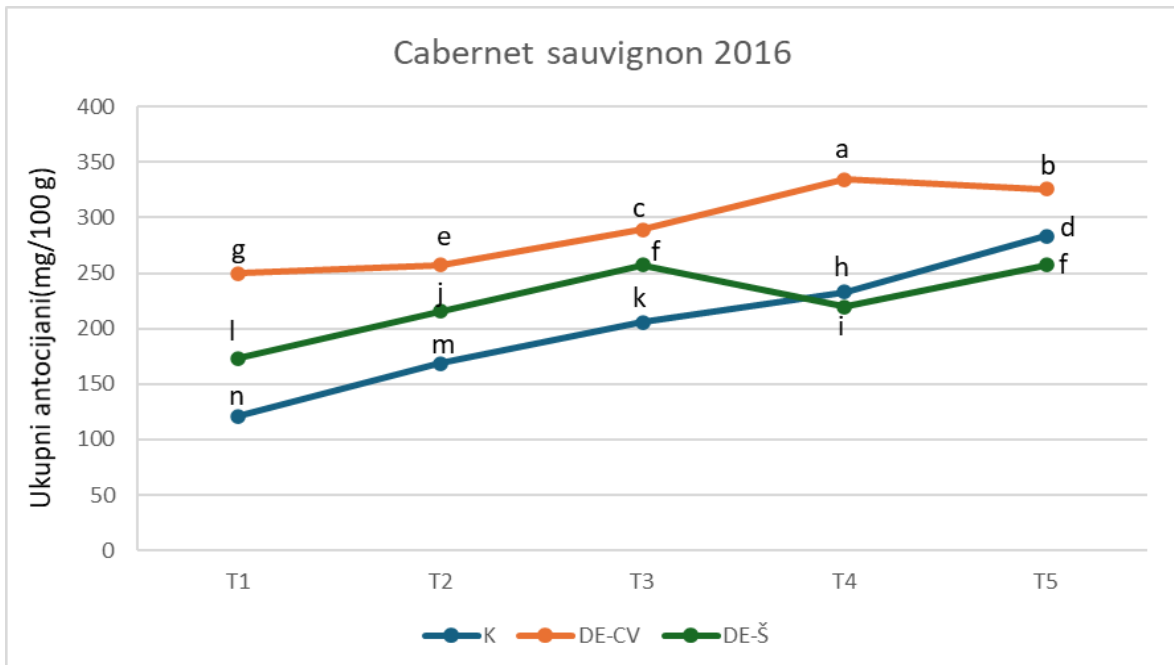
Iz prikazanih rezultata vidljivo je da je provedba tretmana djelomične defolijacije u cvatnji utjecala na povećanje sadržaja ukupnih antocijana tijekom dozrijevanja grožđa, ali i u grožđu u punoj zrelosti.

U Tablicama 11. i 12. prikazan je utjecaj provedbe djelomične defolijacije na sadržaj pojedinačnih antocijana kod sorte 'Cabernet Sauvignon' u dvije godine istraživanja. Provedba djelomične defolijacije u cvatnji u 2015. utjecala je na povećanje sadržaja svih pojedinačnih antocijana, osim delfinidin-3-O-acetil-glukozida i malvidin-3-O-acetil glukozida na čije povećanje je utjecala provedba defolijacije u šari. I u 2016. godini provedba djelomične defolijacije u cvatnji utjecala je na povećanje sadržaja svih pojedinačnih antocijana izuzev malvidin-3-O-glukozida i mavidin-3-*p*-kumaril glukozida.

U obje istraživane godine, najveći sadržaj pojedinačnih antocijana izmjeren je u zadnjem terminu uzorkovanja, odnosno u fazi pune zrelosti. Delfinidin-3-O-glukozid nije detektiran u prvim terminima uzorkovanja u 2015. godini u niti jednoj varijanti.



Grafikon 9. Sadržaj ukupnih antocijana u koži sorte 'Cabernet Sauvignon', u 2015. godini tijekom dozrijevanja kod različitih tretmana defolijacije (Termin: 1-šara, 5-puna zrelost dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perioda. K-kontrola bez defolijacije, DE-CV-defolijacija u cvatnji, DE-Š-defolijacija u šari). Srednje vrijednosti označene različitim slovima statistički su značajno različite uz $p < 0,05$ korištenjem Tukey HSD test na razini interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja.



Grafikon 10. Sadržaj ukupnih antocijana u koži sorte 'Cabernet Sauvignon', u 2015. godini tijekom dozrijevanja kod različitih tretmana defolijacije (Termin: 1-šara, 5-puna zrelost dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perioda. K- Kontrola bez defolijacije, DE-CV-defolijacija u cvatnji, DE-Š-defolijacija u šari). Srednje vrijednosti označene različitim slovima statistički su značajno različite uz $p < 0,05$ korištenjem Tukey HSD test na razini interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja.

Za razliku od prethodne dvije istraživane sorte, kod 'Cabernet Sauvignona' je sličan trend zabilježen u obje istraživane godine.

Najveći sadržaj ukupnih antocijana u obje godine izmjeren je u predzadnjem terminu uzorkovanja u varijanti provedbe tretmana djelomične defolijacije u cvatnji (2015. godina-144,69 mg/100 g; 2016. godina-334,34 mg/100 g).

Provedba tretmana defolijacije u cvatnji također je utjecala i na povećanje sadržaja ukupnih antocijana u punoj zrelosti grožđa.

Iz prikazanih rezultata vidljivo je da je provedba tretmana djelomične defolijacije u cvatnji utjecala na povećanje sadržaja ukupnih antocijana tijekom dozrijevanja grožđa, ali i u grožđu u punoj zrelosti.

U tablicama 11. i 12. prikazan je utjecaj provedbe djelomične defolijacije na sadržaj pojedinačnih antocijana u 'Cabernet Sauvignonu' u obje godine. Provedba djelomične defolijacije u cvatnji u 2015. utjecala je na povećanje sadržaja svih pojedinačnih antocijana, osim delfinidin-3-O-acetil-glukozida i malvidin-3-O-acetil glukozida na čije povećanje je utjecala provedba defolijacije u šari. I u 2016. godini provedba djelomične defolijacije u cvatnji utjecala je na povećanje sadržaja svih pojedinačnih antocijana izuzev malvidin-3-O-glukozida i mavidin-3-p-kumaril glukozida.

U obje istraživane godine, najveći sadržaj pojedinačnih antocijana izmjeren je u zadnjem terminu uzorkovanja, odnosno u fazi pune zrelosti. Delfinidin-3-O-glukozid nije detektiran u prvim terminima uzorkovanja u 2015. godini u niti jednoj varijanti.

Tablica 11. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih antocijana u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte sorte 'Cabernet Sauvignon' u 2015. godini

Sadržaj antocijana (mg/100 g)									
Tretman defolijacije (T) ^B	Termin uzorkovanja (TU) ^C	Del-3-O-Glc	Pet-3-O-Glc	Peo-3-O-Glc	Malv-3-O-Glc	Del-3-O-Ac-Glc	Malv-3-O-Ac-Glc	Peo-3- <i>p</i> -kum-Glc	Mal-3- <i>p</i> -kum-Glc
Kontrola	1	n.d.	1,81±0,30 ^g	2,17±0,24 ^e	28,36±0,42 ⁱ	n.d.	19,68±0,85 ^j	2,04±0,29 ^{ab}	7,21±0,21 ^g
	2	n.d.	1,85±0,55 ^g	2,22±0,38 ^e	31,40±0,56 ^h	n.d.	20,04±0,10 ^j	1,92±0,09 ^{ab}	8,94±0,09 ^f
	3	n.d.	2,10±0,33 ^{fg}	2,95±0,18 ^{de}	37,63±0,59 ^g	n.d.	22,29±0,36 ⁱ	2,08±0,30 ^{ab}	9,86±0,25 ^f
	4	4,67±0,42 ^{def}	3,73±0,86 ^{bcd}	4,61±0,47 ^{ab}	50,77±0,63 ^b	0,95±0,07 ^b	39,11±0,52 ^c	1,81±0,20 ^{ab}	18,06±0,17 ^c
	5	4,64±0,54 ^{def}	3,65±0,58 ^{bcd}	4,15±0,21 ^{abc}	46,63±0,86 ^e	1,12±0,20 ^b	34,56±0,73 ^{ef}	2,02±0,20 ^{ab}	15,47±0,42 ^d
Cvatnja	1	3,43±0,59 ^{fg}	2,38±0,30 ^{efg}	3,43±0,63 ^{cd}	30,87±0,66 ^h	n.d.	25,99±0,13 ^h	2,04±0,34 ^{ab}	12,22±0,26 ^e
	2	4,72±0,43 ^{def}	4,10±0,30 ^{bcd}	4,12±0,34 ^{abc}	48,77±0,45 ^{cd}	1,13±0,21 ^b	37,04±0,16 ^d	0,93±0,05 ^c	20,07±0,59 ^b
	3	3,67±0,31 ^{efg}	3,78±0,47 ^{bcd}	3,88±0,36 ^{bcd}	60,07±1,75 ^{bc}	0,94±0,20 ^b	35,15±0,26 ^e	1,62±0,16 ^{bc}	19,38±0,57 ^b
	4	7,29±0,43 ^a	5,84±0,22 ^a	5,08±0,38 ^a	58,21±0,31 ^a	1,46±0,30 ^{ab}	43,18±0,17 ^a	1,59±0,30 ^{bc}	22,03±0,27 ^a
	5	4,85±0,45 ^{cde}	4,67±0,63 ^{abc}	4,62±0,35 ^{ab}	57,92±0,30 ^a	1,03±0,26 ^b	33,11±0,21 ^g	2,47±0,06 ^a	18,18±0,24 ^c
Šara	1	3,35±0,74 ^g	2,95±0,19 ^{def}	3,05±0,36 ^{cde}	43,29±0,85 ^f	n.d.	25,08±0,15 ^h	2,13±0,43 ^{ab}	11,79±0,24 ^e
	2	5,20±0,44 ^{bce}	3,27±0,27 ^{cde}	4,10±0,44 ^{abc}	46,14±0,20 ^e	0,93±0,13 ^b	32,80±0,48 ^g	2,10±0,18 ^{ab}	16,02±0,30 ^d
	3	6,13±0,45 ^{abc}	4,83±0,47 ^{ab}	4,73±0,60 ^{ab}	44,95±0,61 ^{ef}	1,69±0,32 ^a	33,70±0,58 ^g	2,42±0,27 ^a	15,35±0,36 ^d
	4	6,44±0,54 ^{ab}	4,70±0,50 ^{ab}	4,60±0,36 ^{ab}	57,01±0,65 ^a	1,20±0,25 ^{ab}	41,90±0,21 ^b	1,98±0,45 ^{ab}	21,24±0,36 ^a
	5	4,58±0,53 ^{def}	4,47±0,47 ^{abc}	4,09±0,15 ^{abc}	48,44±0,54 ^d	1,13±0,20 ^b	37,26±0,35 ^d	2,11±0,26 ^{ab}	17,88±0,20 ^c
ANOVA Tx TU ^A		**	**	**	**	**	***	*	***

Del-3-Glc – delfinidin-3-glukozid; Cij-3-Glc – cijanidin-3-glukozid; Pet-3-Glc – petunidin-3-glukozid; Peo-3-Glc – peonidin-3-glukozid; Malv-3-Glc – malvidin-3-glukozid; Del-3-Ac-Glc – delfinidin-3-acetil glukozid; Malv-3-Ac-Glc – malvidin-3-acetil glukozid; Peo-3-*p*-kum-Glc – peonidin-3-*p*-kumaril glukozid; Mal-3-*p*-kum-Glc – malvidin-3-*p*-kumaril glukozid. n.d- nije detektirano. *Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). ^ATxTU signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja temeljem dvosmjerne analize varijance- n.s. interakcija nije signifikantna. *,** i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije tretmana defolijacije i termina uorkovanja sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora. ^BTretman defolijacije (T): Kontrola – bez defolijacije; Cvatnja –djelomična defolijacija u cvatnji; Šara –djelomična defolijacija u šari, ^CTermin uzorkovanja (TU) : 1 – šara, 5 – puna zrelost dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perioda.

Tablica 12. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih antocijana u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Cabernet Sauvignon' u 2016. godini

		Sadržaj antocijana (mg/100 g)								
Tretman defolijacije (T) ^B	Termin uzorkovanja (TU) ^C	Del-3-O-Glc	Cij-3-O-Glc	Pet-3-O-Glc	Peo-3-O-Glc	Malv-3-O-Glc	Del-3-O-Ac-Glc	Malv-3-O-Ac-Glc	Peo-3- <i>p</i> -kum Glc	Mal-3- <i>p</i> -kum Glc
Kontrola	1	12,38±0,03 ^m	2,38±0,03 ^{gh}	7,08±0,20 ^k	7,39±0,03 ^l	52,07±0,17 ^o	2,31±0,04 ⁱ	0,43±0,04 ^{fg}	3,16±0,04 ^g	33,94±0,09 ^l
	2	17,93±0,09 ^k	2,56±0,05 ^{fg}	10,23±0,22 ^j	7,64±0,07 ^{kl}	76,03±0,10 ^m	3,35±0,10 ^{fg}	0,47±0,04 ^{ef}	4,35±0,05 ^f	45,93±0,08 ^j
	3	21,46±0,09 ^g	2,12±0,04 ^{hi}	12,2±0,18 ^h	8,17±0,13 ^j	93,95±0,09 ^l	4,06±0,09 ^e	0,41±0,02 ^{fg}	5,43±0,05 ^e	57,89±0,21 ^g
	4	16,76±0,22 ^l	1,31±0,04 ^j	11,39±0,13 ⁱ	7,95±0,09 ^{ik}	120,64±0,29 ^g	2,71±0,04 ^h	n.d.	4,25±0,12 ^f	67,82±0,37 ^c
	5	21,13±0,07 ^{gh}	1,43±0,04 ^j	14,94±0,10 ^e	8,35±0,11 ^{ij}	152,96±0,38 ^b	3,17±0,17 ^g	n.d.	5,15±0,12 ^e	76,14±0,24 ^a
Cvatnja	1	35,18±0,17 ^c	6,47±0,16 ^b	18,91±0,16 ^c	17,10±0,11 ^b	101,64±0,21 ⁱ	5,91±0,06 ^b	1,34±0,05 ^b	7,34±0,39 ^c	55,70±0,41 ^h
	2	20,65±0,12 ⁱ	1,91±0,15 ⁱ	14,08±0,15 ^f	8,64±0,23 ^{hi}	139,31±0,20 ^d	2,83±0,07 ^h	1,03±0,10 ^a	3,30±0,04 ^f	65,72±0,48 ^d
	3	30,24±0,26 ^d	3,53±0,09 ^e	19,18±0,16 ^c	14,84±0,12 ^c	149,77±0,43 ^c	4,58±0,06 ^d	0,70±0,09 ^d	6,25±0,09 ^d	59,95±0,63 ^f
	4	36,93±0,10 ^b	3,24±0,12 ^e	22,74±0,20 ^b	14,07±0,10 ^d	167,07±0,33 ^a	5,35±0,08 ^c	0,50±0,05 ^{ef}	7,78±0,09 ^b	76,65±0,57 ^a
	5	47,22±0,23 ^a	6,88±0,04 ^a	25,33±0,34 ^a	18,39±0,14 ^a	136,69±0,31 ^e	7,85±0,05 ^a	1,45±0,04 ^b	10,34±0,12 ^a	71,81±0,24 ^b
Šara	1	20,83±0,76 ^{gh}	2,77±0,09 ^f	11,91±0,13 ^{hi}	8,84±0,07 ^h	75,13±0,13 ⁿ	4,14±0,12 ^e	0,61±0,03 ^{de}	5,24±0,20 ^e	43,93±0,28 ^k
	2	19,66±0,19 ^j	2,78±0,07 ^f	12,99±0,20 ^g	11,19±0,15 ^f	104,95±0,10 ⁱ	3,17±0,16 ^g	0,49±0,03 ^{ef}	4,67±0,12 ^f	55,52±0,44 ^h
	3	35,72±0,36 ^c	5,46±0,08 ^c	18,92±0,15 ^c	14,82±0,31 ^c	107,94±0,10 ^h	6,12±0,12 ^b	1,10±0,13 ^c	7,75±0,10 ^{bc}	59,66±0,46 ^f
	4	28,11±0,21 ^e	4,37±0,25 ^d	15,83±0,19 ^e	12,34±0,13 ^e	96,67±0,51 ^k	4,69±0,05 ^d	0,76±0,10 ^d	6,02±0,07 ^d	51,04±0,09 ⁱ
	5	23,73±0,13 ^f	2,26±0,05 ^{gh}	15,88±0,22 ^g	10,57±0,26 ^g	134,66±0,49 ^f	3,48±0,16 ^f	0,29±0,03 ^g	5,18±0,17 ^e	61,51±0,23 ^e
ANOVA TxTU ^A		***	***	***	**	***	*	*	*	**

Del-3-Glc – delfinidin-3-glukozid; Cij-3-Glc – cijanidin-3-glukozid; Pet-3-Glc – petunidin-3-glukozid; Peo-3-Glc – peonidin-3-glukozid; Malv-3-Glc – malvidin-3-glukozid; Del-3-Ac-Glc – delfinidin-3-acetil glukozid; Malv-3-Ac Glc – malvidin-3-acetil glukozid; Peo-3-*p*-kum-Glc – peonidin-3-*p*-kumaril glukozid; Mal-3-*p*-kum -Glc – malvidin-3-*p* kumaril glukozid. n.d- nije detektirano. *Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). ^ATxTU signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja temeljem dvosmjerne analize varijance- n.s. interakcija nije signifikantna. *,** i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora. ^BTretman defolijacije (T): Kontrola – bez defolijacije; Cvatnja –djelomična defolijacija u cvatnji; Šara -djelomična defolijacija u šari, ^CTermin uzorkovanja (TU) : 1 – šara, 5 – puna zrelost dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perioda

4.3. Utjecaj tretmana djelomične defolijacije na nakupljanje i sadržaj flavonola tijekom dozrijevanja grožđa

U sve tri istraživane sorte identificirano je 5 pojedinačnih flavonola i to u obliku glukozida: miricetin-3-O-glukozid, kvercetin-3-O-glukozid i kemferol-3-O-glukozid; u obliku glukuronida kvercetin-3-O-glukuronid te derivat kemferola. Jedino je u 'Syrahu' iz 2015. godine identificiran i derivat kvercetina.

U tablicama 13. i 14. prikazan je utjecaj tretmana djelomične defolijacije na sadržaj pojedinačnih i ukupnih flavonola tijekom dozrijevanja i u fazi pune zrelosti kod sorte 'Merlot' u obje istraživane godine. Iz prikazanih rezultata vidljivo je da dinamika nakupljanja flavonola bila različita ovisno o tretmanu defolijacije i terminu uzorkovanja tj. utvrđena je značajna interakcija između tretmana defolijacije i termina uzorkovanja grožđa tijekom dozrijevanja.

Provedba defolijacije u obje godine kod 'Merlota' je utjecala na povećanje sadržaja ukupnih flavonola, s tim da je postojala razlika u utjecaju na pojedinačne flavonole ovisno o vremenu provedbe defolijacije.

U 2015. godini najveći sadržaj ukupnih flavonola tijekom dozrijevanja grožđa izmjeren je u predzadnjem terminu uzorkovanja u tretmanu defolijacije u cvatnji (66,83 mg/100 g) . Najveći sadržaj ukupnih flavonola u punoj zrelosti (56,62 mg/100 g) također je izmjeren u grožđu u kojem je provedena defolijacija u cvatnji.

Sličan trend je zabilježen i u 2016. godini. Najveći sadržaj ukupnih flavanola izmjeren je u drugom terminu uzorkovanja (119,29 mg/100 g) također kod tretmana defolijacije u cvatnji, a u istom tretmanu je izmjeren i najveći sadržaj ukupnih flavanola u punoj zrelosti (88,74 mg/100 g).

Iz prikazanih rezultata je vidljivo da je provedba tretmana defolijacije u cvatnji utjecala na povećanje sadržaja ukupnih flavanola tijekom dozrijevanja grožđa sorte 'Merlot', ali i u grožđu u punoj zrelosti unatoč tome što je provedba defolijacije različito utjecala na sadržaj pojedinačnih flavonola tijekom dozrijevanja grožđa.

U obje istraživane godine najzastupljeniji flavonol bio je kvercetin-3-glukozid.

