

Utjecaj soja kvasca na senzorska svojstva i sastav hlapljivih spojeva vina Pošip

Jurišić, Andrea

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:108345>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-19**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
DIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

**UTJECAJ SOJA KVASCA NA SENZORSKA SVOJSTVA
I SASTAV HLAPLJIVIH SPOJEVA VINA POŠIP**

DIPLOMSKI RAD

ANDREA JURIŠIĆ

Matični broj: 2

Split, listopad, 2021.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
DIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

UTJECAJ SOJA KVASCA NA SENZORSKA SVOJSTVA
I SASTAV HLAPLJIVIH SPOJEVA VINA POŠIP

DIPLOMSKI RAD

ANDREA JURIŠIĆ

Matični broj: 2

Split, listopad, 2021.

UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
GRADUATED STUDY OF FOOD TECHNOLOGY

**INFLUENCE OF YEAST STRAINS ON SENSORY
PROPERTIES AND COMPOSITION OF VOLATILE
COMPOUNDS OF POŠIP WINE**

DIPLOMA THESIS

ANDREA JURISČIĆ

Parent number: 2

Split, October, 2021.

TEMELJNA DOKUMENTACIJA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet
Diplomski studij prehrambene tehnologije

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Tema rada je prihvaćena na 6. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta.

Mentor: Doc. dr. sc. Mladenka Šarolić

Pomoć pri izradi: Istraživač i izvanredni profesor Luis Noguera Artiaga

Utjecaj soja kvasca na senzorska svojstva i sastav hlapljivih spojeva vina Pošip

Andrea Jurišić, 2

Sažetak:

Pošip je bijela sorta grožđa koja se uglavnom uzgaja na južnim dijelovima otoka Korčule, osobito na području Čare i Smokvice gdje daje vino vrhunske kvalitete čemu svjedoče brojne nagrade i priznanja. Vino je osebujnog okusa sa svojstvenim aromama suhих marelica i smokava, blistavo, slamnate-zlatnožute boje. U posljednje vrijeme proizvođači rade brojne eksperimente kako bi utvrdili optimalne uvjete za provedbu fermentacije i odabrali odgovarajući soj kvasaca kojima bi se postigao maksimum sortnih i sekundarnih aroma i u konačnici visokokvalitetan proizvod. U ovom radu su korištena dva vina sorte Pošip koja su proizvedena s različitim kvascima. Za određivanje razlike utjecaja različitih sojeva kvasaca provedena je senzorska analiza i izolacija hlapljivih organskih spojeva mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME). Aromatični profil uzoraka vina Pošip određen je vezanim sustavom plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS). Najveći intenziteti mirisnih i okusnih obilježja u vinima su bili „voćno“ i „cvjetno“. Uzorak X-16 imao je nešto veće intenzitete „voćnosti“ dok su „cvjetni“ intenziteti bili viši u uzorku X-5. Najzastupljeniji spojevi u oba uzorka vina su spojevi sekundarne arome. U skupini estera dominiraju etilni esteri viših masnih kiselina (2-metilbutil-oktanoat, etil-heksadekanoat, etil-dec-9-enoat, etil-tetradekanoat, etil-linoleat). Najviši udio u oba uzorka vina imao je ester 2-metilbutil-oktanoat čiji je senzorski opis „voćno“. U uzorku X-16 utvrđen je viši udio izoamil-acetata što se može dovesti u korelaciju s rezultatima senzorske analize gdje su obilježja „voćnosti“ viših intenziteta u uzorku X-16. Dobiveni rezultati pokazuju kako različiti kvasci različito doprinose aromi vina.

Ključne riječi: Pošip, senzorska svojstva, hlapljivi spojevi, HS-SPME,, GC-MS

Rad sadrži: 66 stranica, 20 slika, 6 tablica, 55 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav povjerenstva za obranu:

- | | |
|--|-------------|
| 1. Izv. prof. dr. sc. Ani Radonić - | predsjednik |
| 2. Doc. dr. sc. Zvonimir Marijanović - | član |
| 3. Doc. dr. sc. Mladenka Šarolić - | član-mentor |

Datum obrane: 27. 10. 2021.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf formatu) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta, Split, Ruđera Boškovića 35.