Tablica 13. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih flavonola (mg/100 g) u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Merlot' u 2015. godini

Tretman defolijacije (T) ^B	Termin uzorkovanja (TU) ^C	Myr-3-O-Glc	Q-3-O-glukuronid	Q-3-O-Glc	K-3-O-Glc	Kemferol (der)	Ukupni flavonoli
Kontrola	1	n.d.	1,31±0,03 ^{fg}	32,53±0,12 ^h	n.d.	n.d.	33,84±0,14 ^k
	2	1,79±0,04 ⁱ	1,19±0,03 ⁱ	32,88±0,04 ^h	0,43±0,04 ^e	n.d.	36,29±0,10 ^j
	3	4,15±0,11 ^g	2,23±0,08 ^c	37,74±0,05 ^f	0,77±0,06 ^{cd}	3,21±0,04 ^e	48,10±0,11 ^e
	4	5,89±0,06 ^d	1,50±0,05 ^{ef}	31,90±0,14 ^j	0,69±0,03 ^d	2,79±0,03 ^f	42,77±0,17 ^h
	5	3,16±0,08 ^h	1,45±0,06 ^{fg}	24,47±0,05 ^k	n.d.	n.d.	29,08±0,16 ^l
Cvatnja	1	0,99±0,07 ^l	1,71±0,04 ^{de}	36,65±0,09 ^g	0,37±0,06 ^e	n.d.	39,72±0,13 ^j
	2	2,54±0,12 ⁱ	1,87±0,05 ^d	41,93±0,08 ^e	0,64±0,05 ^d	n.d.	46,98±0,15 ^f
	3	6,35±0,05 ^c	2,78±0,06 ^b	44,80±0,31 ^c	0,88±0,04 ^{bc}	2,66±0,08 ^g	57,47±0,48 ^c
	4	7,57±0,07 ^a	3,41±0,06 ^a	51,27±0,24 ^a	1,10±0,07 ^a	3,48±0,08 ^d	66,83±0,43 ^a
	5	6,66±0,08 ^b	2,75±0,09 ^b	43,02±0,59 ^d	0,89±0,03 ^{bc}	3,30±0,02 ^e	56,62±0,74 ^c
Šara	1	0,82±0,04 ^l	0,67±0,08 ⁱ	22,30±0,13 ^l	n.d.	n.d.	23,79±0,03 ^m
	2	1,38±0,08 ^k	1,25±0,09 ^{hi}	24,24±0,10 ^k	0,42±0,04 ^e	1,39±0,04 ^h	28,68±0,31 ^l
	3	5,05±0,10 ^f	3,25±0,10 ^a	47,58±0,04 ^b	1,25±0,06 ^a	3,86±0,06 ^c	60,99±0,27 ^b
	4	7,50±0,06 ^a	2,35±0,09 ^c	36,75±0,07 ^g	0,95±0,07 ^b	4,19±0,04 ^a	51,74±0,30 ^d
	5	5,61±0,04 ^e	2,75±0,10 ^b	32,04±0,07 ^{ij}	0,65±0,08 ^d	4,01±0,06 ^b	45,06±0,09 ^g
ANOVA TxTU ^A		**	**	***	**	*	**

Myr-3-Glc – miricetin-3-glukozid; Q-3-O-glukuronid – kvercetin-3-O-glukuronid; Q-3-Glc – kvercetin-3-glukozid; K-3-Glc – kemferol-3-glukozid; Kemferol (der) – kemferol (derivat). *Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). ^ATxTU signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja temeljem dvosmjerne analize varijance- n.s. interakcija nije signifikantna. *, * i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora. ^BTretman defolijacije (T): Kontrola – bez defolijacije; Cvatnja – djelomična defolijacija u cvatnji; Šara – djelomična defolijacija u šari, ^CTermin uzorkovanja (TU) : 1 – šara, 5 – puna zrelost dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perioda.

Tablica 14. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih flavonola (mg/100 g) u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Merlot' u 2016. godini

Tretman (T) ^B	Termin (TU) ^C	Myr-3-O-Glc	Q-3-O-glukuronid	Q-3-O-Glc	K-3-O-Glc	Kemferol (der)	Ukupni flavonoli
Kontrola	1	6,93±0,08 ^j	2,01±0,03 ^f	71,55±0,31 ^b	2,11±0,03 ⁱ	n.d.	82,60±0,42 ^c
	2	17,76±0,09 ^d	3,05±0,07 ^c	40,42±0,10 ^l	2,40±0,02 ^h	1,86±0,03 ^h	65,49±0,18 ^h
	3	11,33±0,07 ⁱ	1,81±0,03 ^g	40,84±0,07 ^{kl}	2,56±0,04 ^h	2,04±0,04 ^h	58,57±0,07 ^j
	4	14,09±0,15 ^f	2,17±0,03 ^f	42,53±0,43 ⁱ	3,14±0,04 ^g	2,53±0,05 ^f	64,46±0,37 ⁱ
	5	16,96±0,09 ^e	2,59±0,03 ^d	49,85±0,34 ^f	3,82±0,04 ^e	3,00±0,02 ^e	76,22±0,29 ^e
Cvatnja	1	5,46±0,34 ^l	1,29±0,04 ^h	41,61±0,33 ^{jk}	1,96±0,03 ⁱ	n.d.	50,32±0,11 ^l
	2	15,60±0,25 ^f	2,59±0,05 ^d	91,74±0,35 ^a	6,79±0,07 ^a	2,57±0,03 ^f	119,29±0,17 ^a
	3	13,21±0,18 ^h	2,42±0,04 ^e	48,60±0,62 ^g	3,72±0,03 ^e	2,33±0,05 ^g	70,28±0,45 ^f
	4	13,92±0,10 ^g	2,34±0,06 ^e	54,92±0,11 ^d	4,83±0,09 ^b	3,24±0,11 ^d	79,24±0,32 ^d
	5	17,60±0,06 ^d	2,64±0,06 ^d	60,07±0,20 ^c	4,60±0,05 ^c	3,83±0,07 ^b	88,74±0,22 ^b
Šara	1	6,19±0,19 ^k	1,30±0,05 ^h	17,55±0,05 ⁿ	n.d.	n.d.	25,05±0,19 ^m
	2	19,77±0,11 ^{ab}	2,10±0,09 ^f	41,93±0,08 ^{ij}	3,18±0,08 ^g	2,41±0,04 ^{fg}	69,39±0,03 ^g
	3	18,98±0,07 ^c	2,61±0,03 ^d	52,44±0,37 ^e	4,84±0,06 ^b	4,25±0,05 ^a	83,11±0,46 ^c
	4	19,41±0,16 ^{bc}	3,23±0,09 ^b	27,00±0,06 ^m	3,54±0,08 ^f	3,16±0,17 ^{de}	56,33±0,43 ^k
	5	20,04±0,06 ^a	3,44±0,06 ^a	45,40±0,18 ^h	4,11±0,09 ^d	3,52±0,08 ^c	76,52±0,11 ^e
ANOVA							
TxTU ^A		**	***	***	**	**	***

Myr-3-Glc – miricetin-3-glukozid; Q-3-O-glukuronid – kvercetin-3-O glukuronid; Q-3-Glc – kvercetin-3-glukozid; K-3-Glc – kemferol-3-glukozid; Kemferol (der) – kemferol (derivat). *Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). ^ATxTU signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja temeljem dvosmjerne analize varijance- n.s. interakcija nije signifikantna. *, * i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije tretmana defolijacije i termina uorkovanja sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora. ^BTretman defolijacije (T): Kontrola – bez defolijacije; Cvatnja –djelomična defolijacija u cvatnji; Šara -djelomična defolijacija u šari, ^CTermin uzorkovanja (TU) : 1 – šara, 5 – puna zrelost dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perioda.

U tablicama 15. i 16. prikazan je utjecaj tretmana djelomične defolijacije na sadržaj pojedinačnih i ukupnih flavonola tijekom dozrijevanja i u fazi pune zrelosti kod sorte 'Syrah' u obje istraživane godine. Utvrđena je značajna interakcija između tretmana defolijacije i termina uzorkovanja grožđa tijekom dozrijevanja iz čega je vidljivo da je dinamika nakupljanja flavonola bila različita ovisno o tretmanu defolijacije.

Provedba defolijacije u obje godine je i kod sorte 'Syrah' utjecala na povećanje sadržaja ukupnih flavonola, s tim da je postojala razlika u utjecaju na pojedinačne flavonole ovisno o terminu uzorkovanja.

U 2015. godini najveći sadržaj ukupnih flavonola tijekom dozrijevanja grožđa izmjerena je u predzadnjem terminu uzorkovanja u tretmanu defolijacije u cvatnji isto kao i kod 'Merlota' (144,51 mg/100 g). Najveći sadržaj ukupnih flavonola u punoj zrelosti (142,49 mg/100 g) također je izmjeren u grožđu u istom tretmanu.

Sličan trend je zabilježen i u 2016. godini. Najveći sadržaj ukupnih flavanola izmjeren je u trećem terminu uzorkovanja (134,19 mg/100 g) također kod tretmana defolijacije u cvatnji, a u istom tretmanu je izmjeren i najveći sadržaj ukupnih flavanola u punoj zrelosti (131,60 mg/100 g).

Iz prikazanih rezultata je vidljivo da je provedba tretmana defolijacije u cvatnji utjecala na povećanje sadržaja ukupnih flavanola tijekom dozrijevanja grožđa, ali i u grožđu u punoj zrelosti unatoč tome što je provedba defolijacije različito utjecala na sadržaj pojedinačnih flavonola tijekom dozrijevanja grožđa.

U obje istraživane godine najzastupljeniji flavonol u 'Syrahu' je također bio kvercetin-3-O-glukozid. Jedino je u 'Syrahu' u 2016. identificiran i derivat kvercetina.

Tablica 15. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih flavonola (mg/100 g) u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Syrah' u 2015. godini

Tretman (T) ^B	Termin (TU) ^C	Myr-3-O-Glc ^A	Q-3-O-glukuronid	Q-3-O-Glc	Quercetin (der)	K-3-O-Glc	Kempferol (der)	Ukupni flavonoli
Kontrola	1	1,86±0,41 ^{cd}	1,90±0,59 ^f	33,56±15,91 ^{cde}	n.d.	1,93±0,30 ^f	4,06±0,50 ^f	43,31±17,67 ^{fg}
	2	2,53±0,76 ^{cd}	2,19±0,53 ^{ef}	26,31±1,73 ^{de}	0,81±0,03 ^d	3,45±0,28 ^{ef}	7,56±1,10 ^{ef}	42,85±3,08 ^{fg}
	3	9,45±2,62 ^b	3,62±0,71 ^{def}	48,50±10,55 ^{bcd}	1,37±0,26 ^{abc}	7,64±2,13 ^{cde}	15,43±3,53 ^{cde}	86,01±19,71 ^{cde}
	4	0,84±0,28 ^d	10,03±0,83 ^{ab}	51,06±11,58 ^{bcd}	1,35±0,27 ^{abc}	7,96±1,67 ^{bcd}	16,52±1,64 ^{bcd}	87,76±15,97 ^{cde}
	5	0,81±0,01 ^d	12,60±0,90 ^a	40,52±3,41 ^{cde}	0,88±0,14 ^{cd}	6,51±0,60 ^{cde}	14,89±0,34 ^{cde}	76,22±5,40 ^{def}
Cvatnja	1	4,63±1,26 ^{bcd}	3,88±0,61 ^{cde}	59,04±6,97 ^{abc}	n.d.	4,51±1,58 ^{ef}	7,27±1,96 ^{ef}	79,33±12,30 ^{def}
	2	3,59±2,04 ^{bcd}	1,85±0,59 ^f	37,49±13,67 ^{cde}	1,08±0,31 ^{bcd}	5,49±1,98 ^{def}	11,04±3,59 ^{def}	60,54±22,15 ^{efg}
	3	6,15±3,81 ^a	4,34±0,56 ^{cde}	61,80±12,88 ^{abc}	1,68±0,49 ^{ab}	11,05±2,71 ^{abc}	18,28±2,06 ^{bcd}	113,30±21,51 ^{bcd}
	4	2,05±0,29 ^{cd}	8,34±3,25 ^{abc}	89,78±18,97 ^a	1,99±0,40 ^a	15,06±2,61 ^a	27,29±4,01 ^a	144,51±22,00 ^a
	5	2,08±0,36 ^{cd}	7,03±0,86 ^{bcd}	89,11±8,35 ^a	1,74±0,20 ^{ab}	13,94±1,78 ^{ab}	28,59±1,41 ^a	142,49±11,45 ^b
Šara	1	2,72±1,19 ^{cd}	2,70±0,55 ^{def}	34,66±9,17 ^{cde}	n.d.	3,61±0,63 ^{ef}	5,04±0,80 ^f	48,73±12,34 ^{fg}
	2	2,09±0,76 ^{cd}	2,52±0,10 ^{ef}	13,09±1,78 ^e	0,86±0,03 ^d	4,32±0,59 ^{ef}	4,38±1,20 ^f	27,26±3,84 ^g
	3	7,60±5,58 ^{bc}	3,13±0,84 ^{def}	60,73±19,71 ^{abc}	1,19±0,35 ^{bcd}	6,62±2,87 ^{cde}	12,04±7,51 ^{def}	91,31±29,27 ^{cde}
	4	1,54±0,54 ^{cd}	6,68±3,55 ^{bcd}	63,42±9,76 ^{abc}	1,63±0,28 ^{abc}	12,29±2,10 ^{abc}	22,32±1,88 ^{abc}	107,88±11,82 ^{bcd}
	5	1,89±0,49 ^{cd}	12,61±2,26 ^a	76,14±7,98 ^{ab}	1,74±0,23 ^{ab}	14,19±3,89 ^a	24,85±3,43 ^{ab}	131,42±17,75 ^{bc}
ANOVA TxTU ^A		*	**	***	*	***	*	**

Myr-3-Glc – miricetin-3-O-glukozid; Q-3-O-glukuronid – kvercetin-3-O-glukuronid; Q-3-O-Glc – kvercetin-3-O-glukozid; K-3-Glc – kemferol-3-O-glukozid; Kempferol (der) – kemferol (derivat). *Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). ^ATxTU signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja temeljem dvosmjerne analize varijance- n.s. interakcija nije signifikantna. *,* i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora. ^BTretman defolijacije (T): Kontrola – bez defolijacije; Cvatnja –djelomična defolijacija u cvatnji; Šara - djelomična defolijacija u šari, ^CTermin uzorkovanja (TU) : 1 – šara, 5 – puna zrelost dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perioda.

Tablica 16. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih flavonola (mg/100 g) u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Syrah' u 2016.godini

Tretman (T) ^B	Termin (TU) ^C	Myr-3-O- Glc	Q-3-O- glukuronid	Q-3-O-Glc	K-3-O-Glc	Kemferol (der)	Ukupni flavonoli
Kontrola	1	5,93±0,28 ^k	2,03±0,03 ^h	48,93±0,19 ^h	1,29±0,05 ^{9h}	1,99±0,02 ^j	60,17±0,40 ^j
	2	11,04±0,20 ^{hi}	2,14±0,07 ^h	47,68±0,16 ^h	1,69±0,07 ^g	5,21±0,16 ^h	67,76±0,64 ^h
	3	12,40±0,06 ^g	3,94±0,07 ^e	59,89±0,71 ^f	3,20±0,05 ^e	9,14±0,20 ^f	88,57±1,07 ^f
	4	10,86±0,19 ⁱ	2,25±0,13 ^h	35,18±0,56 ^k	0,98±0,03 ^{hi}	6,93±0,14 ^g	56,20±0,90 ^k
	5	11,47±0,23 ^h	2,57±0,03 ^g	42,10±0,21 ⁱ	1,14±0,10 ^h	6,14±0,25 ^g	63,42±0,71 ⁱ
Cvatnja	1	8,63±0,08 ^j	3,94±0,14 ^e	76,44±0,75 ^b	3,54±0,33 ^e	3,78±0,46 ⁱ	96,33±1,54 ^e
	2	3,57±0,07 ^l	4,32±0,15 ^d	42,84±0,62 ⁱ	2,32±0,20 ^f	6,84±0,46 ^g	59,89±1,39 ^j
	3	14,79±0,13 ^e	7,22±0,10 ^a	95,14±0,41 ^a	5,63±0,18 ^b	11,41±0,32 ^e	134,19±0,84 ^a
	4	21,12±0,12 ^b	4,72±0,20 ^c	68,71±0,53 ^d	4,43±0,12 ^d	16,32±0,20 ^b	115,30±0,60 ^c
	5	22,93±0,12 ^a	6,63±0,11 ^b	77,58±0,54 ^b	5,64±0,11 ^b	18,82±0,43 ^a	131,60±0,94 ^b
Šara	1	n.d.	1,49±0,04 ⁱ	33,90±0,65 ^k	0,68±0,11 ⁱ	1,82±0,28 ^j	37,89±1,04 ^l
	2	12,30±0,23 ^g	3,56±0,06 ^f	56,81±0,57 ^g	3,19±0,10 ^e	8,65±0,16 ^f	84,51±1,05 ^g
	3	14,07±0,16 ^f	2,71±0,03 ^g	40,48±0,73 ^j	1,60±0,11 ^g	9,16±0,27 ^f	68,02±0,59 ^h
	4	17,19±0,16 ^c	4,69±0,03 ^c	61,66±0,28 ^e	4,92±0,10 ^c	12,39±0,24 ^d	100,85±0,74 ^d
	5	15,67±0,18 ^d	3,88±0,06 ^e	72,84±0,37 ^c	6,29±0,24 ^a	15,31±0,20 ^c	113,99±0,63 ^c
ANOVA TxTU ^A		**	**	***	**	**	**

Myr-3-Glc – miricetin-3-O-glukozid; Q-3-O-glukuronid – kvercetin-3-O-glukuronid; Q-3-O-Glc – kvercetin-3-O-glukozid; K-3-O-Glc – kemferol-3-O-glukozid; Kemferol (der) – kemferol (derivat). *Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). ^ATxTU signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja temeljem dvosmjerne analize varijance- n.s. interakcija nije signifikantna. ,* i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije tretmana defolijacije i termina uorkovanja sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora. ^BTretman defolijacije (T): Kontrola – bez defolijacije; Cvatnja –djelomična defolijacija u cvatnji; Šara -djelomična defolijacija u šari, ^CTermin uzorkovanja (TU) : 1 – šara, 5 – puna zrelost dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perioda.

U tablicama 17 i 18 prikazan je utjecaj tretmana djelomične defolijacije na sadržaj pojedinačnih i ukupnih flavonola u kožici bobice sorte 'Cabernet Sauvignon' tijekom dozrijevanja grožđa i u fazi pune zrelosti u dvije godine istraživanja. Analiza varijance pokazala je statistički značajnu interakciju između tretmana defolijacije i termina uzorkovanja (TxTU) za sve analizirane flavonole, što ukazuje na različitu dinamiku njihovog nakupljanja tijekom dozrijevanja ovisno o tretmanu i godini istraživanja.

U 2015. godini sadržaj ukupnih flavonola varirao je tijekom dozrijevanja u svim tretmanima. Najveća vrijednost ukupnih flavonola tijekom dozrijevanja zabilježena je u predzadnjem terminu uzorkovanja u tretmanu defolijacije u šari (65,11 mg/100 g), dok je u istoj varijanti zabilježen i najveći sadržaj ukupnih flavonola u fazi pune zrelosti (59,09 mg/100 g). U tretmanu defolijacije u cvatnji najveća vrijednost ukupnih flavonola također je zabilježena u predzadnjem terminu uzorkovanja (64,99 mg/100 g), dok su u kontroli izmjerene niže vrijednosti ukupnih flavonola u svim terminima uzorkovanja.

U 2016. godini zabilježene je znatno veći sadržaj ukupnih flavonola u odnosu na 2015. godinu. Najveći sadržaj ukupnih flavonola tijekom dozrijevanja izmjeren je u predzadnjem terminu uzorkovanja u tretmanu defolijacije u cvatnji (126,02 mg/100 g), dok je u istom tretmanu zabilježena i najveći sadržaj ukupnih flavonola u fazi pune zrelosti (99,63 mg/100 g). U tretmanu defolijacije u šari najveće vrijednosti ukupnih flavonola izmjerene su u četvrtom terminu uzorkovanja (68,93 mg/100 g), dok su u kontroli izmjerene značajno niže vrijednosti tijekom cijelog razdoblja dozrijevanja.

Sadržaj pojedinačnih flavonola tijekom dozrijevanja grožđa razlikovao se ovisno o tretmanu, terminu uzorkovanja i godini istraživanja. U obje godine najzastupljeniji flavonol u kožici bobice bio je kvercetin-3-O-glukozid, čiji je sadržaj pokazivao izražene promjene tijekom dozrijevanja. U 2015. godini najveće vrijednosti kvercetin-3-O-glukozida zabilježene su u predzadnjem terminu uzorkovanja u tretmanima defolijacije u cvatnji i šari, dok su u 2016. godini zabilježene znatno više vrijednosti u svim tretmanima, osobito u tretmanu defolijacije u cvatnji. Sličan obrazac promjena tijekom dozrijevanja zabilježen je i za miricetin-3-O-glukozid te derivate kemferola, uz statistički značajne razlike između tretmana i termina uzorkovanja.

Tablica 17. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih flavonola (mg/100 g) u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Cabernet Sauvignon' u 2015. godini

Tretman (T) ^B	Termin (TU) ^C	Myr-3-O-Glc	Q-3-O-glukuronid	Q-3-O-Glc	K-3-O-Glc	Kemferol (der)	Ukupni flavonoli
Kontrola	1	1,22±0,25 ^e	2,67±0,13 ^{bcd}	24,85±0,25 ^h	5,66±0,25 ^{cd}	4,35±0,43 ^c	38,75±0,61 ^g
	2	1,77±0,34 ^e	2,27±0,23 ^{de}	20,27±0,44 ⁱ	4,72±0,13 ^{ef}	3,91±0,14 ^c	32,94±0,77 ^h
	3	1,49±0,23 ^e	2,08±0,16 ^e	20,01±0,29 ⁱ	4,17±0,22 ^{ef}	3,75±0,23 ^{cd}	31,50±0,71 ^h
	4	5,76±0,60 ^b	2,26±0,11 ^{de}	30,35±0,46 ^f	3,15±0,16 ^g	3,05±0,05 ^d	44,57±0,47 ^f
	5	4,03±0,22 ^c	2,62±0,17 ^{bcd}	35,86±0,64 ^d	4,21±0,14 ^{ef}	3,92±0,34 ^c	50,64±1,29 ^d
Cvatnja	1	1,79±0,28 ^e	2,71±0,42 ^{bcd}	28,92±0,50 ^g	3,18±0,29 ^g	3,05±0,50 ^d	39,65±1,25 ^g
	2	6,17±0,25 ^b	3,17±0,21 ^{ab}	37,22±0,37 ^c	4,85±0,55 ^{de}	3,86±0,39 ^c	55,27±1,05 ^c
	3	5,44±0,54 ^b	3,01±0,04 ^{ab}	31,68±0,38 ^e	4,12±0,21 ^{ef}	4,11±0,21 ^c	48,36±0,25 ^{de}
	4	9,29±0,67 ^a	3,63±0,28 ^a	41,97±0,09 ^a	5,79±0,53 ^{bc}	4,31±0,39 ^c	64,99±1,10 ^a
	5	3,07±0,36 ^{cd}	2,72±0,38 ^{bcd}	24,80±0,25 ^h	3,86±0,31 ^{fg}	4,14±0,13 ^c	38,58±0,72 ^g
Šara	1	2,07±0,06 ^{de}	2,21±0,34 ^{de}	20,50±0,50 ⁱ	4,59±0,28 ^{ef}	4,03±0,04 ^c	33,40±0,62 ^h
	2	3,62±0,08 ^c	2,93±0,16 ^{abc}	28,37±0,82 ^g	5,97±0,36 ^{bc}	5,72±0,13 ^b	46,61±0,83 ^{ef}
	3	3,89±0,31 ^c	2,80±0,31 ^{bcd}	32,78±0,25 ^e	4,06±0,26 ^{efg}	3,72±0,16 ^{cd}	47,25±1,23 ^e
	4	8,87±0,19 ^a	3,21±0,23 ^{ab}	38,86±0,18 ^b	7,26±0,28 ^a	6,91±0,09 ^a	65,11±0,90 ^a
	5	6,37±0,41 ^b	3,18±0,15 ^{ab}	36,88±0,20 ^{cd}	6,59±0,27 ^{ab}	6,07±0,18 ^b	59,09±0,43 ^b
ANOVA TxTU ^A		**	**	**	**	**	**

Myr-3-O-Glc – miricetin-3-O-glukozid; Q-3-O-glukuronid – kvercetin-3-O-glukuronid; Q-3-O-Glc – kvercetin-3-O-glukozid; K-3-O-Glc – kemferol-3-glukozid; Kemferol (der) – kemferol (derivat). *Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). ^ATxTU signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja temeljem dvosmjerne analize varijance- n.s. interakcija nije signifikantna. , * i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije tretmana defolijacije i termina uorkovanja sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora. ^BTretman defolijacije (T): Kontrola – bez defolijacije; Cvatnja –djelomična defolijacija u cvatnji; Šara -djelomična defolijacija u šari, ^CTermin uzorkovanja (TU) : 1 – šara, 5 – puna zrelost dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perioda.

Tablica 18. Utjecaj djelomične defolijacije na sastav i sadržaj pojedinačnih flavonola (mg/100 g) u grožđu u različitim terminima uzorkovanja tijekom dozrijevanja kod sorte 'Cabernet Sauvignon' u 2016. godini

Tretman (T) ^B	Termin (TU) ^C	Myr-3-O-Glc	Q-3-O-glukuronid	Q-3-O-Glc	K-3-O-Glc	Kemferol (der)	Ukupni flavonoli
Kontrola	1	4,32±0,08 ⁱ	n.d.	11,07±0,12 ^l	n.d.	n.d.	15,39±0,12 ^m
	2	9,38±0,42 ^{ef}	1,40±0,02 ^j	25,73±0,33 ⁱ	0,97±0,05 ^k	n.d.	37,48±0,37 ^k
	3	10,24±0,07 ^d	1,02±0,04 ^k	17,57±0,38 ^k	1,19±0,04 ^{jk}	1,95±0,10 ^g	31,97±0,39 ^l
	4	12,04±0,07 ^b	1,53±0,07 ^j	20,65±0,37 ^l	1,62±0,04 ^{hi}	3,73±0,07 ^e	39,57±0,49 ^j
	5	14,33±0,29 ^a	2,30±0,05 ⁱ	27,88±0,19 ⁿ	3,25±0,05 ^g	5,32±0,19 ^c	53,08±0,29 ^j
Cvatnja	1	8,34±0,09 ^g	3,02±0,05 ⁿ	45,92±0,35 ^d	3,70±0,21 ^f	2,89±0,13 ^f	63,87±0,62 ^{fg}
	2	10,85±0,09 ^c	3,02±0,10 ⁿ	36,04±0,18 ^g	4,35±0,13 ^e	4,39±0,25 ^d	58,65±0,23 ^h
	3	11,99±0,10 ^b	4,65±0,07 ^c	69,94±0,43 ^c	6,79±0,07 ^b	3,50±0,03 ^e	96,87±0,38 ^c
	4	14,68±0,44 ^a	6,95±0,10 ^a	84,20±0,24 ^a	12,29±0,19 ^a	7,90±0,06 ^a	126,02±0,51 ^a
	5	11,24±0,06 ^c	5,34±0,09 ^b	77,85±0,23 ^b	1,43±0,06 ^{ij}	3,77±0,08 ^e	99,63±0,06 ^b
Šara	1	6,60±0,09 ^h	1,36±0,04 ^j	20,90±0,19 ⁱ	1,93±0,09 ^h	2,00±0,13 ^g	32,79±0,43 ^l
	2	8,98±0,13 ^f	3,84±0,07 ^{ie}	40,94±0,08 ^f	6,93±0,06 ^b	6,37±0,24 ^b	67,06±0,40 ^e
	3	6,63±0,03 ^h	3,50±0,07 ^{df}	44,85±0,41 ^e	5,02±0,09 ^d	4,38±0,19 ^d	64,38±0,15 ^f
	4	9,70±0,13 ^{de}	4,07±0,06 ^d	44,36±0,30 ^e	6,26±0,24 ^c	4,54±0,18 ^d	68,93±0,74 ^d
	5	11,03±0,08 ^c	3,27±0,03 ^g	35,78±0,29 ^g	5,94±0,18 ^c	6,48±0,14 ^b	62,50±0,59 ^g
ANOVA TxTU ^A		**	*	***	**	**	**

Myr-3-O-Glc – miricetin-3-O-glukozid; Q-3-O-glukuronid – kvercetin-3-O-glukuronid; Q-3-O-Glc – kvercetin-3-O-glukozid; K-3-O-Glc – kemferol-3-O-glukozid; Kemferol (der) – kemferol (derivat). *Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). ^ATxTU signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i termina uzorkovanja temeljem dvosmjerne analize varijance- n.s. interakcija nije signifikantna. , * i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije tretmana defolijacije i termina uorkovanja sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora. ^BTretman defolijacije (T): Kontrola – bez defolijacije; Cvatnja –djelomična defolijacija u cvatnji; Šara -djelomična defolijacija u šari, ^CTermin uzorkovanja (TU) : 1 – šara, 5 – puna zrelost dok su ostali termini u jednakim razmacima od 10 dana tijekom tog perioda.

4.4. Utjecaj djelomične defolijacije na sadržaj antocijana i ostalih fenola u vinu

4.4.1. Utjecaj defolijacije na početni sadržaj i stabilnost antocijana tijekom dozrijevanja vina

U vinima triju istraživanih sorata analiziran je sadržaj pojedinačnih antocijana neposredno nakon punjenja vina u boce (vino bez dozrijevanja) te nakon šest mjeseci i nakon godinu dana dozrijevanja. U vinima je ukupno identificirano sedam pojedinačnih antocijana (Tablica 19, 20 i 21). Najzastupljeniji antocijan u svim vinima je bio malvidin-3-O-glukozid, čije su koncentracije varirale ovisno o godini i provedenom tretmanu defolijacije. Drugi antocijan po zastupljenosti je bio malvidin-3-O-acetil-glukozid.

Utvrđena je značajna interakcija između utjecaja tretmana defolijacije i vremena dozrijevanja vina kod svih antocijana u obje godine istraživanja i kod sve tri sorte čime je utvrđeno da tretmani defolijacije utječu značajno na stabilnost antocijana u vinima tijekom dozrijevanja.

U obje godine istraživanja i kod sve tri istraživane sorte tijekom vremena došlo je do značajne degradacije antocijana u vinima tj. smanjenja njihovog sadržaja. Smanjenje sadržaja antocijana tijekom dozrijevanja u sva tri vina je bilo vrlo visoko, u rasponu od 36 % do 90 %, ovisno o godini i tretmanu. U 2016. godini smanjenje sadržaja antocijana je bilo nešto niže i kretalo se u rasponu između 36 % do 70 %, dok je u 2015. godini bilo u rasponu između 65% i 90 %.

Najzastupljeniji pojedinačni antocijan u svim vinima nakon 12 mjeseci dozrijevanja je bio malvidin i to u sva tri oblika, monoglukozidnom, acetil i kumaril glukozidnom. Specifične promjene kod svake od istraživanih sorata opisane su u nastavku.

'Merlot'

Provedba defolijacije u obje godine istraživanja u vinu sorte 'Merlot' značajno je utjecala na sadržaj ukupnih antocijana neposredno nakon vinifikacije u odnosu na kontrolni tretman (Tablica 19).

U 2015. godini najveći sadržaj ukupnih antocijana u vinima neposredno nakon vinifikacije zabilježen je u tretmanu djelomične defolijacije provedene u cvatnji (158,98 mg/L), dok je u 2016. godini najveći početni sadržaj ukupnih antocijana izmjeren u tretmanu defolijacije u šari (130,21 mg/L). U obje godine istraživanja najniže početne vrijednosti ukupnih antocijana zabilježene su u kontrolnom tretmanu.

Tijekom dozrijevanja vina zabilježeno je smanjenje sadržaja ukupnih antocijana u svim tretmanima, pri čemu su razlike u intenzitetu smanjenja bile ovisne o primijenjenom tretmanu defolijacije i vremenu dozrijevanja. Nakon šest mjeseci dozrijevanja uočen je izražen pad sadržaja ukupnih antocijana, dok je nakon dvanaest mjeseci dozrijevanja smanjenje bilo još naglašenije. U 2015. godini najveći gubitak ukupnih antocijana zabilježen je u vinu iz tretmana defolijacije u cvatnji, gdje je nakon dvanaest mjeseci dozrijevanja sadržaj ukupnih antocijana smanjen za približno 90 % u odnosu na početne vrijednosti.

U 2016. godini u vinima iz oba tretmana defolijacije zabilježen je manji stupanj smanjenja sadržaja ukupnih antocijana tijekom dozrijevanja u usporedbi s kontrolnim tretmanom, što upućuje na razlike u stabilnosti antocijana između tretmana tijekom vremena dozrijevanja vina.

Tablica 19. Utjecaj tretmana defolijacije na sadržaj antocijana u vinu sorte 'Merlot' neposredno nakon vinifikacije, te nakon dozrijevanja 6 mjeseci i 12 mjeseci u 2015. i 2016. godini.

			Antocijani (mg/L)							
Godina	Tretman (T) ^B	Vrijeme dozrijevanja (mjeseci - V) ^C	Pet-3 O - Glc ^A	Peo-3- O Glc	Malv-3 O - Glc	Pet-3- O Coum-Glc	Peo-3- O Coum-Glc	Malv-3- O Ac-Glc	Mal-3-p-Coum-Glc	Ukupni antocijani
2015.	K	0	3,06±0,10 ^c	1,18±0,02 ^c	50,14±0,04 ^c	0,77±0,04 ^c	1,19±0,04 ^{cd}	19,32±0,10 ^c	10,75±0,07 ^c	86,41±0,14 ^c
		6	2,87±0,04 ^d	1,15±0,03 ^c	42,75±0,06 ^d	0,62±0,03 ^d	0,92±0,09 ^{ef}	15,73±0,06 ^d	8,17±0,02 ^d	72,21±0,33 ^d
		12	n.d.	n.d.	14,74±0,09 ^g	n.d.	0,78±0,04 ^f	4,98±0,07 ^g	1,88±0,04 ^g	22,38±0,15 ^g
	DE-CV	0	6,27±0,03 ^a	1,66±0,05 ^a	90,55±0,07 ^a	1,73±0,05 ^a	1,96±0,07 ^a	36,04±0,09 ^a	20,77±0,05 ^a	158,98±0,21 ^a
		6	2,39±0,05 ^f	0,78±0,05 ^{ef}	34,19±0,15 ^f	0,51±0,06 ^d	1,35±0,07 ^{bc}	11,26±0,10 ^f	5,74±0,07 ^f	56,22±0,33 ^f
		12	n.d.	n.d.	10,52±0,16 ⁱ	n.d.	1,19±0,03 ^{cd}	3,29 ± 0,05 ^h	1,19±0,03 ^h	16,19±0,11 ^h
	DE-Š	0	4,67±0,21 ^b	1,41±0,21 ^b	73,01±0,21 ^b	1,34±0,21 ^b	1,82±0,21 ^a	29,84±0,21 ^b	15,90±0,21 ^b	127,99±0,21 ^b
		6	2,63±0,05 ^e	0,96±0,05 ^d	38,87±0,13 ^e	0,60±0,03 ^d	1,48±0,02 ^b	13,98±0,11 ^e	6,82±0,04 ^e	65,34±0,34 ^e
		12	n.d.	n.d.	14,40±0,04 ^h	n.d.	1,07±0,05 ^{de}	5,05±0,10 ^g	1,77±0,14 ^g	22,29±0,06 ^g
ANOVA T x V ^A			**	***	***	**	**	***	***	***
2016.	K	0	2,95±0,20 ^d	3,22±0,08 ^c	58,73±0,29 ^c	n.d.	1,20±0,06 ^b	21,46±0,07 ^d	11,77±0,03 ^b	99,66±0,69 ^d
		6	2,16±0,06 ^f	0,67±0,08 ^f	37,59±0,23 ^d	n.d.	0,67±0,06 ^e	10,03±0,17 ^g	5,96±0,11 ^f	57,08±0,67 ^g
		12	1,21±0,04 ^g	n.d.	21,58±0,06 ^g	n.d.	n.d.	4,89±0,14 ⁱ	3,14±0,11 ^g	30,82±0,28 ^h
	DE-CV	0	3,20±0,13 ^{cd}	4,16±0,08 ^b	66,61±0,13 ^a	1,18±0,05 ^b	0,96±0,11 ^{cd}	23,25±0,24 ^b	14,04±0,06 ^a	113,40±0,54 ^b
		6	3,07±0,09 ^d	0,95±0,07 ^e	52,86±0,09 ^f	n.d.	0,87±0,08 ^d	14,20±0,03 ^e	9,23±0,10 ^c	81,18±0,46 ^e
		12	2,45±0,07 ^e	n.d.	37,95±0,13 ⁱ	n.d.	n.d.	8,42±0,13 ^h	7,04±0,10 ^e	55,86±0,22 ^g
	DE-Š	0	4,76±0,07 ^a	4,33±0,05 ^a	74,07±0,10 ^b	1,53±0,08 ^a	1,41±0,06 ^a	29,86±0,21 ^a	14,25±0,04 ^a	130,21±0,42 ^a
		6	4,31±0,04 ^b	1,46±0,06 ^d	70,46±0,07 ^e	n.d.	1,09±0,06 ^{bc}	22,54±0,06 ^c	11,96±0,13 ^d	111,82±0,30 ^c
		12	3,47±0,06 ^c	n.d.	46,85±0,06 ^h	n.d.	n.d.	12,86±0,06 ^f	8,08±0,09 ^d	71,26±0,10 ^f
ANOVA T x V ^A			***	**	***	**	**	***	***	***

K- kontrola; DE-CV- djelomična defolijacija provedena u cvatnji; DE-Š- djelomična defolijacija provedena u šari. Pet-3-Glc- petunidin-3-glukozid; Peo-3-Glc-peonidin-3-glukozid; Malv-3-Glc-malvidin-3-glukozid; Pet-3-Coum-Glc- petunidin-3-kumaril-glukozid; Peo-3-Coum-Glc- peonidin-3-p-kumaril-glukozid; Malv-3-Ac-Glc-malvidin-3-acetil glukozid;; Mal-3-p-kum-Glc- malvidin-3-p-kumaril glukozid . *Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). n.d.-nije detektirano. ^ATxV signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i vremena dozrijevanja temeljem dvosmjerne analize varijance- n.s. interakcija nije signifikantna. *, ** i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca i godine su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora.

'Syrah'

Provedba defolijacije u obje godine istraživanja u vinu sorte 'Syrah' utjecala je na sadržaj ukupnih antocijana u odnosu na kontrolni tretman (Tablica 20), pri čemu su najviše vrijednosti ukupnih antocijana u obje godine zabilježene u tretmanu defolijacije u šari. Najveći sadržaj ukupnih antocijana u vinima neposredno nakon punjenja u 2015. godini izmjeren je u tretmanu defolijacije u šari (209,16 mg/L), dok je u 2016. godini u istom tretmanu izmjerena vrijednost od 137,05 mg/L. U obje godine istraživanja najmanji sadržaj ukupnih antocijana u vinu 'Syrah' izmjeren je u kontrolnom tretmanu.

Sličan obrazac zabilježen je i za sadržaj pojedinačnih antocijana. U obje godine istraživanja u tretmanu defolijacije u šari izmjeren je najveći sadržaj većine analiziranih pojedinačnih antocijana u vinima neposredno nakon vinifikacije. Iznimka je bio petunidin-3-O-kumaril-glukozid, čija koncentracija u 2015. godini nije pokazivala isti obrazac, dok u 2016. godini ovaj antocijan nije bio detektiran.

Tijekom dozrijevanja vina 'Syrah' došlo je do smanjenja sadržaja ukupnih antocijana u svim tretmanima. Ukupan stupanj degradacije antocijana tijekom dozrijevanja vina kretao se između 59 i 69 %, ovisno o godini istraživanja i tretmanu. Nakon dvanaest mjeseci dozrijevanja u vinima iz svih tretmana zabilježen je znatno manji sadržaj ukupnih antocijana u odnosu na početne vrijednosti.

Analiza pojedinačnih antocijana pokazala je da je peonidin-3-O-glukozid pokazao najveće smanjenje koncentracije tijekom dozrijevanja vina, pri čemu u 2016. godini nije detektiran u vinima nakon dvanaest mjeseci dozrijevanja. Unatoč izraženoj degradaciji antocijana tijekom dozrijevanja, u vinima iz tretmana defolijacije u šari u obje godine istraživanja zabilježen je najveći sadržaj ukupnih antocijana nakon dvanaest mjeseci dozrijevanja u boci.

Tablica 20. Utjecaj tretmana defolijacije na sadrža antocijana u vinu sorte 'Syrah' neposredno nakon vinifikacije, te nakon dozrijevanja 6 mjeseci i 12 mjeseci u 2015. i 2016. godini.

Godina	Tretman (T) ^B	Vrijeme dozrijevanja (mjeseci,V) ^C	Antocijani (mg/L)							Ukupni antocijani
			Pet-3-O-Glc	Peo-3-O-Glc	Malv-3-O-Glc	Pet-3-O-Coum-Glc	Peo-3-O-Coum-Glc	Mal-3-O-Ac-Glc	Mal-3-p-Coum-Glc	
2015.	K	0	3,06±0,10 ^c	1,18±0,02 ^c	50,14±0,04 ^c	0,77±0,04 ^c	1,19±0,04 ^{cd}	19,32±0,10 ^c	10,75±0,07 ^c	86,41±0,14 ^c
		6	2,87±0,04 ^d	1,15±0,03 ^c	42,75±0,06 ^d	0,62±0,03 ^d	0,92±0,09 ^{ef}	15,73±0,06 ^d	8,17±0,02 ^d	72,21±0,33 ^d
		12	n.d.	n.d.	14,74±0,09 ^g	n.d.	0,78±0,04 ^f	4,98±0,07 ^g	1,88±0,04 ^g	22,38±0,15 ^g
	DE-CV	0	6,27±0,03 ^a	1,66±0,05 ^a	90,55±0,07 ^a	1,73±0,05 ^a	1,96±0,07 ^a	36,04±0,09 ^a	20,77±0,05 ^a	158,98±0,21 ^a
		6	2,39±0,05 ^f	0,78±0,05 ^{ef}	34,19±0,15 ^f	0,51±0,06 ^d	1,35±0,07 ^{bc}	11,26±0,10 ^f	5,74±0,07 ^f	56,22±0,33 ^f
		12	n.d.	n.d.	10,52±0,16 ⁱ	n.d.	1,19±0,03 ^{cd}	3,29 ± 0,05 ^h	1,19±0,03 ^h	16,19±0,11 ^h
	DE-Š	0	4,67±0,21 ^b	1,41±0,21 ^b	73,01±0,21 ^b	1,34±0,21 ^b	1,82±0,21 ^a	29,84±0,21 ^b	15,90±0,21 ^b	127,99±0,21 ^b
		6	2,63±0,05 ^e	0,96±0,05 ^d	38,87±0,13 ^e	0,60±0,03 ^d	1,48±0,02 ^b	13,98±0,11 ^e	6,82±0,04 ^e	65,34±0,34 ^e
		12	n.d.	n.d.	14,40±0,04 ^h	n.d.	1,07±0,05 ^{de}	5,05±0,10 ^g	1,77±0,14 ^g	22,29±0,06 ^g
ANOVA T x V ^A			**	***	***	**	**	***	***	***
2016.	K	0	2,95±0,20 ^d	3,22±0,08 ^c	58,73±0,29 ^c	n.d.	1,20±0,06 ^b	21,46±0,07 ^d	11,77±0,03 ^b	99,66±0,69 ^d
		6	2,16±0,06 ^f	0,67±0,08 ^f	37,59±0,23 ^d	n.d.	0,67±0,06 ^e	10,03±0,17 ^g	5,96±0,11 ^f	57,08±0,67 ^g
		12	1,21±0,04 ^g	n.d.	21,58±0,06 ^g	n.d.	n.d.	4,89±0,14 ⁱ	3,14±0,11 ^g	30,82±0,28 ^h
	DE-CV	0	3,20±0,13 ^{cd}	4,16±0,08 ^b	66,61±0,13 ^a	1,18±0,05 ^b	0,96±0,11 ^{cd}	23,25±0,24 ^b	14,04±0,06 ^a	113,40±0,54 ^b
		6	3,07±0,09 ^d	0,95±0,07 ^e	52,86±0,09 ^f	n.d.	0,87±0,08 ^d	14,20±0,03 ^e	9,23±0,10 ^c	81,18±0,46 ^e
		12	2,45±0,07 ^e	n.d.	37,95±0,13 ⁱ	n.d.	n.d.	8,42±0,13 ^h	7,04±0,10 ^e	55,86±0,22 ^g
	DE-Š	0	4,76±0,07 ^a	4,33±0,05 ^a	74,07±0,10 ^b	1,53±0,08 ^a	1,41±0,06 ^a	29,86±0,21 ^a	14,25±0,04 ^a	130,21±0,42 ^a
		6	4,31±0,04 ^b	1,46±0,06 ^d	70,46±0,07 ^e	n.d.	1,09±0,06 ^{bc}	22,54±0,06 ^c	11,96±0,13 ^d	111,82±0,30 ^c
		12	3,47±0,06 ^c	n.d.	46,85±0,06 ^h	n.d.	n.d.	12,86±0,06 ^f	8,08±0,09 ^d	71,26±0,10 ^f
ANOVA T x V ^A			***	**	***	**	**	***	***	***

K- kontrola; DE-CV- djelomična defolijacija provedena u cvatnji; DE-Š- djelomična defolijacija provedena u šari. Pet-3-Glc- petunidin-3-glukozid; Peo-3-Glc-peonidin-3-glukozid; Malv-3-Glc-malvidin-3-glukozid; Pet-3-Coum-Glc- petunidin-3-kumaril-glukozid; Peo-3-Coum-Glc- peonidin-3-p-kumaril-glukozid; Malv-3-Ac-Glc-malvidin-3-acetil glukozid;; Mal-3-p-kum-Glc- malvidin-3-p-kumaril glukozid. *Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). n.d.-nije detektirano. ^ATxV signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i vremena dozrijevanja temeljem dvosmjerne analize varijance- n.s. interakcija nije signifikantna. *, ** i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca i godine su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora.