BASIC DOCUMENTATION CARD

DIPLOMA THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Graduate study of Food Technology

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 6.
Mentor: Mladenka Šarolić, PhD, assistant professor
Technical assistance: Researcher and Associate professor Luis Noguera-Artiaga

Influence of yeast strains on sensory properties and composition of volatile compounds of Pošip wine

Andrea Jurišić, 2

Abstract:

Pošip is a white grape variety that is mainly grown in the southern parts of the island of Korčula, especially in the area of Čara and Smokvica, where it produces top quality wine, as evidenced by numerous awards. The wine has a distinctive taste with its aromas of dried apricots and figs, bright, straw-golden yellow in color. Recently, producers have been conducting numerous experiments to determine the optimal conditions for fermentations and to select the appropriate yeast strain that would achieve the maximum of sorted and secondary aromas and ultimately a high quality product. In this paper, two Pošip wines produced with different yeast strains were used. To determine the influence of different yeast strains, sensory analysis and isolation of volatile organic compounds by headspace solid phase microextraction (HS-SPME) were performed. The aromatic profile of Pošip wine samples was determined by the coupled gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) system. The highest intensities of fragrant and tasty attributes in the wines were "fruity" and "floral". The X-16 sample had slightly higher "fruitiness" intensities while the "floral" intensities were higher in the X-5 sample. The most common compounds in both wine samples are secondary aroma compounds. The group of esters is dominated by ethyl esters of higher fatty acids (2-methylbutyl octanoate, ethyl hexadecanoate, ethyl-dec-9-enoate, ethyl tetradecanoate, ethyl linoleate). The highest share in both wine samples had the ester 2-methylbutyl octanoate, whose sensory description is "fruity". A higher content of isoamyl acetate was found in the X-16 sample, which can be correlated with the results of sensory analyzes where the "fruitiness" of higher intensities in the X-16 sample was marked. The obtained results showed how different yeast strains contribute differently to the aroma of wine.

Keywords: Pošip, sensory properties, volatile compounds, HS-SPME,, GC-MS

Thesis contains: 66 pages, 20 figures, 6 tables, 55 references

Original in: Croatian

Defence committee:

- | | |
|---|--------------|
| 1. Ani Radonić, PhD, associate professor | chair person |
| 2. Zvonimir Marijanović, PhD, assistant professor | member |
| 3. Mladenka Šarolić, PhD, assistant professor | supervisor |

Defence date: 27. 10. 2021.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

Diplomski rad je izrađen u Zavodu za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju, Kemijsko – tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Mladenke Šarolić, i Sveučilištu Miguel Hernandez u Španjolskoj uz pomoć istraživača i izvanrednog profesora Luis Noguera Artiaga u razdoblju od siječnja do listopada 2020. godine.

Zahvaljujem se doc. dr. sc Mladenki Šarolić i istraživaču Luis Noguera Artiaga, na strpljenju i objašnjenima koje su mi uvelike olakšali izradu diplomskog rada.

Posebna zahvala ide mojim roditeljima i sestri koji su vjerovali u mene i pomogli da ostvarim svoje želje i ciljeve.

Zahvaljujem se svim kolegama i prijateljima koje su mi vrijeme provedeno na fakultetu učinili boljim.

I za kraj, želim se zahvaliti Claudiu, Ireni i Sarah koji su vrijeme provedeno u Španjolskoj učinili nezaboravnim, svatko na svoj način posebno.

ZADATAK DIPLOMSKOG RADA

- Provesti senzorsku analizu na uzorcima vina Pošip proizvedenim korištenjem dvaju različitih kvasaca te utvrditi utjecaj soja kvasca na senzorska obilježja vina.
- Izolirati hlapljive spojeve iz uzoraka vina Pošip primjenom mikroekstrakcije vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME).
- Identificirati izolirane hlapljive spojeve primjenom vezanog sustava plinske kromatografije–spektrometrije masa (GC-MS) te utvrditi utjecaj soja kvasca na profil hlapljivih spojeva.