'Cabernet Sauvignon'

Učinci provedene defolijacije na sadržaj antocijana u vinu sorte 'Cabernet Sauvignon' razlikovali su se između istraživanih godina (Tablica 21). U 2015. godini najveći sadržaj ukupnih antocijana u vinima neposredno nakon vinifikacije zabilježen je u kontrolnom tretmanu (160,00 mg/L), dok su u tretmanima defolijacije u cvatnji i šari izmjerene niže vrijednosti (142,67 mg/L odnosno 112,88 mg/L). Najmanji početni sadržaj ukupnih antocijana u toj godini utvrđen je u tretmanu defolijacije u šari. U 2016. godini najveći sadržaj ukupnih antocijana neposredno nakon vinifikacije zabilježen je u tretmanu defolijacije u cvatnji (132,15 mg/L), dok su u tretmanu defolijacije u šari izmjerene nešto niže vrijednosti (124,72 mg/L). Najmanji početni sadržaj ukupnih antocijana u 2016. godini izmjeren je u kontrolnom tretmanu (117,28 mg/L).

U obje godine dominantni antocijan u vinu bio je malvidin-3-O-glukozid, čija je koncentracija pokazivala statistički značajne razlike među pojedinim kombinacijama tretmana i vremena dozrijevanja vina. Sadržaj ostalih pojedinačnih antocijana također se razlikovao među tretmanima, a u određenim kombinacijama tretmana i vremena dozrijevanja neki antocijani bili su ispod granice detekcije. Tijekom dozrijevanja vina 'Cabernet Sauvignon' došlo je do smanjenja sadržaja ukupnih antocijana u svim tretmanima i u obje godine istraživanja između 35 i 76 %, ovisno o godini istraživanja. Nakon dvanaest mjeseci dozrijevanja u svim tretmanima zabilježen je znatno manji sadržaj ukupnih antocijana u odnosu na početne vrijednosti.

Analiza pojedinačnih antocijana pokazala je da je petunidin-3-O-glukozid bio antocijan s najvećim stupnjem smanjenja koncentracije u obje istraživane godine te nije detektiran u vinima nakon dvanaest mjeseci dozrijevanja. Peonidin-3-O-glukozid nije detektiran u vinu iz 2015. godine nakon dvanaest mjeseci dozrijevanja, dok peonidin-3-O-kumaril-glukozid nije detektiran u vinu iz 2016. godine u istoj fazi dozrijevanja. Promjene sadržaja ukupnih i pojedinačnih antocijana tijekom dozrijevanja vina nisu se odvijale jednako u svim tretmanima. U 2016. godini u tretmanu defolijacije u cvatnji zabilježeno je manje smanjenje sadržaja ukupnih antocijana tijekom dozrijevanja u usporedbi s kontrolnim tretmanom..

Tablica 21. Utjecaj tretmana defolijacije na sadržaj antocijana u vinu sorte 'Cabernet Sauvignon' neposredno nakon vinifikacije, te nakon dozrijevanja 6 mjeseci i 12 mjeseci u 2015. i 2016. godini.

Godina	Tretman (T) ^B	Vrijeme dozrijevanja (mjeseci, V) ^C	Antocijani (mg/L)							Ukupni antocijani	
			Pet-3-O-Glc ^A	Peo-3-O-Glc	Malv-3-O-Glc	Pet-3-O-Coum-Glc	Peo-3-O-Coum-Glc	Mal-3-O-Ac-Glc	Mal-3-O-Coum-Glc		
2015	K	0	3,57±0,04 ^a	0,82±0,04 ^b	97,90±0,26 ^a	1,29±0,05 ^b	1,46±0,05 ^a	45,12±0,24 ^a	9,84±0,07 ^a	160,00±0,23 ^a	
		6	1,98±0,11 ^c	n.d.	56,90±0,12 ^d	1,02±0,07 ^{de}	0,76±0,07 ^d	23,86±0,17 ^d	4,20±0,18 ^d	88,2 ± 0,17 ^d	
		12	n.d.	n.d.	23,76±0,04 ^f	0,12±0,02 ^f	0,38±0,03 ^f	10,82±0,26 ^g	1,47±0,11 ^f	36,55 ± 0,31 ^f	
	DE-CV	0	3,46±0,16 ^a	1,16±0,13 ^a	89,80±0,47 ^b	1,32±0,03 ^b	1,40±0,02 ^a	38,47±0,33 ^b	7,06±0,09 ^b	142,67±0,84 ^b	
		6	1,97±0,08 ^c	n.d.	50,51±0,15 ^e	1,14±0,01 ^{cd}	0,97±0,08 ^c	22,68±0,08 ^e	3,15±0,11 ^e	80,62 ± 0,29 ^e	
		12	n.d.	n.d.	22,83±0,06 ^g	1,02±0,04 ^{de}	0,53±0,04 ^e	10,06±0,16 ^{gh}	1,13±0,06 ^g	35,57 ± 0,23 ^f	
	DE-Š	0	2,77±0,04 ^b	0,87±0,04 ^b	68,76±0,04 ^c	1,67±0,04 ^a	1,12±0,10 ^b	30,73±0,66 ^c	6,96±0,14 ^b	112,88±0,67 ^c	
		6	1,96±0,08 ^c	0,58±0,04 ^c	50,24±0,07 ^e	1,23±0,08 ^{bc}	0,79±0,02 ^d	19,92±0,32 ^f	4,75±0,06 ^c	79,47 ± 0,28 ^e	
		12	n.d.	n.d.	23,58±0,09 ^f	0,89±0,03 ^e	0,59±0,04 ^e	9,57 ± 0,08 ^h	1,74±0,03 ^f	36,37 ± 0,10 ^f	
	ANOVA TxV ^A			*	*	***	**	**	***	***	**
	2016	K	0	1,14±0,08 ^b	3,25±0,09 ^d	70,93±0,13 ^c	n.d.	1,18±0,08 ^b	33,45±0,51 ^b	7,33±0,34 ^b	117,28±0,25 ^c
			6	n.d.	2,16±0,09 ^f	58,94±0,08 ^e	n.d.	0,87±0,04 ^c	27,73±0,44 ^d	4,92±0,13 ^{de}	94,62 ± 0,43 ^e
12			n.d.	1,60±0,05 ^g	47,45±0,11 ^h	n.d.	n.d.	20,93±0,19 ^{fg}	5,36±0,09 ^d	75,34 ± 0,31 ^h	
DE-CV		0	1,95±0,07 ^a	4,88±0,03 ^a	81,93±0,15 ^a	n.d.	2,05±0,10 ^a	34,70±0,30 ^a	6,64±0,04 ^c	132,15±0,53 ^a	
		6	0,10±0,17 ^c	3,62±0,03 ^c	65,03±0,12 ^d	n.d.	1,20±0,03 ^b	26,71±0,36 ^e	4,28±0,15 ^f	100,94±0,60 ^d	
		12	n.d.	3,46±0,06 ^{cd}	54,41±0,26 ^f	n.d.	n.d.	21,67±0,10 ^f	5,07±0,16 ^d	84,61 ± 0,24 ^f	
DE-Š		0	1,80±0,04 ^a	4,17±0,16 ^b	76,50±0,39 ^b	n.d.	1,14±0,02 ^b	32,48±0,08 ^c	8,63±0,14 ^a	124,72±0,74 ^b	
		6	n.d.	2,41±0,04 ^e	50,02±0,17 ^g	n.d.	0,82±0,03 ^c	20,19±0,18 ^g	4,52±0,05 ^{ef}	77,96 ± 0,18 ^g	
		12	n.d.	1,54±0,06 ^g	32,79±0,20 ⁱ	n.d.	n.d.	11,89±0,07 ^h	2,96±0,10 ^g	49,18 ± 0,13 ⁱ	
ANOVA TxV ^A			*	***	***	*	***	***	***		

K- kontrola; DE-CV- djelomična defolijacija provedena u cvatnji; DE-Š- djelomična defolijacija provedena u šari. Pet-3-Glc- petunidin-3-glukozid; Peo-3-Glc-peonidin-3-glukozid; Malv-3-Glc-malvidin-3-glukozid; Pet-3-Coum-Glc- petunidin-3-kumaril-glukozid; Peo-3-Coum-Glc- peonidin-3-p-kumaril-glukozid; Malv-3-Ac-Glc-malvidin-3-acetil glukozid;; Mal-3-p-kum-Glc- malvidin-3-p-kumaril glukozid. *Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). n.d.-nije detektirano. ^ATxV signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i vremena dozrijevanja temeljem dvosmjerne analize varijance- n.s. interakcija nije signifikantna. *,** i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca i godine su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora.

4.4.2. Utjecaj defolijacije na početni sadržaj i stabilnost ostalih skupina polifenola u vinu

Osim antocijana u svim vinima analizirane su i ostale skupine polifenolnih spojeva. U vinima su identificirane fenolne kiseline: galna, *p*-kumarinska i klorogenska, kao i dvije skupine proantocijanidina, B1 i B6. Od flavan-3-ola u vinima 'Merlot' i 'Cabernet Sauvignon' utvrđena je prisutnost epigalokatehina i epikatehina, dok je u 'Syrahu' uz ta dva spoja identificiran i katehin. Među flavonolima identificirani su kvercetin-3-glukozid i kemferol-3-glukozid. U tablicama 22. i 23. prikazan je utjecaj defolijacije na sve navedene skupine polifenola tj. na ukupni sadržaj pojedinih skupina.

Kod svih sorata i u obje godine istraživanja utvrđene su značajne interakcije tretmana defolijacije i vremena dozrijevanja vina za sve ove skupine polifenola tj. potvrđen je značajan utjecaj tretmana defolijacije na stabilnost ovih skupina polifenola u vinima.

4.4.2.1. Utjecaj defolijacije na sadržaj ukupnih fenolnih kiselina i ukupnih proantocijanidina

'Merlot'

Provedba defolijacije u obje godine istraživanja u vinu sorte 'Merlot' utjecala je na sadržaj ukupnih fenolnih kiselina u odnosu na kontrolni tretman (Tablica 22), pri čemu su zabilježene razlike između godina. U 2015. godini najveći sadržaji ukupnih fenolnih kiselina izmjereni su u tretmanu defolijacije u šari, dok je u 2016. godini najveći sadržaj zabilježen u tretmanu defolijacije u cvatnji. Tijekom dozrijevanja vina došlo je do porasta sadržaja ukupnih fenolnih kiselina u većini tretmana, dok u 2015. godini u tretmanu defolijacije u šari nije zabilježen porast sadržaja u odnosu na početne vrijednosti.

U obje istraživane godine, nakon dvanaest mjeseci dozrijevanja, u vinima iz tretmana defolijacije u cvatnji izmjeren je veći sadržaj ukupnih fenolnih kiselina u odnosu na kontrolni tretman, što upućuje na razlike u promjenama sadržaja tijekom dozrijevanja među tretmanima. Provedbom defolijacije u šari u obje godine istraživanja zabilježen je veći početni sadržaj ukupnih proantocijanidina u vinima u odnosu na ostale tretmane. Tijekom dozrijevanja vina sadržaj ukupnih proantocijanidina smanjivao se u

svim tretmanima, pri čemu se stupanj smanjenja kretao između 35 i 42 %, ovisno o godini i tretmanu. Iako je nakon dvanaest mjeseci dozrijevanja najveći sadržaj ukupnih proantocijanidina izmjeren u vinima iz tretmana defolijacije u šari, među tretmanima nisu utvrđene razlike koje bi upućivale na jednoznačan utjecaj defolijacije na stabilnost ukupnih proantocijanidina tijekom dozrijevanja vina.

Promjene sadržaja ukupnih fenolnih kiselina i ukupnih proantocijanidina tijekom dozrijevanja vina sorte 'Merlot' razlikovale su se među kombinacijama tretmana defolijacije i vremena dozrijevanja, što je potvrđeno statistički značajnim razlikama utvrđenima na toj razini.

'Syrah'

Provedba defolijacije u obje godine istraživanja u vinu sorte 'Syrah' utjecala je na sadržaj ukupnih fenolnih kiselina u odnosu na kontrolni tretman (Tablica 22). U obje godine veći sadržaji ukupnih fenolnih kiselina zabilježeni su u tretmanu defolijacije u cvatnji. Tijekom dozrijevanja vina došlo je do porasta sadržaja ukupnih fenolnih kiselina u svim tretmanima.

Razlike u promjenama sadržaja ukupnih fenolnih kiselina tijekom dozrijevanja vina među tretmanima uočene su u 2016. godini, kada je nakon dvanaest mjeseci dozrijevanja u vinu iz tretmana defolijacije u cvatnji izmjeren najveći sadržaj ukupnih fenolnih kiselina.

U pogledu ukupnih proantocijanidina, provedbom defolijacije u šari u 2015. godini zabilježeno je povećanje početnog sadržaja u vinima, dok u 2016. godini takav učinak nije utvrđen te su najveći sadržaji ukupnih proantocijanidina izmjereni u kontrolnom tretmanu. Tijekom dozrijevanja vina sadržaj ukupnih proantocijanidina smanjivao se u svim tretmanima, pri čemu se opseg promjene kretao između 19 i 43 %, ovisno o godini i tretmanu. Razlike u promjenama sadržaja tijekom dozrijevanja uočene su u 2016. godini, kada je u tretmanu defolijacije u cvatnji zabilježen manji opseg smanjenja sadržaja ukupnih proantocijanidina u odnosu na kontrolni tretman.

Promjene sadržaja ukupnih fenolnih kiselina i ukupnih proantocijanidina tijekom dozrijevanja vina sorte 'Syrah' razlikovale su se među kombinacijama tretmana

defolijacije i vremena dozrijevanja, što je potvrđeno statistički značajnim razlikama utvrđenima na toj razini.

'Cabernet Sauvignon'

Provedba defolijacije u obje godine istraživanja u vinu sorte 'Cabernet Sauvignon' utjecala je na sadržaj ukupnih fenolnih kiselina u odnosu na kontrolni tretman (Tablica 22), pri čemu su zabilježene razlike između godina. U 2015. godini veći sadržaji ukupnih fenolnih kiselina izmjereni su u tretmanu defolijacije u cvatnji, dok je u 2016. godini veći sadržaj zabilježen u tretmanu defolijacije u šari. Tijekom dozrijevanja vina u 2015. godini zabilježen je porast sadržaja ukupnih fenolnih kiselina, dok je u 2016. godini uočen suprotan trend, s manjim vrijednostima nakon dvanaest mjeseci dozrijevanja u odnosu na početne.

U obje istraživane godine uočene su razlike među tretmanima u promjenama sadržaja ukupnih fenolnih kiselina tijekom dozrijevanja vina. U 2015. godini veći sadržaji nakon dvanaest mjeseci dozrijevanja izmjereni su u vinima iz tretmana defolijacije u šari, dok je u 2016. godini najveći sadržaj zabilježen u tretmanu defolijacije u cvatnji.

U pogledu ukupnih proantocijanidina, u 2016. godini provedba defolijacije u cvatnji rezultirala je većim početnim sadržajima u vinima, dok u 2015. godini takav učinak nije zabilježen te su najviše vrijednosti izmjerene u kontrolnom tretmanu. Tijekom dozrijevanja vina sadržaj ukupnih proantocijanidina smanjivao se u većini tretmana u rasponu od 4 do 31 %, dok u kontrolnom vinu iz 2016. godine nije zabilježen pad sadržaja u odnosu na početne vrijednosti. Razlike u promjenama sadržaja ukupnih proantocijanidina tijekom dozrijevanja uočene su u 2015. godini, pri čemu je u tretmanu defolijacije u cvatnji zabilježen najmanji opseg smanjenja sadržaja nakon dvanaest mjeseci dozrijevanja.

Promjene sadržaja ukupnih fenolnih kiselina i ukupnih proantocijanidina tijekom dozrijevanja vina sorte 'Cabernet Sauvignon' razlikovale su se među kombinacijama tretmana defolijacije i vremena dozrijevanja, što je potvrđeno statistički značajnim razlikama utvrđenima na toj razini.

Tablica 22: Utjecaj tretmana defolijacije na sadržaj ukupnih fenolnih kiselina i ukupnih proantocijanidina u vinima sorata 'Merlot', 'Syrah' i 'Cabernet Sauvignon' neposredno nakon vinifikacije, te nakon dozrijevanja 6 mjeseci i 12 mjeseci u 2015. i 2016. godini.

Godina	Tretman (T) ^B	Vrijeme dozrijevanja (mjeseci, V) ^C	Ukupne fenolne kiseline (mg/L)			Ukupni procijanidini (mg/L)			
			Merlot	Syrah	Cabernet Sauvignon	Merlot	Syrah	Cabernet Sauvignon	
2015	K	0	52,48±0,22 ^d	83,36±0,05 ^g	43,17±0,21 ^f	93,06±0,38 ^c	92,55±0,14 ^b	59,97±0,26 ^a	
		6	50,63±0,13 ^e	102,54±0,05 ^b	48,59±0,14 ^c	89,18±0,45 ^d	87,37±0,37 ^d	57,88±0,09 ^b	
		12	51,36±0,10 ^e	106,70±0,11 ^a	50,34±0,10 ^b	67,30±0,31 ^g	74,98±0,44 ^g	45,49±0,19 ^{de}	
	DE-CV	0	59,91±0,14 ^c	87,38±0,21 ^e	41,14±0,22 ^g	100,13±0,56 ^b	88,64±0,27 ^c	46,14±0,25 ^d	
		6	60,41±0,56 ^c	95,74±0,18 ^d	44,74±0,78 ^e	77,29±0,59 ^f	83,09±0,49 ^f	43,77±0,35 ^f	
		12	63,54±0,45 ^a	96,94±0,07 ^c	45,30±0,14 ^e	65,46±0,45 ^h	66,50±0,23 ^h	44,22±0,27 ^f	
	DE-Š	0	63,27±0,43 ^{ab}	82,95±0,11 ^g	47,00±0,39 ^d	112,67±0,26 ^a	93,64±0,03 ^a	56,16±0,35 ^c	
		6	62,89±0,63 ^{ab}	82,06±0,08 ^h	56,11±0,26 ^a	92,36±0,39 ^c	84,06±0,15 ^e	45,08±0,35 ^e	
		12	62,26±0,03 ^b	84,80±0,37 ^f	57,13±0,42 ^a	81,34±0,57 ^e	54,32±0,17 ⁱ	40,14±0,20 ^g	
	ANOVA TxV ^A			**	***	***	***	***	***
	2016	K	0	60,50±0,22 ^g	79,89±0,09 ^g	80,98±0,69 ^c	110,71±0,59 ^c	98,17±0,06 ^a	34,71±0,29 ^g
			6	60,91±0,17 ^g	83,95±0,06 ^f	27,33±0,26 ^g	99,60±0,34 ^d	70,10±0,21 ^b	40,72±0,34 ^f
12			74,99±0,34 ^f	108,29±0,34 ^c	60,28±0,27 ^d	67,21±0,34 ^h	56,69±0,49 ^e	41,83±0,11 ^e	
DE-CV		0	86,06±0,34 ^c	104,92±0,18 ^d	93,66±0,36 ^a	118,89±0,06 ^b	66,18±0,37 ^c	73,70±0,12 ^a	
		6	84,09±0,54 ^d	110,49±0,12 ^b	38,94±0,18 ^e	92,80±0,16 ^e	58,76±0,86 ^d	60,65±0,38 ^b	
		12	105,87±0,46 ^a	136,79±0,81 ^a	89,93±0,41 ^b	69,01±0,36 ^g	45,50±0,20 ^g	50,93±0,22 ^c	
DE-Š		0	74,75±0,39 ^f	78,67±0,64 ^h	81,45±0,09 ^c	124,04±0,14 ^a	65,81±0,18 ^e	46,38±0,81 ^d	
		6	80,78±0,62 ^e	86,06±0,48 ^e	33,16±0,44 ^f	92,07±0,15 ^e	49,62±0,78 ^f	42,92±0,33 ^e	
		12	94,30±0,79 ^b	108,85±0,39 ^c	22,83±0,24 ^h	73,83±0,51 ^f	41,95±0,22 ^h	32,02±0,38 ^h	
ANOVA TxV ^A			***	***	***	***	***	***	

K- kontrola; DE-CV- djelomična defolijacija provedena u cvatnji; DE-Š- djelomična defolijacija provedena u šari. *Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). n.d.-nije detektirano. ^ATxV signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i vremena dozrijevanja temeljem dvosmjerne analize varijance- n.s. interakcija nije signifikantna. *,** i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca i godine su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora.

4.4.2.2. Utjecaj defolijacije na sadržaj ukupnih flavan-3-ola i ukupnih flavonola

'Merlot'

Provedba defolijacije u šari u obje godine istraživanja u vinu sorte 'Merlot' rezultirala je većim početnim sadržajem ukupnih flavan-3-ola u odnosu na kontrolni tretman (Tablica 23). Tijekom dozrijevanja vina zabilježeni su različiti trendovi promjene sadržaja ukupnih flavan-3-ola ovisno o godini istraživanja. U 2015. godini tijekom dozrijevanja došlo je do smanjenja sadržaja ukupnih flavan-3-ola, dok je u 2016. godini zabilježen porast sadržaja u svim tretmanima. Razlike u promjenama sadržaja tijekom dozrijevanja upućuju na ovisnost o kombinaciji tretmana defolijacije i vremena dozrijevanja, pri čemu je u 2015. godini izraženiji učinak zabilježen u tretmanu defolijacije u cvatnji, a u 2016. godini u tretmanu defolijacije u šari.

Provedbom defolijacije u cvatnji u obje istraživane godine zabilježen je veći početni sadržaj ukupnih flavonola u vinima u odnosu na kontrolni tretman. Tijekom dozrijevanja vina u 2015. godini zabilježeno je smanjenje sadržaja ukupnih flavonola, pri čemu se opseg promjene kretao između 57 i 68 %, dok je u 2016. godini uočen drukčiji obrazac promjena sadržaja tijekom dozrijevanja vina. Na temelju prikazanih podataka nisu utvrđene razlike koje bi upućivale na jednoznačan utjecaj provedbe defolijacije na promjene sadržaja ukupnih flavonola u vinima tijekom starenja.

'Syrah'

Provedba defolijacije u obje godine istraživanja u vinu sorte 'Syrah' utjecala je na sadržaj ukupnih flavan-3-ola, pri čemu su veći početni sadržaji u obje godine zabilježeni u tretmanu defolijacije u šari (Tablica 23). Tijekom dozrijevanja vina uočeni su različiti trendovi promjene sadržaja ukupnih flavan-3-ola između godina. U 2015. godini tijekom dozrijevanja zabilježen je porast sadržaja ukupnih flavan-3-ola, dok je u 2016. godini zabilježeno smanjenje sadržaja, s opsegom promjene u rasponu od 19 do 33 %, ovisno o tretmanu. Na temelju prikazanih rezultata nije utvrđen jednoznačan utjecaj provedenih tretmana defolijacije na promjene sadržaja ukupnih flavan-3-ola tijekom dozrijevanja vina.

Slično kao i kod sorte 'Merlot', provedbom defolijacije u cvatnji u obje istraživane godine u vinima sorte 'Syrah' zabilježen je viši početni sadržaj ukupnih flavonola. Tijekom dozrijevanja vina u obje godine došlo je do smanjenja sadržaja ukupnih flavonola, pri čemu se opseg promjene kretao u rasponu od 10 do 72 %, ovisno o tretmanu i godini istraživanja. Provedba defolijacije nije rezultirala razlikama koje bi upućivale na jednoznačan utjecaj na promjene sadržaja ukupnih flavonola u vinima nakon dvanaest mjeseci dozrijevanja.

'Cabernet Sauvignon'

Za razliku od prethodne dvije sorte, provedba defolijacije u vinu sorte 'Cabernet Sauvignon' u 2015. godini nije rezultirala povećanjem sadržaja ukupnih flavan-3-ola u odnosu na kontrolni tretman. U 2016. godini u vinu iz tretmana defolijacije u cvatnji zabilježen je veći početni sadržaj ukupnih flavan-3-ola u usporedbi s kontrolnim tretmanom (Tablica 23). Tijekom dozrijevanja vina u 2016. godini uočen je porast sadržaja ukupnih flavan-3-ola, dok u 2015. godini nije zabilježen jednoznačan trend promjene sadržaja tijekom starenja. Razlike u promjenama sadržaja tijekom dozrijevanja među tretmanima uočene su u 2015. godini, kada je u tretmanu defolijacije u cvatnji zabilježen manji opseg smanjenja sadržaja ukupnih flavan-3-ola u odnosu na ostale tretmane, dok u 2016. godini takav učinak nije utvrđen.

Provedba defolijacije u cvatnji u 2016. godini rezultirala je većim početnim sadržajem ukupnih flavonola u vinu sorte 'Cabernet Sauvignon', dok u 2015. godini takav učinak nije zabilježen. Tijekom dozrijevanja vina u obje godine došlo je do smanjenja sadržaja ukupnih flavonola, pri čemu se opseg promjene kretao u rasponu od 10 do 43 %. Razlike u promjenama sadržaja ukupnih flavonola tijekom dozrijevanja uočene su u 2016. godini, kada je u tretmanu defolijacije u cvatnji zabilježen najmanji opseg smanjenja sadržaja nakon dvanaest mjeseci dozrijevanja, dok u 2015. godini takav učinak nije utvrđen.

Tablica 23: Utjecaj tretmana defolijacije na sadržaj ukupnih flavan-3-ola i ukupnih flavonola u vinima sorata 'Merlot', 'Syrah' i 'Cabernet Sauvignon' neposredno nakon vinifikacije, te nakon dozrijevanja 6 mjeseci i 12 mjeseci u 2015. i 2016. godini.

Godina	Tretman (T) ^B	Vrijeme dozrijevanja (mjeseci, V) ^C	Ukupni flavan-3-oli (mg/L)			Ukupni flavonoli (mg/L)			
			Merlot	Syrah	Cabernet Sauvignon	Merlot	Syrah	Cabernet Sauvignon	
2015	K	0	22,04±0,05 ^d	56,78±0,24 ^f	21,14±0,11 ^e	37,29±0,35 ^c	91,15±0,55 ^b	35,81±0,32 ^a	
		6	20,74±0,19 ^e	58,73±0,07 ^e	17,94±0,06 ^{de}	28,37±0,33 ^e	75,57±0,46 ^d	26,65±0,22 ^d	
		12	17,31±0,22 ^h	51,05±0,47 ^g	18,61±0,51 ^d	16,28±0,41 ^g	42,76±0,10 ^g	13,80±0,21 ^g	
	DE-CV	0	26,87±0,37 ^b	61,88±0,58 ^d	20,41±0,22 ^c	58,38±0,52 ^a	112,84±0,25 ^a	33,14±0,10 ^b	
		6	22,02±0,04 ^d	59,27±0,57 ^e	20,33±0,22 ^c	32,70±0,20 ^d	83,89±0,41 ^c	23,01±0,13 ^f	
		12	18,06±0,15 ^g	71,03±0,55 ^b	22,57±0,30 ^c	19,26±0,46 ^f	52,04±0,65 ^f	12,37±0,77 ^h	
	DE-Š	0	28,84±0,08 ^a	64,56±0,44 ^c	17,35±0,14 ^{bc}	49,39±0,17 ^b	111,74±0,66 ^a	29,17±0,43 ^c	
		6	23,69±0,15 ^c	58,47±0,17 ^e	20,13±0,15 ^b	32,89±0,58 ^d	62,03±0,41 ^e	25,09±0,29 ^e	
		12	20,00±0,13 ^f	78,14±0,81 ^a	20,54±0,20 ^a	18,34±0,33 ^f	31,89±0,09 ^h	11,48±0,43 ^h	
	ANOVA TxV ^A			***	**	**	***	***	***
	2016	Kontrola	0	17,22±0,15 ^h	30,48±0,08 ^c	14,67±0,23 ^h	15,34±0,25 ^f	41,44±0,39 ^e	13,28±0,17 ^f
			6	29,04±0,41 ^c	27,31±0,19 ^d	54,46±0,23 ^c	20,14±0,03 ^e	41,57±0,13 ^e	11,44±0,05 ^g
12			32,58±0,24 ^b	24,57±0,18 ^e	65,24±0,11 ^a	21,47±0,07 ^d	37,45±0,50 ^f	9,19±0,24 ^h	
DE-CV		0	18,94±0,05 ^g	31,80±0,36 ^b	18,81±0,28 ^f	31,92±0,16 ^a	81,91±0,46 ^a	30,13±0,10 ^a	
		6	28,97±0,02 ^c	29,96±0,48 ^c	55,36±0,65 ^c	30,24±0,12 ^b	60,68±0,11 ^b	20,36±0,27 ^d	
		12	35,97±0,22 ^a	25,41±0,11 ^e	62,83±0,44 ^b	30,80±0,34 ^b	49,89±0,29 ^d	27,40±0,41 ^b	
DE-Š		0	22,15±0,17 ^f	37,35±0,36 ^a	17,69±0,31 ^g	22,31±0,77 ^{cd}	61,33±0,17 ^b	24,25±0,32 ^c	
		6	24,80±0,48 ^e	32,10±0,81 ^b	46,46±0,43 ^e	21,35±0,12 ^d	53,05±0,40 ^c	15,39±0,37 ^e	
		12	26,87±0,64 ^d	24,99±0,29 ^e	48,14±0,22 ^d	22,67±0,64 ^c	41,72±0,09 ^e	14,02±0,18 ^f	
ANOVA TxV ^A			***	**	***	**	**	***	

K- kontrola; DE-CV- djelomična defolijacija provedena u cvatnji; DE-Š- djelomična defolijacija provedena u šari. *Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost±standardna devijacija (n=3). n.d.-nije detektirano. ^ATxV signifikantnost interakcije tretmana defolijacije i vremena dozrijevanja temeljem dvosmjernje analize varijance- n.s. interakcija nije signifikantna. *, ** i *** označavaju statistički značajnu razliku interakcije sa p<0,05, <0,01 i <0,0001. Srednje vrijednosti označene različitim slovima unutar stupca i godine su statistički značajno različite uz p<0,05 korištenjem Tukey HSD testa na razini interakcije glavnih faktora.

5. RASPRAVA

5.1. Utjecaj meteoroloških prilika na provedbu defolijacije i početak berbe

Za uzgoj vinove loze najvažniji klimatski čimbenici su temperatura, vlaga i svjetlost. Na osnovu izmjerenih srednjih mjesečnih temperaturnih vrijednosti 2015. godina je bila toplija za 0,2 °C u odnosu na 2016. godinu. Ta razlika je bila i nešto veća ako se usporedi samo vegetacijski period od travnja do rujna i iznosila je 0,7 °C. Za pravilan izbor sorte u određenom području uzgoja vinove loze, važna je suma temperatura u vegetacijskom razdoblju, od travnja do rujna. Za početak vegetacije potrebna je minimalna srednja dnevna temperatura od 10° C i ta temperatura se smatra biološkom nulom te se na osnovu nje računaju sume temperatura u vegetaciji (Maletić i sur., 2008). U obje istraživane godine suma srednjih vegetacijskih temperatura je bila povoljna za rast i razvoj vinove loze, ali i za dozrijevanje grožđa. Kako bi grožđe doseglo svoju punu zrelost i završilo svoj vegetacijski ciklus potrebna je određena suma efektivnih temperatura (Maletić i sur., 2008). Efektivna temperatura je zbroj srednjih dnevnih temperatura viših od 10 °C umanjenih za vrijednost biološke nule (10 °C). Suma efektivnih temperatura naziva se još i suma temperatura po Winkleru. Prema sumi efektivnih temperatura u vegetacijskom periodu sva vinogradarska područja su podijeljena u 5 klimatskih zona (Winkler,1974). Prema izmjerenim sumama efektivnih temperatura godine su se međusobno razlikovale te je 2015. po sumi efektivnih temperatura primjerenija zoni C3 (ukupno 2083 °C), a 2016. godina zoni C2 (ukupno 1947 °C).

Osim temperature, vrlo značajan čimbenik uzgoja vinove loze je količina i raspored oborina tijekom vegetacije. Iako se vinova loza smatra biljkom koja dobro podnosi sušu, za normalan rast i razvoj vrlo je važna opskrbljenost vodom iz tla, te vlagom iz zraka. U različitim fazama razvoja loza ima različite potrebe za vodom. Najviše vlage loza treba na početku vegetacije kada je najintenzivniji rast mladica, te u kasnijoj fazi za rast bobica. Višak vlage može nepovoljno utjecati na cvatnju i oplodnju jer dolazi do slabijeg oprašivanja. Višak oborina nije poželjan ni u fazi dozrijevanja grožđa, posebno ako se velike količine oborina dogode nakon dugotrajne suše, uslijed čega može doći do oštećenja i pucanja bobice (Maletić i sur., 2008). Najpovoljnija količina oborina za uzgoj vinove loze je između 600 i 800 mm, a minimalna količina bi trebala biti od 300

do 350 mm (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008). Vrlo je važan raspored oborina tijekom godine. Upravo je 2016. godinu karakterizirao nepovoljan raspored oborina jer je u fazi intenzivnog razvoja bobice bio izrazito sušan period gotovo bez kiše. Upravo u toj fazi biljci je potrebna optimalna vlažnost kako bi se normalno odvijali svi životni procesi (Maletić i sur., 2008) što je u ovom slučaju izostalo i utjecalo na brže dozrijevanje grožđa, pa je berba 2016. godine obavljena kod sorte 'Merlot' čak nekoliko dana ranije nego 2015. godine, bez obzira što su fenofaze cvatnje i šare bile kasnije 11 dana u odnosu na 2015. godinu.

Insolacija (sati sijanja sunca) je također jedan od čimbenika koji bitno utječu na rast i razvoj vinove loze. Najsunčaniji mjesec u obje godine provođenja pokusa je bio srpanj, što je pozitivno utjecalo na intenzivan rast vinove loze. Količina sunčanih sati je vrlo važna u fazi diferencijacije rodnih pupova i dozrijevanja grožđa. Količina svjetla izražava se sumom sati sijanja sunca u periodu vegetacije. Da bi vinova loza uspješno rasla i razvijala se, potrebno je od 1500 do 2500 sati sijanja sunca tijekom vegetacije. Osim sume sijanja sunca važan je i broj vedrih dana, optimalno je oko 150 do 170 vedrih i mješovitih dana (Mirošević, 1993). Broj sati sijanja sunca najvažniji je u fazi dozrijevanja grožđa jer utječe na pojačano nakupljanje šećera u bobici, ali i na bolju obojenost bobice (Maletić i sur., 2008).

Vremenski uvjeti utječu i na početak, ali i na trajanje pojedinih fenofaza razvoja vinove loze pa su posljedično tome utjecali i na provođenje defolijacije. Niže srednje dnevne temperature tijekom svibnja i lipnja 2016. godine, koje su u prosjeku bile za 2 ° C niže nego u 2015. utjecale su na nešto kasniju cvatnju. Iz tog razloga je defolijacija u cvatnji provedena 11 dana kasnije u 2016. u odnosu na 2015. godinu. Kako je i u srpnju 2016. nastavljen trend nešto nižih temperatura i fenofaza šare je počela nešto kasnije u odnosu na 2015. godinu. Iz tog razloga je defolijacija u šari na sortama 'Merlot' i 'Syrah' obavljena 10 dana kasnije u 2016. godini. Defolijacija na sorti 'Cabernet Sauvignon' je u obje godine obavljena u isto vrijeme jer je sušno razdoblje tijekom srpnja 2016. vjerojatno utjecalo na brže dozrijevanje ove kasnije sorte.

5.2. Utjecaj djelomične defolijacije na osnovne fizikalno-kemijske parametre u grožđu tijekom dozrijevanja

Sadržaj osnovnih fizikalno-kemijskih parametara grožđa (šećer, ukupna kiselost i pH) značajno se razlikovao između dviju vegetacijskih godina, neovisno o provedbi djelomične defolijacije, što je u skladu s ranijim istraživanjima koja ističu dominantan utjecaj klimatskih uvjeta na proces dozrijevanja grožđa (Osrečak i sur., 2016; Mosetti i sur., 2016). Dvosmjerna analiza varijance pokazala je značajnu interakciju između tretmana defolijacije i termina uzorkovanja za većinu analiziranih parametara, što upućuje na to da se učinak defolijacije na osnovne fizikalno-kemijske značajke grožđa mijenja tijekom dozrijevanja.

U obje istraživane godine zabilježene su razlike u sadržaju šećera u fazi pune zrelosti. Veći sadržaj šećera u grožđu sorti 'Merlot' i 'Cabernet Sauvignon' utvrđen je u 2016. godini, dok je kod sorte 'Syrah' veći sadržaj zabilježen u 2015. godini, što potvrđuje izraženu sortnu specifičnost odgovora na međugodišnje klimatske razlike. Najveći sadržaj šećera izmjeren je kod sorte 'Syrah' u 2015. godini, odnosno kod sorte 'Cabernet Sauvignon' u 2016. godini.

Značajna interakcija tretmana defolijacije i termina uzorkovanja ukazuje na to da defolijacija prvenstveno utječe na dinamiku nakupljanja šećera tijekom dozrijevanja grožđa, dok se razlike među tretmanima prema punoj zrelosti postupno smanjuju i u većini slučajeva nisu statistički značajne. Takav obrazac bio je izraženiji u 2015. godini, dok je u 2016. godini dinamika nakupljanja šećera bila ujednačenija među tretmanima, što se može povezati s nepovoljnijim klimatskim uvjetima tijekom vegetacije. U takvim uvjetima provedba defolijacije imala je izraženiji učinak na mikroklimu zone grožđa, osobito kroz povećanje temperature i insolacije, čime se moglo potaknuti učinkovitije dozrijevanje grožđa (Bubola i sur., 2019; Song i sur., 2015).

Rezultati upućuju na to da je provedba defolijacije, osobito u cvatnji, imala veći učinak na povećanje sadržaja šećera u grožđu kod svih triju istraživanih sorata, dok je kod sorte 'Syrah' sličan učinak zabilježen i pri defolijaciji u šari. Međutim, ti su se učinci prvenstveno očitovali u ranijim fazama dozrijevanja, dok su u fazi pune zrelosti razlike među tretmanima bile znatno manje ili nisu bile statistički značajne.

U pogledu ukupne kiselosti, utjecaj defolijacije bio je slabije izražen i u velikoj mjeri ovisan o godini istraživanja. U 2015. godini razlike među tretmanima uočene su uglavnom u početnim terminima uzorkovanja, dok se prema punoj zrelosti vrijednosti ukupne kiselosti izjednačavaju. U 2016. godini zabilježene su veće razlike u ranim fazama dozrijevanja, no konačne vrijednosti u punoj zrelosti nisu se značajno razlikovale među tretmanima, što upućuje na ograničen učinak defolijacije na ovaj parametar.

Vrijeme provedbe djelomične defolijacije nije imalo značajan utjecaj na pH vrijednost grožđa u fazi pune zrelosti. Međugodišnje razlike u pH vrijednosti mogu se povezati s razlikama u temperaturi tijekom razdoblja dozrijevanja, pri čemu je u toplijoj 2015. godini zabilježena niža ukupna kiselost i posljedično viši pH u odnosu na 2016. godinu. Više temperature tijekom kolovoza, ključnog razdoblja za dozrijevanje grožđa, utječu na promjene u metabolizmu organskih kiselina, što se odražava na ukupnu kiselost i pH vrijednost grožđa (Rienth i sur., 2016).

Dobiveni rezultati potvrđuju da djelomična defolijacija ima izraženiji učinak na dinamiku promjena sadržaja šećera tijekom dozrijevanja grožđa, dok je njezin utjecaj na ukupnu kiselost i pH ograničen te snažno uvjetovan klimatskim prilikama pojedine vegetacijske godine. Stoga se učinci defolijacije na osnovne fizikalno-kemijske parametre grožđa trebaju tumačiti u kontekstu interakcije tretmana defolijacije, termina uzorkovanja i klimatskih uvjeta.

5.3. Utjecaj djelomične defolijacije na sadržaj antocijana u grožđu tijekom dozrijevanja te njihov sadržaj u vinu

Antocijani su pigmenti topivi u vodi koji se nalaze u vakuolama stanica pokožice bobice te su odgovorni za boju pokožice grožđa, ali i za intenzitet i stabilnost boje crnih vina (He i sur., 2012). Osim svoje ključne uloge u formiranju boje, antocijani imaju i važnu fiziološku funkciju jer sudjeluju u zaštiti biljnog tkiva od pretjeranog sunčevog i UV zračenja, uklanjanju slobodnih radikala, povećanju antioksidacijskog kapaciteta te obrani od patogena (He i sur., 2010). Njihova biosinteza i nakupljanje snažno su regulirane okolišnim uvjetima, pri čemu su temperaturni režim i mikroklima u zoni grožđa među najvažnijim čimbenicima. Brojna istraživanja potvrđuju da su antocijani osobito osjetljivi na ekstremno visoke dnevne i noćne temperature, koje mogu inhibirati

njihovu sintezu, ubrzati degradaciju ili promijeniti omjer pojedinačnih spojeva (Bergqvist i sur., 2001; Spayd i sur., 2002; Tarara i sur., 2008).