SAŽETAK

Pošip je bijela sorta grožđa koja se uglavnom uzgaja na južnim dijelovima otoka Korčule, osobito na području Čare i Smokvice gdje daje vino vrhunske kvalitete čemu svjedoče brojne nagrade i priznanja. Vino je osebujnog okusa sa svojstvenim aromama suhih marelica i smokava, blistavo, slamnate-zlatnožute boje. U posljednje vrijeme proizvođači rade brojne eksperimente kako bi utvrdili optimalne uvjete za provedbu fermentacije i odabrali odgovarajući soj kvasaca kojima bi se postigao maksimum sortnih i sekundarnih aroma i u konačnici visokokvalitetan proizvod. U ovom radu su korištena dva vina sorte Pošip koja su proizvedena s različitim kvascima. Za određivanje razlike utjecaja različitih sojeva kvasaca provedena je senzorska analiza i izolacija hlapljivih organskih spojeva mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME). Aromatični profil uzoraka vina Pošip određen je vezanim sustavom plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS). Najveći intenziteti mirisnih i okusnih obilježja u vinima su bili „voćno“ i „cvjetno“. Uzorak X-16 imao je nešto veće intenzitete „voćnosti“ dok su „cvjetni“ intenziteti bili viši u uzorku X-5. Najzastupljeniji spojevi u oba uzorka vina su spojevi sekundarne arome. U skupini estera dominiraju etilni esteri viših masnih kiselina (2-metilbutil-oktanoat, etil-heksadekanoat, etil-dec-9-enoat etil-tetradekanoat, etil-linoleat). Najviši udio u oba uzorka vina imao je ester 2-metilbutil-oktanoat čiji je senzorski opis „voćno“. U uzorku X-16 utvrđen je viši udio izoamil-acetata što se može dovesti u korelaciju s rezultatima senzorske analize gdje su obilježja „voćnosti“ viših intenziteta u uzorku X-16. Dobiveni rezultati pokazuju kako različiti kvasci različito doprinose aromi vina.

Ključne riječi: Pošip, senzorska svojstva, hlapljivi spojevi, HS-SPME, GC-MS

SUMMARY

Pošip is a white grape variety that is mainly grown in the southern parts of the island of Korčula, especially in the area of Čara and Smokvica, where it produces top quality wine, as evidenced by numerous awards. The wine has a distinctive taste with its aromas of dried apricots and figs, bright, straw-golden yellow in color. Recently, producers have been conducting numerous experiments to determine the optimal conditions for fermentations and to select the appropriate yeast strain that would achieve the maximum of sorted and secondary aromas and ultimately a high-quality product. In this paper, two Pošip wines produced with different yeast strains were used. To determine the influence of different yeast strains, sensory analysis and isolation of volatile organic compounds by headspace solid phase microextraction (HS-SPME) were performed. The aromatic profile of Pošip wine samples was determined by the coupled gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) system. The highest intensities of fragrant and tasty attributes in the wines were "fruity" and "floral". The X-16 sample had slightly higher "fruitiness" intensities while the "floral" intensities were higher in the X-5 sample. The most common compounds in both wine samples are secondary aroma compounds. The group of esters is dominated by ethyl esters of higher fatty acids (2-methylbutyl octanoate, ethyl hexadecanoate, ethyl-dec-9-enoate, ethyl tetradecanoate, ethyl linoleate). The highest share in both wine samples had the ester 2-methylbutyl octanoate, whose sensory description is "fruity". A higher content of isoamyl acetate was found in the X-16 sample, which can be correlated with the results of sensory analyzes where the "fruitiness" of higher intensities in the X-16 sample was marked. The obtained results showed how different yeast strains contribute differently to the aroma of wine.

Keywords: Pošip, sensory properties, volatile compounds, HS-SPME, GC-MS

SADRŽAJ

UVOD	1
1. OPĆI DIO	2
1.1. Vino	3
1.1.1. Pošip	3
1.2. Tehnologija proizvodnje bijelog vina.....	5
1.2.1. Berba grožđa	6
1.2.2. Runjanje-muljanje	6
1.2.3. Tiještenje (prešanje).....	6
1.2.4. Taloženje-rasluzivanje	6
1.2.5. Fermentacija	7
1.2.6. Otvoreni pretok.....	7
1.2.7. Bistrenje i stabilizacija	8
1.2.8. Flaširanje vina	8
1.3. Sur lie tehnologija	8
1.4. Kvasci.....	10
1.4.1. Zymaflore ® X-5	11
1.4.2. Zymaflore ® X-16	11
1.5. Aroma vina	12
1.5.1. Primarna aroma	12
1.5.2. Sekundarna aroma	13
1.5.3. Tercijarna aroma ili aroma starenja	15
1.6. Senzorska svojstva vina.....	15
1.7. Senzorska analiza vina	18
1.8. Izolacija hlapljivih spojeva	22
1.8.1. Ekstrakcija tekuće-tekuće	23
1.8.2. Sorpcijske tehnike.....	23
1.9. Analiza hlapljivih spojeva	25
1.9.1. Plinska kromatografija	25
1.9.2. Spektrometrija masa	26
1.9.3. Vezani sustav plinska kromatografija-spektrometrija masa	27
2. EKSPERIMENTALNI DIO.....	28
2.1. Materijali	29
2.2. Kemikalije i aparatura	30
2.3. Metode	31

2.3.1. Senzorska analiza	31
2.3.2. Izolacija hlapljivih spojeva	34
2.3.3. Analiza hlapljivih spojeva.....	35
2.3.4. Statistička obrada.....	36
3. REZULTATI	37
3.1. Senzorska analiza uzoraka vina Pošip.....	38
3.2. GC-MS analiza hlapljivih spojeva vina Pošip	39
4. RASPRAVA.....	48
5. ZAKLJUČAK.....	58
6. LITERATURA	61

UVOD

Preporod hrvatskog vinarstva najkraći je opis kojim se opisuje razdoblje započeto krajem prošlog i naraslo početkom ovog stoljeća. U tom razdoblju naglasak s uroda i količina prešao je na kakvoću. Oko 20 tisuća hektara vinograda rasprostire se u četiri temeljne vinske regije: Slavonija i hrvatsko Podunavlje, bregovita Hrvatska, Istra i Kvarner i Dalmacija. Ishodište vinske civilizacije na području današnje Hrvatske smješteno je u Dalmaciji. Prve otočke vinograde na Visu i Hvaru posadili su grčki kolonizatori u stoljećima prije Krista. Hrvati su se nastanili na to područje u sedmom stoljeću i brzo prihvatili bogato nasljeđe vinogradarstva i vinarstva koje su zatekli. Prvi vinski položaj zaštićeni su na poluotoku Pelješcu šezdesetih godina prošlog stoljeća. Najprije to bio Dingač, potom i Postup. Plavac mali s ovih spektakularnih vinograda stekao je kulturni status i danas se smatra jednim od najcjenjenijih hrvatskih vina uopće. Vodeća dalmatinska bijela sorta u novoj ponudi je svakako Pošip koji se odlično uklopio u potražnju za pitkim vinima s elegantnim mineralnim akcentima. Dalmacija općenito prednjači brojem autohtonih vinskih sorti, osobito onih koji otvaraju put ne samo prema dobrim nego i vrhunskim vinima.¹

Mnogi čimbenici doprinose u uživanju vina, no aroma je među najvažnijim. Pod pojmom aroma podrazumijeva se impresija okusnih i mirisnih komponenti vina. Aroma vina predstavlja složenu smjesu velikog broja hlapljivih spojeva te je rezultat interakcije između kemijskog sastava vina sa osjećajem okusa i mirisa kod konzumenata vina.²