U ovom istraživanju antocijani su bili najzastupljenija skupina identificiranih polifenolnih spojeva u grožđu i vinima sorata 'Syrah' i 'Cabernet Sauvignon', dok su kod sorte 'Merlot' prevladavali proantocijanidini, što potvrđuje izražene sorte razlike u fenolnom profilu. Nakupljanje antocijana u bobici započinje tijekom fenofaze šare, nakon čega njihov sadržaj raste tijekom dozrijevanja grožđa, dok u najkasnijim fazama razvoja može doći do stagnacije ili blagog smanjenja ukupne koncentracije (Kennedy i sur., 2002; Owens, 2015). Takav obrazac jasno je potvrđen i u ovom istraživanju, osobito u toplijoj i sušnjoj 2015. godini, kada su najveći sadržaji ukupnih antocijana kod 'Merlota' i 'Cabernet Sauvignona' utvrđeni u predzadnjim terminima uzorkovanja, dok je u završnoj fazi dozrijevanja zabilježen pad ili stagnacija njihove koncentracije.

Klimatske prilike tijekom 2015. godine, obilježene razdobljima vrlo visokih dnevnih temperatura (tri dana sa srednjom dnevnom temperaturom iznad 30,6 °C u srpnju), upućuju na izražen toplinski stres u zoni grožđa. Takvi uvjeti mogu ograničiti biosintezu antocijana te potaknuti razgradnju već nakupljenih spojeva, što se smatra dijelom fiziološkog odgovora biljke na stres (Mori i sur., 2005; Spayd i sur., 2002; Chorti i sur., 2010; Pastore i sur., 2017). Dobiveni rezultati dodatno potvrđuju da dinamika nakupljanja antocijana nije nužno linearna te da u kasnijim fazama dozrijevanja može doći do promjene smjera procesa, osobito u uvjetima povišenih temperatura.

Sadržaj ukupnih antocijana u grožđu i vinu u ovom istraživanju značajno se razlikovao ovisno o sorti, godini istraživanja i terminu provedbe djelomične defolijacije, što je u skladu s ranijim istraživanjima na sortama 'Merlot', 'Syrah', 'Cabernet Sauvignon' i 'Marselan' (Shi i sur., 2016). Dok Stavridou i sur. (2016) navode najveći sadržaj ukupnih antocijana kod sorte 'Cabernet Sauvignon', u ovom istraživanju najveći sadržaj ukupnih antocijana u vinu izmjeren je kod sorte 'Syrah'. Takve razlike dodatno potvrđuju da je sadržaj antocijana u velikoj mjeri sortna karakteristika (Pastore i sur., 2013), ali i da njihov konačan sadržaj snažno moduliraju agroekološki čimbenici poput klimatskih prilika pojedine godine, tla, vodnog režima, prinosa te primijenjenih agrotehničkih zahvata (He i sur., 2010; Harner i sur., 2024).

Zanimljivo je da su u ovom istraživanju veći sadržaji ukupnih antocijana u grožđu i vinima zabilježeni u toplijoj i sušnijoj 2015. godini, što je djelomično suprotno navodima prema kojima povećano sunčevo zračenje i visoke temperature u zoni grožđa mogu rezultirati smanjenjem sadržaja antocijana u pokožici bobice (Tarara i sur., 2008; Anić i sur., 2021). Ovi rezultati upućuju na složenu interakciju između temperature, sunčeva zračenja, sortnih svojstava i vremena izlaganja grožđa, pri čemu umjereno povećanje insolacije može imati pozitivan učinak, dok ekstremni uvjeti dovode do inhibicije sinteze ili degradacije antocijana.

Općenito, provedeni tretmani djelomične defolijacije u ovom istraživanju imali su pozitivan učinak na sadržaj ukupnih antocijana u vinima, što je u skladu s brojnim istraživanjima provedenima na različitim sortama vinove loze (Anić i sur., 2021; Tarricone i sur., 2020; Yue i sur., 2020). Povećani sadržaj antocijana u vinima iz defoliranih varijanti upućuje na to da promjene u fenolnom profilu grožđa uzrokovane defolijacijom nisu samo prolazne, već se u značajnoj mjeri prenose i u vino. Sličan zaključak navode Tarricone i sur. (2020) za sortu 'Nebbiolo', gdje su razlike u fenolnom profilu varirale ovisno o godini, ali su ukupni polifenoli i antocijani bili veći u varijantama s provedenom defolijacijom u odnosu na kontrolu.

U literaturi postoje različiti navodi o učinkovitosti defolijacije ovisno o fenofazi u kojoj je zahvat proveden. Prema nekim autorima, ranija defolijacija u cvatnji ima izraženiji i dugotrajniji učinak na nakupljanje antocijana u odnosu na defolijaciju u šari (Pastore i sur., 2013; Bubola i sur., 2017), što je usporedivo s rezultatima dobivenima za vina 'Merlot' (2015.) i 'Cabernet Sauvignon' (2016.) u ovom istraživanju. Pozitivan učinak rane defolijacije povezan s povećanom izloženošću UV zračenju zabilježen je i kod sorte 'Merlot' (Anić i sur., 2021), pri čemu se naglašava važnost prilagodbe intenziteta i vremena zahvata klimatskim uvjetima.

Međutim, u kontekstu sve toplijih vegetacijskih sezona, kasna defolijacija u šari može gubiti prednosti u odnosu na ranu defolijaciju, osobito ako dovodi do prekomjernog zagrijavanja bobica. Lemut i sur. (2013) navode više sadržaje ukupnih antocijana u vinu 'Pinot crni' pri ranoj defolijaciji, što je suprotno rezultatima dobivenima za 'Syrah' u ovom istraživanju, gdje je učinak defolijacije bio snažno ovisan o godini i sortnim svojstvima. Ovi rezultati dodatno potvrđuju da optimalan termin defolijacije nije

univerzalan, već mora biti prilagođen sorti, klimatskim uvjetima godine i željenom stilu vina.

5.4. Utjecaj djelomične defolijacije na sadržaj flavonola i ostalih fenola u grožđu tijekom dozrijevanja i njihov sadržaj u vinu

Flavonoli su skupina fenolnih spojeva prisutnih prvenstveno u pokožici bobice grožđa, gdje imaju važnu ulogu u fotoprotekciji biljnog tkiva, osobito kao UV-B filtri, te sudjeluju u antioksidacijskim i obrambenim mehanizmima biljke (He i sur., 2010; He i sur., 2012). Iako nemaju izravan doprinos boji vina poput antocijana, flavonoli značajno utječu na vizualna i senzorna svojstva vina kroz kopigmentacijske interakcije, a njihov sadržaj i sastav u grožđu uvelike ovise o mikroklimatskim uvjetima u zoni grožđa. Biosinteza i nakupljanje flavonola snažno su regulirane svjetlosnim uvjetima, pri čemu povećana izloženost sunčevom i UV zračenju potiče njihovu sintezu, dok ekstremno visoke temperature mogu ograničiti njihovo nakupljanje ili promijeniti relativne udjele pojedinačnih spojeva (Bergqvist i sur., 2001; Spayd i sur., 2002; Tarara i sur., 2008).

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da se sadržaj flavonola u grožđu tijekom dozrijevanja značajno razlikovao ovisno o sorti, godini istraživanja i primijenjenom tretmanu djelomične defolijacije, što je u skladu s općim spoznajama o izraženoj sortnoj i okolišnoj uvjetovanosti fenolnog profila grožđa (He i sur., 2010). Tijekom dozrijevanja grožđa uočena je jasna dinamika nakupljanja flavonola, pri čemu se njihov sadržaj u većini slučajeva povećavao od šare prema kasnijim fazama dozrijevanja, s izraženijim razlikama između tretmana defolijacije i kontrole u srednjim i kasnijim terminima uzorkovanja. Takav obrazac potvrđuje da flavonoli, za razliku od antocijana, pokazuju veću osjetljivost na promjene u svjetlosnom režimu nego na same faze fiziološkog sazrijevanja bobice (Kennedy i sur., 2002; Owens, 2015).

Klimatske prilike tijekom 2015. godine, obilježene višim temperaturama i izraženijim sušnim razdobljima, imale su značajan utjecaj na nakupljanje flavonola u grožđu. Razdoblja povišenih temperatura, uz istodobno povećanu izloženost grožđa sunčevom zračenju u defoliranim varijantama, vjerojatno su potaknula sintezu flavonola kao dijela adaptivnog odgovora biljke na stresne uvjete (Mori i sur., 2005; Chorti i sur., 2010; Pastore i sur., 2017). Ipak, dobiveni rezultati upućuju na to da je učinak temperature na flavonole bio snažno moduliran sortnim svojstvima i

intenzitetom izloženosti grožđa, čime se dodatno potvrđuje da njihovo nakupljanje nije linearno, već rezultat složene interakcije okolišnih i genetskih čimbenika.

Početni sadržaj flavonola u vinima, analiziran neposredno nakon vinifikacije (termin 0), u velikoj je mjeri odražavao razlike utvrđene u grožđu u trenutku berbe. Vina proizvedena iz grožđa s provedenim tretmanima djelomične defolijacije u pravilu su imala veći sadržaj flavonola u odnosu na kontrolu, što potvrđuje da promjene u flavonolnom profilu bobice uzrokovane defolijacijom nisu ograničene isključivo na grožđe, već se učinkovito prenose u vino (He i sur., 2012). Ovakav prijenos osobito je izražen kod sorata s većim potencijalom ekstrakcije fenolnih spojeva, što dodatno naglašava sortnu komponentu u formiranju početnog fenolnog profila vina.

Osim flavonola, u vinima prije dozrijevanja analizirane su i ostale skupine polifenolnih spojeva, prvenstveno flavan-3-oli i proantocijanidini, koji imaju ključnu ulogu u formiranju strukture vina, trpkosti i potencijala za daljnji razvoj. Rezultati su pokazali da su početne koncentracije ovih spojeva u vinima također bile pod utjecajem tretmana djelomične defolijacije, pri čemu su u defoliranim varijantama često zabilježene više vrijednosti u odnosu na kontrolu. Takav trend može se povezati s promjenama u fenolnom sastavu pokožice i sjemenki grožđa, ali i s mogućim razlikama u ekstrakcijskoj kinetici tijekom vinifikacije, koje proizlaze iz promijenjene strukture bobice i odnosa pokožice i pulpe.

Razlike u početnom sadržaju flavan-3-ola i proantocijanidina među sortama dodatno potvrđuju da je fenolni profil vina u ranoj fazi snažno sortno uvjetovan, što je u skladu s istraživanjima da sorte poput 'Merlota' imaju izraženiji potencijal za nakupljanje ekstrakciju kondenziranih tanina u odnosu na 'Syrah' i 'Cabernet Sauvignon' (Pastore i sur., 2013). Istodobno, rezultati ranijih istraživanja ukazuju na to da djelomična defolijacija može posredno utjecati i na ove fenolne skupine, iako je taj učinak manje konzistentan nego kod flavonola, što je u skladu s literaturnim navodima o njihovoj većoj ovisnosti o sortnim svojstvima i tehnološkim parametrima vinifikacije (Shi i sur., 2016).

Usporedba s dostupnim literaturnim podacima pokazuje da su dobiveni rezultati u skladu s istraživanjima koja navode kako povećana izloženost grožđa svjetlu, osobito u ranim fenofazama, može rezultirati većim početnim sadržajem različitih

neantocijanskih polifenola u vinu (Pastore i sur., 2013; Bubola i sur., 2017). Iako se u nekim radovima navodi da pretjerana insolacija i visoke temperature mogu negativno utjecati na pojedine fenolne spojeve (Tarara i sur., 2008; Anić i sur., 2021), rezultati ovog istraživanja upućuju na to da su u uvjetima Sjeverne Dalmacije, uz pažljivo odabran termin defolijacije, pozitivni učinci na početni fenolni profil vina prevladali nad potencijalnim negativnim utjecajima toplinskog stresa.

Učinkovitost djelomične defolijacije u modulaciji početnog sadržaja flavonola i ostalih neantocijanskih polifenola u vinu razlikovala se ovisno o fenofazi u kojoj je zahvat proveden. Ranija defolijacija u cvatnji u pojedinim je slučajevima rezultirala izraženijim povećanjem sadržaja ovih spojeva u grožđu i posljedično u vinu, što je u skladu s navodima da dulje razdoblje izloženosti grožđa svjetlu potiče biosintezu fenolnih spojeva u pokožici bobice (Pastore i sur., 2013; Bubola i sur., 2017). Međutim, u određenim kombinacijama sorte i godine, defolijacija provedena u šari pokazala se jednako učinkovita, što dodatno potvrđuje da optimalan termin zahvata mora biti prilagođen lokalnim agroekološkim uvjetima i ciljanom stilu vina..

5.5. Stabilnost polifenola tijekom dozrijevanja vina

Jedno od glavnih ograničenja u kontekstu boje crnih vina jest relativno niska stabilnost antocijana tijekom dozrijevanja. Na promjene njihova sadržaja i strukture utječu brojni vanjski čimbenici, među kojima se ističu temperatura i svjetlost, ali i kemijsko okruženje vina (Enaru i sur., 2021). Antocijani su u grožđu inicijalno prisutni pretežito u monomernim oblicima, no zbog svoje reaktivne prirode tijekom vinifikacije i dozrijevanja vina prolaze niz kemijskih reakcija i interakcija s drugim fenolnim spojevima, pri čemu nastaju stabilniji, ali i neobojeni derivati (He i sur., 2012). U mladim vinima njihov se sadržaj može kretati u širokom rasponu, približno od 100 do 1500 mg/L, ovisno o kultivaru, tehnološkim postupcima i agroekološkim uvjetima (Ribéreau-Gayon i sur., 2006).

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je vrijeme dozrijevanja vina imalo statistički značajan utjecaj na promjene sadržaja antocijana kod sve tri istraživane sorte u obje godine. U 2015. godini zabilježene su izraženije promjene sadržaja antocijana (65–90 %), dok su u 2016. godini te promjene bile manje izražene (36–70 %), što je u skladu

s rasponima promjena koje navode Stavridou i sur. (2016). Razlike između godina upućuju na snažan utjecaj klimatskih prilika vegetacijske sezone na početni antocijanski potencijal vina, ali i na kasniju dinamiku transformacija tijekom dozrijevanja.

U uvjetima dozrijevanja vina u boci, bez značajne prisutnosti kisika, promjene antocijana i flavan-3-ola prvenstveno su povezane s izravnim reakcijama kondenzacije, kao i s hidrolitičkim i drugim strukturnim transformacijama (Salas i sur., 2003). Intenzitet i smjer tih reakcija ovise o međusobnom omjeru antocijana i flavan-3-ola te o pH vrijednosti vina, koja je u velikoj mjeri povezana sa sortom i agroekološkim uvjetima uzgoja (Monagas i sur., 2005).

U tom je kontekstu važno uzeti u obzir pH vrijednost grožđa u punoj zrelosti, prikazanu u tablicama osnovnih fizikalno-kemijskih parametara, jer ona u značajnoj mjeri definira kemijsko okruženje vina nakon fermentacije. Niži pH pogoduje većem udjelu antocijana u flavilium obliku, što je povezano s intenzivnijom bojom i većim udjelom reaktivnih oblika, dok porast pH smanjuje njihov udio te mijenja nijansu boje i kinetiku reakcija u kojima antocijani sudjeluju (Jackson, 2008; Khoo i sur., 2017). Time se pH grožđa u punoj zrelosti može promatrati kao važna poveznica između fenolnog potencijala grožđa i kasnijih promjena fenolnog profila vina tijekom dozrijevanja.

Jedan od ciljeva ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj djelomične defolijacije na stabilnost antocijana i drugih skupina fenolnih spojeva tijekom dozrijevanja vina. Prema dobivenim rezultatima, pozitivan učinak defolijacije na stabilnost antocijana nije bio univerzalan. Učinak defolijacije jasno je zabilježen samo u vinima 'Merlot' i 'Cabernet Sauvignon' iz 2016. godine, gdje su u oba tretmana defolijacije promjene sadržaja antocijana tijekom 12 mjeseci dozrijevanja bile manje u odnosu na kontrolu, pri čemu je najniži stupanj promjena zabilježen kod defolijacije provedene u šari. U ostalim kombinacijama sorte i godine, iako su razlike u sadržaju antocijana tijekom dozrijevanja bile statistički značajne, one se ne mogu jednoznačno pripisati učinku defolijacije. To potvrđuje da stabilnost antocijana, osim o početnom sadržaju i agrotehničkim zahvatima, snažno ovisi i o drugim čimbenicima poput uvjeta skladištenja, sortnih svojstava te prirode transformacija koje antocijani prolaze tijekom dozrijevanja vina (Stavridou i sur., 2016).

Promjene tijekom dozrijevanja vina obuhvatile su i ostale fenolne skupine te su povezane s promjenama senzornih svojstava vina. Tijekom dozrijevanja crnih vina često dolazi do smanjenja okusa gorčine i osjeta trpkosti i grubosti, što se povezuje s kemijskim reakcijama fenolnih spojeva, osobito stvaranjem novih obojenih i neobojenih oligomera i polimera. Flavan-3-oli sudjeluju u kemijskim i enzimatskim reakcijama oksidacije koje mogu dovesti do posmeđivanja vina, a u interakcijama s proteinima mogu pridonijeti pojavi замуćenja (Da Silva i sur., 1991). Galna kiselina može se u oksidativnim uvjetima transformirati u elaginsku kiselinu (Tulyathan i sur., 1989), dok se flavonol glikozidi i esteri hidroksicimetnih kiselina mogu hidrolizirati do slobodnih oblika. Hidroksicimetne kiseline pritom mogu reagirati s antocijanima stvarajući stabilnije derivate, poput piroantocijanina (Schwarz i sur., 2003).

Sadržaj ukupnih flavonola u vinima tijekom dozrijevanja pokazivao je varijabilan trend. U većini uzoraka zabilježen je pad njihova sadržaja, uz iznimku vina 'Merlot' iz 2016. godine. Najniži stupanj promjena flavonola zabilježen je u vinu 'Cabernet Sauvignon' 2016. u tretmanu defolijacije u cvatnji, dok je najveći stupanj promjena utvrđen kod 'Syraha' 2015. u tretmanu defolijacije u šari. Takvi rezultati upućuju na snažnu interakciju između sorte, godine i primijenjenog agrotehničkog zahvata. Monagas i sur. (2005) opisuju smanjenje glikozidnih flavonola uz istodobni blagi porast aglikona, što se povezuje s procesima hidrolize, a sličan trend navode i Zafrilla i sur. (2003) za vina sorte 'Monastrell'.

Sadržaj ukupnih fenolnih kiselina tijekom dozrijevanja vina povećavao se u svim tretmanima kod sorte 'Syrah' u obje godine te kod 'Cabernet Sauvignona' i 'Merlota' u 2015. godini, što je u skladu s ranijim istraživanjima (Stavridou i sur., 2016; Monagas i sur., 2005). Fenolne kiseline mogu pridonijeti mikrobiološkoj stabilnosti vina zbog svojih antiseptičnih svojstava (Soufleros, 2015), a njihovo povećanje tijekom dozrijevanja često se povezuje s hidrolizom tartaratnih estera i oslobađanjem hidroksicimetnih kiselina (Waterhouse i sur., 2006). *p*-kumarinska kiselina ima posebnu ulogu jer sudjeluje u metabolizmu vezanom uz fenilalanin liazu, ključni enzim u sintezi flavonoida i stilbena, te njezin sadržaj može rasti u stresnim uvjetima. Monagas i sur. (2005) navode porast *trans*-kafeinske i *p*-kumarinske kiseline tijekom dozrijevanja u boci, što povezuju s razgradnjom *p*-kumaroil-aciliranih antocijana. Hidroksicimetne kiseline sudjeluju i u kopigmentaciji s antocijanima te mogu pridonijeti intenzitetu i stabilnosti boje (Boulton, 2001; Pérez-Magariño i González-San José,

2005), ali su istodobno uključene i u procese oksidacije i posmeđivanja vina kao supstrati polifenol oksidaze.

Sadržaj ukupnih proantocijanidina tijekom dozrijevanja vina smanjivao se u većini uzoraka, uz iznimku kontrolnog vina 'Cabernet Sauvignon' iz 2016. godine. Tijekom dozrijevanja proantocijanidini sudjeluju u reakcijama s drugim fenolnim spojevima, mijenjaju strukturu i polimeriziraju (Jordão i Ricardo-da-Silva, 2018). Monagas i sur. (2005) navode da proantocijanidini nestaju brže i progresivnije od monomernih flavan-3-ola poput katehina i epikatehina, što je u skladu s dobivenim rezultatima.

Ukupni flavan-3-oli pokazali su varijabilan trend promjena tijekom dozrijevanja vina, slično kao i flavonoli. Katehin je detektiran samo u vinima sorte 'Syrah' u obje godine, a razlike u njegovu sadržaju moguće su i unutar iste sorte, što se pripisuje agroekološkim uvjetima i klimatskim prilikama. Sadržaj katehina može se smanjivati tijekom dozrijevanja jer sudjeluje u reakcijama polimerizacije s antocijanima (Stavridou i sur., 2016). Harner i sur. (2024) naglašavaju da opseg promjena flavan-3-ola tijekom dozrijevanja snažno ovisi o sorti. Monagas i sur. (2005) navode da se tijekom 26 mjeseci dozrijevanja u boci sadržaj flavan-3-ola može smanjiti za 35–52 %, ovisno o sorti, pri čemu su manji gubici u pojedinim vinima povezani sa slabijom reaktivnošću s antocijanima, povoljnijim omjerom antocijana i flavan-3-ola te višim pH vrijednostima, koje smanjuju udio reaktivnih oblika antocijana i time utječu na tijek reakcija tijekom dozrijevanja.