1. OPĆI DIO

1.1. Vino

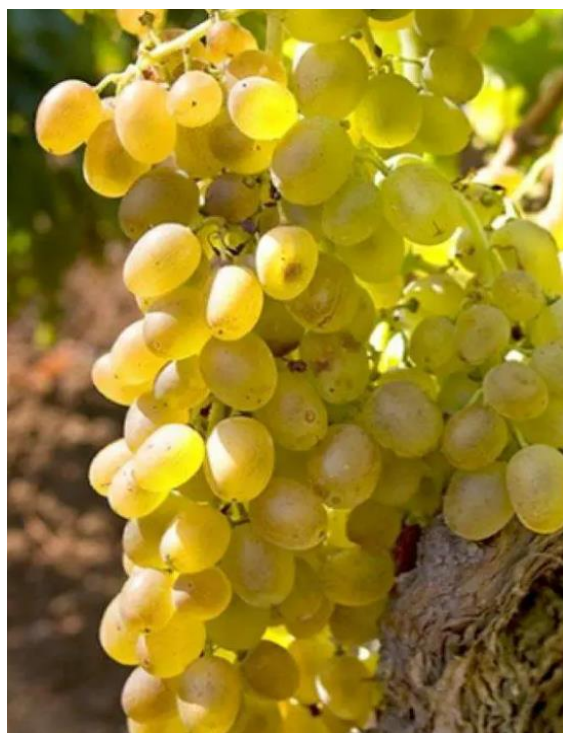
Vino je poljoprivredni prehrambeni proizvod, dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta, od svježeg i za preradu pogodnog grožđa. Vina se razvrstavaju u kategorije kvalitete ovisno o kakvoći prerađenog grožđa, prirodu po hektaru, stupnju zrelosti grožđa, prerade i njege, randmanu, količini prirodnog alkohola i drugih sastojaka te organoleptičkim (senzorskim) svojstvima.²

1.1.1. Pošip

Pošip (slika 1) je autohtona bijela sorta grožđa koja se uzgaja na južnom dijelu otoka Korčule, gdje uvijek daje vrhunsku kvalitetu. Najbolje uspijeva na zaklonitim položajima Čare i Smokvice na otoku Korčuli. U posljednje vrijeme širi se i u druga područja Dalmacije – Pakleni otoci, Hvar, Pelješac, Ravni kotari, Brač i na padine Biokova kod Brela.²

Smatra se da naziv ove sorte dolazi od ušiljenog oblika njezinih bobica koje je Korčulane podsjetio na šiljasti vrh ratarske alatke u narodu zvan „šip“. Analizom DNA utvrdilo se kako je Pošip autohtona sorta otoka Korčule, nastala kao spontani križanac Bratkovine bijele i Zlutarice blatske bijele. Pošip se uglavnom prerađivao s ostalim bijelim sortama, no 1967. godine vino Pošip iz berbe 1965. zaštićeno je kao prvo vrhunsko vino s područja tadašnje države.^{2,3}

Vinima sorte Pošip svojstvena su svjetlija žuta do zlatnožuta boja te vrlo ugodne arome koja podsjećaja na suhe marelice i smokve. Ovisno o vinogradarskom položaju, godini berbe i primijenjenoj tehnologiji vinifikacije aroma vina može varirati. Vina su najčešće suha, srednje do jako alkoholna, dobre strukture i bogata ekstraktom, ugodne svježine i kiselosti (tablica 1).^{2,4}