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da je hipoteza o značajnom utjecaju termina djelomične defolijacije na stabilnost polifenola u vinima tijekom dozrijevanja djelomično potvrđena. Vrijeme dozrijevanja vina imalo je snažan i konzistentan utjecaj na promjene svih analiziranih skupina polifenola, no učinak defolijacije na njihovu stabilnost nije bio univerzalan, već je ovisio o sorti i godini istraživanja. Pozitivan učinak defolijacije na stabilnost antocijana jasno je potvrđen samo kod sorata 'Merlot' i 'Cabernet Sauvignon' u 2016. godini, gdje su u oba tretmana defolijacije promjene sadržaja antocijana tijekom dozrijevanja bile manje u odnosu na kontrolu, pri čemu se defolijacija provedena u šari pokazala najpovoljnijom. U ostalim kombinacijama sorte i godine, iako su promjene sadržaja antocijana i ostalih polifenola bile statistički značajne, one se ne mogu jednoznačno pripisati učinku defolijacije.

Za ostale skupine polifenola (flavonole, fenolne kiseline, flavan-3-ole i proantocijanidine) defolijacija je imala sekundarni i manje konzistentan utjecaj na stabilnost tijekom dozrijevanja vina. Time se potvrđuje da defolijacija, iako učinkovita u modulaciji početnih koncentracija polifenola u grožđu i mladim vinima, ne osigurava nužno veću stabilnost svih polifenolnih skupina tijekom dozrijevanja, već djeluje u interakciji s kemijskim okruženjem vina, pH vrijednošću i omjerima pojedinih fenolnih spojeva.

Sveukupno, rezultati upućuju na to da se defolijacija može smatrati alatom za usmjeravanje fenolnog potencijala grožđa i vina, ali ne i samostalnim čimbenikom koji određuje stabilnost polifenola tijekom dozrijevanja. Stabilnost fenolnog profila vina rezultat je složenog međudjelovanja sortnih svojstava, klimatskih uvjeta godine, početnog sastava polifenola i kemijskih procesa tijekom dozrijevanja, pri čemu se očituje i učinak defolijacije.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju postavljenih hipoteza istraživanja te dobivenih rezultata dvogodišnjeg istraživanja utjecaja djelomične rane defolijacije na sadržaj polifenola u grožđu i njihovu stabilnost u vinu može se zaključiti sljedeće:

H1: Različiti termini djelomične defolijacije u zoni grožđa značajno utječu na sadržaj polifenola u grožđu tijekom dozrijevanja u uvjetima sjeverne Dalmacije kod sorata 'Merlot', 'Syrah' i 'Cabernet Sauvignon'.

Prva hipoteza je u potpunosti potvrđena, jer je kod svih istraživanih sorata, neovisno o vremenu provedbe, djelomična defolijacija značajno utjecala na sadržaj polifenola u grožđu tijekom dozrijevanja. Ranija defolijacija provedena u cvatnji značajno je utjecala na povećanje sadržaja ukupnih antocijana tijekom dozrijevanja kod sorte 'Merlot' u 2015. godini te kod sorata 'Syrah' i 'Cabernet Sauvignon' u obje istraživane godine. Jedino je kod sorte 'Merlot' u 2016. godini veći utjecaj na povećanje sadržaja ukupnih antocijana imala defolijacija provedena u šari. Defolijacija u cvatnji utjecala je i na povećanje sadržaja ukupnih flavonola tijekom dozrijevanja kod sve tri sorte u obje istraživane godine, osim kod 'Cabernet Sauvignona' u 2016. godini u kojem je veći sadržaj zabilježen kod defolijacije u šari.

H2: Različiti termini defolijacije značajno utječu na polifenolni sastav grožđa u punoj zrelosti te na polifenolni sastav vina nakon vinifikacije kod svih istraživanih sorata.

Na temelju dobivenih rezultata druga hipoteza je potvrđena. Provedeni tretmani defolijacije utjecali su na povećanje sadržaja ukupnih antocijana i ukupnih flavonola u grožđu u punoj zrelosti kod sve tri sorte u obje godine istraživanja, pri čemu su razlike ovisile o vremenu provedbe defolijacije. Ranija defolijacija u cvatnji utjecala je na povećanje sadržaja ukupnih antocijana kod sorte 'Merlot' u 2015. godini, kod sorte 'Syrah' u obje godine te kod sorte 'Cabernet Sauvignon' u obje godine. Defolijacija u cvatnji također je utjecala na povećanje sadržaja ukupnih flavonola u punoj zrelosti kod svih sorti, osim kod 'Cabernet Sauvignona' u 2016. godini, gdje je veći utjecaj imala defolijacija provedena u šari. Provedeni tretmani defolijacije značajno su utjecali i na ostale skupine polifenola u grožđu u punoj zrelosti te u vinima nakon vinifikacije, pri čemu je utjecaj bio različit ovisno o sorti i godini istraživanja.

H3: Stabilnost polifenola u vinima tijekom dozrijevanja ovisi o terminu djelomične defolijacije.

Na temelju dobivenih rezultata treća hipoteza je djelomično potvrđena, jer je utjecaj termina defolijacije na stabilnost polifenola tijekom dozrijevanja vina bio snažno ovisan o sorti i klimatskim uvjetima godine. Sadržaj ukupnih antocijana i procijanidina, unatoč očekivanom smanjenju tijekom dozrijevanja vina, u pravilu je ostao veći u vinima proizvedenima od grožđa kod kojeg je proveden tretman defolijacije u cvatnji ili u šari, ovisno o sorti i godini istraživanja. Termin provođenja djelomične defolijacije imao je značajan, ali ne univerzalan utjecaj na stabilnost antocijana te ostalih skupina polifenola, pri čemu je taj učinak bio izraženiji u pojedinim kombinacijama sorte i godine. Ovisno o sorti i godini istraživanja, promjene tijekom dozrijevanja bile su izraženije ili kod defolijacije provedene u cvatnji ili kod defolijacije provedene u šari.

S obzirom na važnost polifenolnih spojeva u vinu te njihov utjecaj na kakvoću i stabilnost vina, opravdano je zaključiti da je potrebno provesti dodatna istraživanja primjene ampelotehničkih zahvata kojima bi se, uzimajući u obzir sortnu i okolišnu specifičnost, moglo učinkovitije utjecati na povećanje stabilnosti polifenolnih spojeva u vinima tijekom starenja.

7. POPIS LITERATURE

1. Adams D.O. (2006). Phenolics and ripening in grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture*. 57: 249-256.
2. Anić M., Osrečak M., Andabaka Ž., Tomaz I., Večenaj Ž., Jelić D. i sur. (2021). The effect of leaf removal on canopy microclimate, vine performance and grape phenolic composition of Merlot (*Vitis vinifera* L.) grapes in the continental part of Croatia. *Scientia Horticulturae*. 285.
3. Austin C.N., Wilcox W.F. (2011). Effects of fruit-zone leaf removal, training systems, and irrigation on the development of grapevine powdery mildew. *American Journal of Enology and Viticulture*. 62 (2) (2011), pp. 193-198
4. Bautista-Ortín A.B., Fernandez-Fernandez J.I., Lopez Roca J.M., Gomez Plaza E., (2006). The effect of grape ripening stage on red wine color. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 40, 15–24.
5. Bavaresco L., Gatti M., Peezzuto S., Fregoni M., Mattivi F. (2008). Effect of leaf removal on grape yield, berry composition and stilbene concentration. *American Journal of Enology and Viticulture*. 59, 292-298.
6. Bergqvist J., Dokoozlian N., Ebisuda N. (2001). Sunlight exposure and temperature effects on berry growth and composition of Cabernet Sauvignon and Grenache in the central San Joaquin Valley of California. *American Journal of Enology and Viticulture*. 52(1):1-7.
7. Blancquaert E.H., Oberholster A., Ricardo-da-Silva J.M., Deloire A.J. (2019). Grape flavonoid evolution and composition under altered light and temperature conditions in Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.). *Frontiers in Plant Science*. 10:1062.
8. Bledsoe A.M., Kliewer W.M., Marois J.J. (1988). Effects of timing and severity of leaf removal on yield and fruit composition of Sauvignon blanc grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39: 49-54.
9. Boss P.K., Davies C. (2009). Molecular biology of anthocyanin accumulation in grape berries. In: Roubelakis-Angelakis KA, editor. *Grapevine Molecular Physiology & Biotechnology*. Dordrecht: Springer Netherlands; p. 263-292.
10. Boulton R. (2001). The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *American Journal of Enology and Viticulture*. 52(2):67-87.

11. Bourzeix M., Weyland D., Heredia N. (1986). Etude des catéchine et des procyanidols de la grappe de raisin, du vin et d'autres dérivés de la vigne. Bull. OIV. 669-670:1171–1253.
12. Bubola M., Peršurić Đ., Kovačević Ganić K., Karoglan M., Kozina B. (2012). Effects of fruit zone leaf removal on the concentrations of phenolic and organic acids in Istrian Malvasia grape juice and wine. Food Technology and Biotechnology 50 (2), 159-166
13. Bubola M. (2015). Primjena rane defolijacije u svrhu povećanja kvalitete grožđa i vina - Priručnik o rezultatima VIP projekta
14. Bubola M., Sivilotti P., Janjanin D., Poni S. (2017). Early Leaf removal has a larger effect than cluster thinning on grape phenolic composition in cv. Teran. American Journal of Enology and Viticulture. 68(2):234-242.
15. Bubola M., Lukić I., Radeka S., Sivilotti P., Grozić K., Vanzo A., Bavčar D., Lisjak K. (2019). Enhancement of Istrian Malvasia wine aroma and hydroxycinnamate composition by hand and mechanical leaf removal. Journal of the Science of Food and Agriculture. 99, 904–914.
16. Budić-Leto I., Lovrić T. (2002). Identification of Phenolic acids and Changes in their Content during Fermentation and Ageing of White Wines Pošip and Rukatac. Food Technology and Biotechnology. 40(3)221-225.
17. Burns J., Mullen W., Landrault N., Teissedre P.-L., Lean M.E., Crozier A. (2002). Variations in the profile and content of anthocyanins in wines made from Cabernet Sauvignon and hybrid grapes. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50: 4096-4102
18. Castellarin S.D., Bavaresco L., Falginella L., Gonçalves M.I.V.Z., di Gasparo G. (2012). Phenolics in grape berry and key antioxidants, in In the Biochemistry of the Grape Berry, eds H. Gerós, M. Chaves and S. Delrot, Bussum: Bentham Science, 89-110.
19. Castillo-Muñoz N., Gómez-Alonso S., García-Gutiérrez I. (2007). Flavonol profiles of *Vitis vinifera* red grapes and their single-cultivar wines. Journal of Agricultural and Food chemistry, 55(3),992-1002.
20. Chanisvili Sh. Sh., Badridze G. Sh., Barblishvili T., Dolidze M.D. (2005). Defoliation, Photosynthetic Rates, and Assimilate Transport in Grapevine Plants. Russian Journal of Plant Physiology 52(4):448-453.

22. Cheynier V., Da Silva R. (1991). Oxidation of grape procyanidins in model solutions containing trans-caffeoyltartaric acid and polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 39(6):1047-1049.
23. Cheynier V., Duenas-Paton M., Salas E., Maury C., Souquet, J.M., Manchado-Sarni P., Fulcrand H. (2006). Structure and properties of wine pigments and tannins. *American journal of Enology and Viticulture*.
24. Chorti E., Guidoni S., Ferrandino A., Novello V. (2010). Effect of Different Cluster Sunlight Exposure levels on Ripening and Anthocyanin Accumulation in Nebbiolo Grapes. *American Journal of Enology and viticulture*. 61:23-30.
25. Coombe B.G. (1995). Growth Stages of the Grapevine: Adoption of a system for identifying grapevine growth stages. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 1:10.
26. Cortell J.M., Kennedy J.A. (2006). Effect of shading on accumulation of flavonoid compounds in (*Vitis vinifera* L.) Pinot noir fruit and extraction in a model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 8510-8520.
27. De Beer D., Joubert E., Gelderblom W.C.A., Manley M. (2002). Phenolic compounds: A review of their possible role as In Vivo antioxidants of wine. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 23: 48-71.
28. Delgado R., Martín P., del Álamo M., González M.-R. (2004). Changes in the phenolic composition of grape berries during ripening in relation to vineyard nitrogen and potassium fertilisation rates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 84, 623-630.
29. Di Profio F., Reynolds A.G., Kasimos A. (2011a). Canopy management and enzyme impacts on Merlot, Cabernet Franc and Cabernet Sauvignon. I. Yield and berry composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 62: 139-151.
30. Di Profio F, Reynolds A.G., Kasimos A. (2011b). Canopy management and enzyme impacts on Merlot, Cabernet Franc, and Cabernet Sauvignon. II. Wine Composition and Quality. *American Journal of Enology and Viticulture*. 62 (2):152-68.
31. Diago M.P., Ayestarán B Guadalupe Z., Garrido Á., Tardaguila J. (2012a). Phenolic composition of Tempranillo wines following early defoliation of the vines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 92(4):925-934.

32. Diago M.P., Ayestarán B., Guadalupe Z., Poni S, Tardaguila J. (2012b). Impact of prebloom and fruit set basal leaf removal on the flavonol and anthocyanin composition of Tempranillo grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*. 63(3):367-376.
33. Downey M.O., Harvey J.S., Robinson S.P. (2003a). Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes through berry development. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 9 (1),15-27.
34. Downey M.O., Harvey J.S., Robinson S.P. (2003b). Synthesis of flavonols and expression of flavonol synthase genes in the developing grape berries of Shiraz and Chardonnay (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 9 (2),110–121.
35. Downey M.O., Dokoozlian N.K., Krstic M.P. (2006). Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine. A review of recent research. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57: 257-268.
36. Drenjančević M., Jukić V., Zmaić K., Kujundžić T., Rastija V. (2017). Effects of early leaf removal on grape yield, chemical characteristics, and antioxidant activity of grape variety Cabernet Sauvignon and wine from eastern Croatia. *Acta agriculturae Scandinavica, Section B-Soil&Plant Science*.
37. Elez Garofulić I. (2015) Optimiranje proizvodnje praha soka višnje maraske (*Prunus cerasus* var. *Marasca*) primjenom sušenja raspršivanjem. Doktorski rad, Prehrambeno – biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
38. Enaru B., Dretcanu G., Daria Pop T., Stanila A., Diaconeasa Z. (2021) Anthocyanins: Factors affecting their stability and degradation. *Antioxidants*. 10(12):1967.
39. Favretto D., Flamini R. (2000). Application of electrospray ionization mass spectrometry to the study of grape anthocyanins. *American Journal of enology and viticulture*. 51:55–64.
40. Feng H., Yuan F., Skinkis P. A., Qian M. C. (2015). Influence of cluster zone leaf removal on Pinot noir grape chemical and volatile composition. *Food Chemistry*. 173:414-23.
41. Figueiredo-González M., Cancho-Grande B., Simal-Gándara J., Teixeira, N. Mateus N., De Freitas V. (2014). The phenolic chemistry and

- spectrochemistry of red sweet wine-making and oak-aging. *Food chemistry*. 520-530.
42. Filippetti I., Movahed N., Allegro G., Valentini C., Pastore C., Colucci E., Intrieri, C. (2014). Effect of post-veraison source limitation on the accumulation of sugar, anthocyanins and seed tannins in *Vitis vinifera* cv. Sangiovese berries. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 21,90-100
 43. Flamini R., Mattivi F., de Rosso M., Arapitsas P., Bavareesco L. (2013). Advanced Knowledge of Three Important Classes of Grape Phenolics. Anthocyanins, stilbens and flavonols. *International Journal of Molecular sciences*, 14, 19651-19669.
 44. Fournand D., Vicens A., Sidhoum L., Souquet J.M., Moutounet, M., Cheyrier V. (2006). Accumulation and extractability of grape skin tannins and anthocyanins at different advanced physiological stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 10:46.19
 45. Garcia L., Deshaies S., Constantin T., Garcia F., Saucier C. (2023). Impact of phenolic composition and antioxidant parameters on the ageing potential of Syrah red wines measured by accelerated ageing tests. *Food Chemistry*. 426 (1):136613
 46. Garrido J., Borges F. (2013). Wine and grape polyphenols-A chemical perspective. *Food Research International*. 54: 1844-1858.
 47. Gatto P, Vrhovšek U., Muth J., Segala C., Romualdi C., Fontana P., Pruefer D., Stefanini M., Moser C., Mattivi F., Velasco R. (2008). Ripening and genotype control stilbene accumulation in healthy grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56(24):11773-11785.
 48. Gómez-Míguez M., Heredia F. (2004). Effect of the maceration technique on the relationships between anthocyanin composition and objective color of Syrah wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(16):5117-23.
 49. Harner A.D., Smith M.S., Keller S.T., Hopfer H., Centinari M. (2024). Identifying an early leaf removal threshold for Grüner Veltliner, a high-yielding, high-vigor cultivar. *American Journal of Enology and Viticulture*. 75:0750005.
 50. Haselgrove L., Botting D., van Heeswijck R., Hoj P.B., Dry P.R., Ford C., Illand P.G. (2000). Canopy microclimate and berry composition: The effect of

- bunch exposure on the phenolic composition of *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz grape berries. Australian Journal of Grape and Wine Research. 6(2):141-9.
51. He F., Mu L., Yan G.L., Liang N.N., Pan Q.H., Wang J., Reeves M.J., Duan C.Q. (2010). Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules*. 15 : 9057-9091.
 52. He F., Liang N.N., Mu L., Pan Q.H., Wang J., Reeves M.J., Duan C.Q. (2012). Anthocyanins and their variation in red wines I. Monomeric anthocyanins and their color expression. *Molecules*.17:1571-1601.
 53. Hed B., Ngugi K.H., Travis W.J. (2009). Relationship Between Cluster Compactness and Bunch Rot in Vignoles Grapes. *Plant Disease*. 93:11:1195
 54. Herjavec S., Masnov Bandić L. (2019). *Vinarstvo*. Nakladni zavod Globus.
 55. Hufnagel J.C., Hofmann T. (2008). Orosensory-directed identification of astringent mouthfeel and bitter-tasting compounds in red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 1376-1386.
 56. Intrieri C., Filippeti I., Centinari M., Poni S. (2008). Early defoliation (hand vs mechanical) for improved crop control and grape composition in Sangiovese (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of grape and Wine Research*. 14, 25-32.
 57. Ivanova-Petropulos V., Hermosín-Gutiérrez I., Boros B., Stefova M., Stafilov T., Vojnoski B., Dörnyei Á., Kilár F. (2015). Phenolic compounds and antioxidant activity of Macedonian red wines. *Journal of Food Composition and Analysis* 41: 1–14.
 58. Jackson R.S. (2008). *Wine science: Principle and Applications*. Third Edition. Academic Press, London, UK
 59. Jackson R.S. (2020). *Wine Science: Principles and Applications*. Fifth Edition. Academic Press, London, UK
 60. Jagatić Korenika AM., Naletilić I., Mihaljević Žulj M., Puhelek I., Jeromel A. (2015). Effects of harvest time and maceration temperature on polyphenolic content of frankovka (*Vitis vinifera* L.) grapes and wines. *Glasnik zaštite bilja*. Vol. 38.5
 61. Jeandet P., Bessis M., Sbaghi M., Meunier P. (1995). Production of the Phytoalexin Resveratrol by Grapes as a Response to Botrytis Attack Under Natural Conditions. *Journal of Phytopathology*
 62. Jones G.V., White M.A., Cooper O.R., Storchmann K. (2005). Climate change and global wine quality. *Climatic change*, 73 (3), 319-343

63. Jordão A.M., Ricardo-da-Silva. (2018). Evolution of Proanthocyanidins During Grape Maturation, Winemaking, and Aging Process of Red Wines
64. Kanner J., Frankel E., Granit R., German B., Kinsella J.E. (1994). Natural antioxidant in grapes and wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42: 64-69
65. Keller M. (2010). Managing grapevines to optimise fruit development in a challenging environment: a climate change primer for viticulturists. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16: 56-69
66. Keller M. (2020). *The Science of Grapevines. Second Edition*. Academic Press, London, UK
67. Kennedy J.A., Matthews M.A., Waterhouse A.I.(2002). Effect of maturity and vine water status on grape skin and wine flavonoids. *American Journal of Enology and Viticulture*. 53: 268-274.
68. Kennedy J.A., Saucier C., Glories Y. (2006) Grape and Wine Phenolics. History and Perspective. *American Journal of Enology and Viticulture*. 57:3
69. Kennedy J.A. (2008). Grape and wine phenolics: Observations and recent findings. *Ciencia Investig. Ciencia e investigación agraria: revista latinoamericana de ciencias de la agricultura*, 35 (2)107-120.
70. Khoo H.E., Azlan A., Tang S.T., Lim S.M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food and Nutrition Research*. 61(1); 1361779
71. Kojić, N. (2019). Djelovanje sumporovog dioksida u vinu. *Glasnik Zaštite Bilja* 6, 86-92.
72. Kozina B., Karoglan M., Herjavec S., Jeromel A., Orlić S. (2008). Influence of basal leaf removal on the chemical composition of Sauvignon Blanc and Riesling wines. *Journal of food, agriculture and environment*. 6:28-33.
73. Lattanzio V. (2013). Phenolic Compounds: Introduction. In K. G. Ramawat, & J.-M. Mérillon (Eds.), *Natural Products (1543-1580)*. Springer.
74. Lee J., Skinkis P.A. (2013). Oregon Pinot noir grape anthocyanin enhancement by early leaf removal. *Food chemistry*, 139(14), 893-901.
75. Lemut S.M., Trost K., Sivilotti P., Arapitsas P., Vrhovsek U. (2013). Early versus late leaf removal strategies for Pinot Noir (*Vitis vinifera* L.): Effect on colour-related phenolics in young wines following alcoholic fermentation. *Journal Science of Food and Agriculture*. 93 (15).

76. Licul R. (1971). Vinogradarstvo I. Poljoprivredni fakultet Zagreb.
77. Lohitnavy N., Bastian E.P., Collins C. (2010). Berry sensory attributes correlate with compositional changes under different viticultural management of Semillon (*Vitis vinifera* L.). *Food Quality and Preference* 21(7):711-719.
78. Maletić E., Karoglan Kontić J., Pejić I. (2008). Vinova loza: ampelografija, ekologija i oplemenjivanje. Školska knjiga, Zagreb
79. Mateus N., de Freitas V. (2001). Evolution and stability of anthocyanin-derived pigments during Port wine aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49(11): 5217-22.
80. Mattivi F., Guzzon R., Vrhovsek U., Stefanini M., Velasco R. (2006). Metabolite profiling of grape: flavonols and anthocyanins. *Journal of agricultural and food chemistry* 54 (20), 7692-7702
81. Mirošević N. (1993). Vinogradarstvo. Nakladni zavod Globus, Zagreb
82. Mirošević N., Karoglan Kontić, J. (2008). Vinogradarstvo. Nakladni zavod Globus, Zagreb.
83. Monagas M., Gómez-Cordovés C., Bartolomé B. (2005). Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. during ageing in bottle. *Food Chemistry*. 95(3):405-412
84. Monagas M., Bartolome B. (2009). Antocyanins and Antocyanin-Derived Compounds. In *Wine chemistry and biochemistry*. Moreno-Arribas, M. V., i M. C. Polo (ed) pp.439-456. Springer science+Business media, LLC, New York, USA.
85. Moreno-Arribas M. V., Polo M.C. (2009). *Wine Chemistry and Biochemistry*. Springer, New York
86. Mori K., Sugaya S., Gemma H. (2005). Decreased anthocyanin biosynthesis in grape berries grown under elevated night temperature condition. *Scientia Horticulturae*. 105, 319-330.
87. Mori K., Goto-Yamamoto N., Kitayama M., Hashizume K. (2007). Effect of high temperature on anthocyanin composition and transcription of flavonoid hydroxylase genes in 'Pinot noir' grapes (*Vitis vinifera* L). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 82(2):199-206.
88. Mosetti D., Herrera J.C., Sabbatini P., Green A., Alberti G., Peterlunger E., Lisjak K., Castellarin S.D. (2016). Impact of leaf removal after berry set on fruit composition and bunch rot in 'Sauvignon blanc'. *Vitis*. 55(2):57-64.

89. Muñoz F., Urvieta R., Buscema F., Rasse M., Fontana A., Berli F. (2021). Phenolic characterization of Cabernet Sauvignon wines from different geographical Indications of Mendoza, Argentina: Effects of plant material environment. *Frontiers*. Vol.5
90. Nicolosi E., Continella A., Gentile A., Cicala A. i Ferlito F. (2012). Influence of early leaf removal on autohtonous and international grapevines in Sicily. *Scientia horticulturae*, 146: 1-6
91. O.I.V." International Code of Oenological Practices", Paris; edition 2001.
92. O.I.V. (2024). Annual assessment of the world vine and wine sector in 2024. International Organisation of Vine and Wine.
93. Ojeda H., Deloire A., Carbonneau A. (2001). Influence of water deficits on grape berry growth. *Vitis* 40, 141-145.
94. Osrečak M., Karoglan M., Kozina B. (2016). Influence of leaf removal and reflective mulch on phenolic composition and antioxidant activity of Merlot, Teran and Plavac mali wines (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae*. 209:261-9.
95. Owens C.L. (2015). Pigments in Grape. In: C. Chen, editor. *Pigments in fruits and vegetables: Genomics and Dietetics*, USA, NY: Springer New York; pp. 189-204.
96. Özmen C.Y., Baydu, F.Y., Ergül A. (2025). Comparative analysis of Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) and Kober 5BB (*V. berlandieri* x *V. riparia*) root transcriptomes reveals multiple processes associated with droughttolerance in grapevines. *Horticulturae*. 11(9),1092.
97. Paixao N., Perestrelo R. (2007). Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose and white wines. *Food Chemistry*. 105(1):204-214.
98. Pallioti A., Panara F. Silvestroni O., Lanari V., Sabbatini P., Howell G.S., Gatti M., Poni S. (2013). Influence of mehanical postverison leaf removal apical to the cluster zone on delay of fruit ripening in Sangiovese (*Vitis vinifera* L.) grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 369-377
99. Pastore C. Zenoni S., Fasoli S., Pezzoti M., Battista Torielli G., Filippetti I. (2013). Selective defoliation affects plant growth, fruit transcriptional ripening program and flavonoid metabolism in grapevine. *BMC Plant Biology*, 13:30

100. Pastore C., Dal Santo S., Zenoni S., Movahed N., Allegro G., Valentini G., Filippetti I., Tornielli G.B. (2017). Whole Plant Temperature Manipulation Affects Flavonoid Metabolism and the Transcriptome of Grapewine Berries. *Frontiers in Plant Science*. 8.
101. Pérez-Magariño S., González-San José M.L. (2005). Effect of ripening stage of grapes on the low molecular weight phenolic compounds of red wines. *European Food research and Technology*. 220(5): 597-606.
102. Petrie P.R., Sadras V.O. (2008). Advancement of grapevine maturity in Australia between 1993 and 2006: putative causes, magnitude of trends and viticultural consequences. *Australian journal of Grape and Wine Research*. 14, 33-45
103. Poni S., Casalini L., Bernizzoni F., Civardi S., Intrieri C. (2006). Effects of early defoliation on shoot photosynthesis, yield components and grape composition. *American journal of Enology and Viticulture*. 57: 397-407.
104. Poni S., Bernizzoni F., Civardi S., Libelli N., (2009). Effects of pre-bloom leaf removal on growth of berry tissues and must composition in two red *Vitis vinifera* L. cultivars. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 15: 185–193.
105. Price S.F., Breen P.J., Valladao M., Watson B.T. (1995). Cluster sun exposure and quercetin in Pinot noir grapes and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46 (2): 187-194.
106. Rastija V., Mihaljević K., Drenjančević M., Jukić V. (2016). Using Knowledge of the Polyphenolic Profile of Croatian Wines for Marketing Purposes. *Radovi Zavoda za znanstveni i umjetnički rad u Požegi*, 39-56
107. Rastija V., Medić-Šarić M. (2009). Chromatographic Methods for the Analysis of Polyphenols in Wines. *Journal of Chemicals and Chemical Engineers*. 58(03).
108. Reynolds A.G. (2010). *Viticulture and Vineyard Management*.
109. Reynolds A.G., Wardle, D. (2001). Rootstocks impact vine performance and fruit composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(1), 1-13.
110. Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. (2000). *Handbook of enology Volume 2. The chemistry of wine stabilization and treatments*. John Wiley & sons. Ltd, Chichester, England.

111. Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. (2006). Handbook of Enology, The chemistry of Wine Stabilization and Treatments. Second Edition (Vol.2, pp. 1-441). John Wiley & sons. Ltd, Chichester, England.
112. Rienth M., Torregrosa L., Sarah G., Ardisson M., Brillouet J.M., Romieu C. (2016). Temperature desynchronizes sugar and organic acid metabolism in ripening grapevine fruits and remodels their transcriptome. BMC Plant Biology.16.
113. Rienth M., Vigneron N., Darriet P., Sweetman C., Burbidge C., Bonghi C., Walker R.P., Famiani F., Castellarin S.D. (2021). Grape Berry Secondary metabolites and Their Modulation by Abiotic Factors in a Climate Change Scenario-A Review. Frontiers Plant science. 12:643258.
114. Robinson J. (Ed.). (2006). The Oxford Companion to Wine. Third Edition. Oxford University Press.
115. Robinson J., Harding J., Vouillamoz J. F. (2012). Wine Grapes. A complete guide to 1,368 vine varieties, including their origins and flavours.
116. Publisher: Penguin (UK) and Ecco (US)
117. Rodríguez Montealegre R., Romero Peces R., Chacón Vozmediano J.L., Martínez Gascueña J., García Romero E. (2006): Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate, Journal of Food Composition and Analysis.19, 6-7, 687-693.
118. Romeyer F.M., Macheix J.J., Golfon, J.P. Reminiac C.C., Sapis J.C. (1983). The browning, capacity of grapes. III. Changes and importance of hydroxycinnamic acid tartaric acid esters during development and maturation of the fruit. Journal Science of Food and Agriculture. 31.
119. Rossi S, Radeka S., Bubola M., Plavša T., Horvat I., Lukić I, Jagatić Korenika AM (2020). Influence of different vinification techniques on stilbenes and total polyphenolic content in Teran wines. 55th Croatian & 15th International Symposium on Agriculture Vodice, Croatia. 496-500
120. Rühl E.H. (1989). Rootstock breeding for grapevines. *Vitis*, 28, 37–47.
121. Ryan J.M., Revilla E. (2003). Anthocyanin composition of Cabernet Sauvignon and Tempranillo grapes at different stages of ripening. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51(11):3372-8.

122. Sadras V.O., Moran M.A. (2012). Elevated temperature decouples anthocyanins and sugar in berries of Shiraz and Cabernet Franc. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 18: 115-122.
123. Salas E., Fulcrand H., Meudec E., Cheynier V. (2003). Reactions of Anthocyanins and Tannins in Model Solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(27):7951-61.
124. Schwarz M., Wabnitz T. C., Winterhalter P. (2003). Pathway Leading to the Formation of Anthocyanin–Vinylphenol Adducts and Related Pigments in Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(12)
125. Shi P.B., Yue T.X., Ai L.L., Cheng Y.F., Meng J.F., Li M.H., Zhang Z.W. (2016). Phenolic compound profiles in grape skins of Cabernet Sauvignon, Merlot, Syrah and Marselan cultivated in the Shacheng Area (China). *South African Journal of Enology and Viticulture*. 37(2):132-8.
126. Singleton V. L., Trousdale E. K. (1992). Anthocyanin-Tannin Interactions Explaining Differences in Polymeric Phenols Between White and Red Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1992 43:63-70
127. Song J., Smart R., Wang H., Damberg B., Sparrow A., Qian M.C. (2015). Effect of grape bunch sunlight exposure and UV radiation on phenolic and volatile composition of *Vitis vinifera*, L. cv. Pinot noir wine. *Food Chemistry*. 173:424-431.
128. Souquet J.M., F. Veran C. Mane, Cheynier V. 2006. Optimization of extraction conditions on phenolic yields from the different parts of grape clusters. Quantitative distribution of their proanthocyanidins. In XXIII International Conference on Polyphenols. Winnipeg, Manitoba, Canada
129. Spayd S.E., Tarara J. M., Mee D.L., Ferguson J.C. (2002). Separation of sunlight and temperature effects of the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53: 171-182
130. Stavridou K., Soufleros E.H., Bouloumpasi E., Dagkli V. (2016). The phenolic potential of wines from French grape varieties Cabernet Sauvignon, Merlot and Syrah cultivated in the Region of Thessaloniki (Northern Greece) and its evolution during aging. *Food Science and Nutrition*. 7(2):15.
131. Tarara J.M., Lee J., Spayd S. E., Scagel C.F. (2008). Berry temperature and solar radiation alter acylation, proportion and concentration of anthocyanin in Merlot grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 59: 235-247.

132. Tardaguila J., Martinez de Toda F., Poni S., Diago M.P. (2010). Impact of early leaf removal on yield and fruit and wine composition of *Vitis vinifera* L. Graciano and Carignan. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61: 372-381.
133. Tarricone L., Faccia M., Masi G., Gambacorta G. (2020). The impact of early basal leaf removal at different sides of the canopy on Aglianico Grape quality. *Agriculture*.10(12),63.
134. Terrier N.,Poncet-Legrand C.,Cheynier V. (2009). Flavanols, Flavonols and Dihydroflavonols. In *Wine chemistry and biochemistry*. Moreno-Arribas, M.V., i M.C.Polo (ed) pp.439-456. Springer science+Business media, LLC, New York, USA.
135. Tomaz I., (2016). Optimiranje priprave uzoraka za analizu polifenolnih spojeva u kožici grožđa tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. Doktorski rad. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet. Kemijski odsjek. Zagreb.
136. Tulyathan V., Boulton R.B., Singleton V.L. (1989). Oxygen uptake by gallic acid as a model for similar reactions in wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 37(4).
137. Vidal S., Meudec E., Cheynier V., Skouroumounis G., Hayasaka Y. (2004). Mass spectrometric evidence for the existence of oligomeric anthocyanins in grape skins. *Journal of Agricultural and food Chemistry*. 52:7144–7151.
138. Visan L., Tamba-berehoiu R.M., Popa C.N., Danaila-Guidea S.M., Dobrinoiu R.V. (2019). Syrah-Grapevine and wine-a critical review. *Scientific Papers Series, Economic Engineering in Agriculture and Rural Development*. Vol.19.1.
139. Vivas N.G., Nonier M.F., Guerra C., Vivas N. (2001). Anthocyanin in grape skins during maturation of *Vitis vinifera* L. cv. Caberent Sauvignon and Merlot Noir from different Bordeaux terroirs. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 35:149–156.
140. Waterhouse A.L. (2006). Wine Phenolics. *Annals of the New York Academy of Science*. Vol. 957(1): 21-36
141. Winkler A.J., Cook J.A. (1974) *General Viticulture*. 4th Edition, University of California Press, Berkley, 740 p.

142. Yue X., Zhao Y., Ma X., Jiao X., Fang Y., Zhang Z., Ju Y. (2020). Effects of leaf removal on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) grapes. *Journal of Science of Food and Agriculture*.101(8):3214-3224
143. Zafrilla P., Morillas-Ruiz J.M., Mulero J., Cayuela J.M. (2003). Changes during Storage in Conventional and Ecological Wine: Phenolic Content and Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(16):4694-700
144. Zhang B., Cai J., Duan C.Q., Reeves M.J., He F.(2015a). A review of polyphenolics in oak woods. *International journal of molecular sciences*, 16(4), 6978-7014
145. Zorić Z., Dragović-Uzelac V., Pedisić S., Kurtanzek Z., Garofulić I.E. (2014). Kinetics of the degradation of anthocyanins, phenolic acids and flavonols during heat treatments of freeze-dried sour cherry Marasca paste. *Food Technology and Biotechnology*. 52(1):101-8.

8. ŽIVOTOPIS

Marina Pavlović rođena je 23.10.1974. godine u Šibeniku. Srednju hotijersko-turističku školu, smjer hotelijersko turistički tehničar pohađala je u Šibeniku. Diplomski studij Voćarstva, vinogradarstva i vinarstva upisuje 1993. godine na Agronomskom fakultetu u Zagrebu. Diplomira 1999. godine pod mentorstvom prof.dr.sc. Edija Maletića na temu diplomskog rada : „ Ampelografska istraživanja cv. Debit, Trebbiano toscano i Trebbiano romagnolo“. 2014. godine na Agronomskom fakultetu upisuje Poslijediplomski doktorski studij Poljoprivredne znanosti.

Od listopada 2001. do svibnja 2011. radi u Badel 1862.d.d., Vinarija Benkovac na radnom mjestu enologa. Od 2011. godine do 2013. godine posjeduje vlastiti obrt, ZM Agro, za savjetovanje u poljoprivredi, prvenstveno u području vinogradarstva i vinarstva.

Od veljače 2013. zaposelna je na Sveučilištu u Zadru na mjestu voditelja Sveučilišnog enološko-pedološkog laboratorija, gdje i danas radi. Uz posao u laboratoriju zadužena je za vinogradarsku i vinarsku proizvodnju na Sveučilišnom dobru Baštica.

Sudjeluje u nastavi na kolegiju Vinogradarstvo i vinarstvo i Terenska nastava, pri Odjelu za ekologiju, agronomiju i akvakulturu, Sveučilišta u Zadru.

Izabrana je u naslovno nastavno zvanje predavača 16.2.2024. na Sveučilištu u Zadru.

Dugogodišnja je članica Povjerenstva za organoleptičko ocjenjivanje vina.

Autorica je ili koautorica na sljedećim radovima:

1. Pavlović, M., Zorić, Z., Marcelić, Š., Šikuten, I., Preiner, D. (2025). Impact of Fruit Zone Leaf Removal on Anthocyanin Stability in Wine During Bottle Ageing. *Food Technology and Biotechnology*. 63
2. Šikuten, I., Tomaz, I., Zovko, M., Romić, D., Pavlović, M., Maletić, E., Karoglan Kontić, J., Preiner, D. (2025). Adaptive response of Babić grape berry skin polyphenols to elevated temperatures and irrigation regimes. *Journal of food composition and analysis*. 142,107513
3. Zorica, M., Vrandečić, K., Minerva, N., Rotondi, A., Pavlović, M. (2025). Does the Zeo-bio preparation affect the qualitative and quantitative properties of wine and olive oil? *Book of Abstracts of 60th Croatian and 20th International Symposium on Agriculture*. 82-82
4. Baričević, M., Vrandečić, K., Sambolek, H., Arko, B., Pavlović, M. AGašparović Pinto, A., Kos, T. (2025). Dvogodišnji rezultati učinkovitosti sredstva na bazi zeolita s bakterijom *Pseudomonas* sp. na vinovoj lozi u Zadarskoj županiji. *Glasilo biljne zaštite* 25, 8-8

5. Marcelić, Š., Gašparović Pinto, A., Franin, K., Kos, T., Zorica, M., Kolega, Š., Pavlović, M., Maričić, B., Šikić, Z. (2024). Stanje i perspektiva poljoprivrede u općini Pakoštane. Znanstveni skup "Pakoštane-Općina na dodiru jezera i mora". 38-38
6. Franin, K., Pavlović, M., Maričić, B. (2023). Artichoke (*Cynara scolymus* L.) pests in the Mediterranean. *Glasnik Zaštite Bilja* 46 (3.), 14-20
7. Maričić, B., Franin, K., Pavlović, M., Kolega, Š., Kos, T., Šikić, Z. (2023). Poljoprivreda u Općini Sveti Filip i Jakov. Znanstveni skup Općina Sveti Filip i Jakov u sjeni povijesnog Rogova, 44-46
8. Maričić, B., Pavlović, M., Matasić, N., Gavić, E., Franin, K. (2022). Horticultural flora of private gardens of the Gacka valley. *Agronomski glasnik: Glasilo Hrvatskog agronomskog društva* 84 (3), 117-142
9. Maričić, B., Radman, S., Marcelić, Š., Franin, K., Pavlović, M., Goreta Ban, S. (2022). Vegetativne karakteristike i prinos graha mahunara (*Phaseolus vulgaris* L.) pod utjecajem vodenog ekstrakta koprive (*Urtica dioica* L.). 57. hrvatski i 17. međunarodni simpozij agronoma/Zbornik sažetaka, 168-169
10. Marcelić, Š., Maričić, B., Pavlović, M., Šikić, Z., Bratanović, M., Kos, T., Šarolić, M. (2022) Morfološke karakteristike sorte masline lokalnog naziva 'Mašnjača' na području Općine Starigrad
11. Franin, K., Kuštera Franin, G., Maričić, B., Marcelić, Š., Pavlović, M., Kos, T., Barić, B., Laznik, Ž. (2021). True bugs (Heteroptera) assemblage and diversity in the ecological infrastructures around the Mediterranean vineyards. *Bulletin of insectology* 74 (1)
12. Kos, T., Pavlović, M., Kolega, Š., Franin, K., Marcelić, Š. (2019). Učinkovitost i ekonomska opravdanost suzbijanja *Planococcus ficus* (Signoret, 1875) (Nadfam: Coccoidea) na vinovoj lozi na sorti Chardonnay u Ravnim kotarima. *Fragmenta phytomedica* 33 (4), 73-85
13. Marcelić, Š., Dujmović, A., Franin, K., Pavlović, M., Maričić, B., Kos, T., Finka, A. (2019). Utjecaj podloge 'Oblice' na vegetativni rast precijepljenih sorti maslina (*Olea europaea* L.) u Zadarskoj županiji. 54. hrvatski i 14. međunarodni Simpozij Agronoma, 262-263
14. Pavlović, M., Fantov, T., Dević, S., Marcelić, Š., Franin, K., Kos, T. (2019). The effectiveness of various measures for suppression of scale insect *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Coccoidea) on grapevine (*Vitis vinifera* L.) variety "Chardonnay 15th International Symposium on Scale Insect Studies, 72-72

15. Pavlović, M., Zorić, Z., Pedisić, S., Preiner, D. (2018). Influence of early and late fruit zone leaf removal on the dynamics of anthocyanin accumulation in cv. Merlot in North Dalmatia. Proceedings of 9th International CONGRESS of Food Technologists, biotechnologists and Nutritionists. 60-64
16. Pavlović, M., Lončar, J., Jakopović, Ž., Frece, J., Markov, K., Zjalić, S. (2018). Prisutnost okratoksigenih gljivica u vinogradima Sjeverne i Srednje Dalmacije. Zbornik sažetaka, 268-268
17. Zjalić, S., Frece, J., Pavlović, M., Jakopović, Ž., Markov, K.. (2017). Procjena rizika kontaminacije vina okratoksinom A.