Slika 1. Pošip⁵

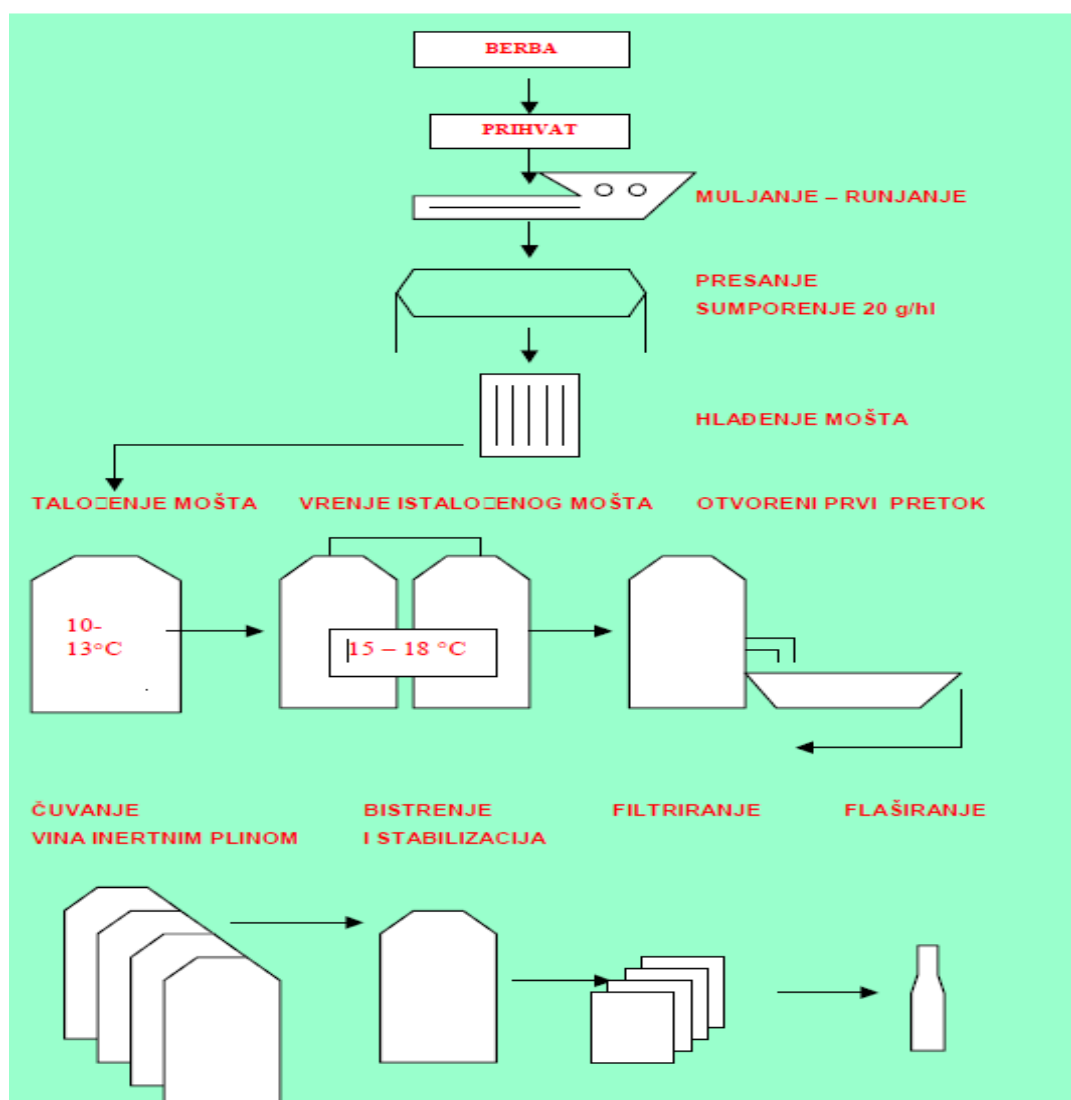
Tablica 1. Minimalne i maksimalne količine bitnih sastojaka vina Pošip⁶

	Minimalne	Maksimalne
Alkohol	13,05	15,93 vol%
Ukupni ekstrakt	22,4	32,3 g/L
Šećer	1,00	5,45 g/L
Ekstrakt bez šećera	22,4	28,66 g/L
Ukupne kiseline (kao vinska)	5,3	7,95 g/L
Isparljive kiseline	0,48	0,82 g/L
Pepeo	1,60	2,29 g/L
Slobodna vinska kiselina	1,09	2,54 g/L
Glicerol	8,07	12,28 g/L
Fosforna kiselina	0,32	0,51 g/L
Ukupni alkalitet pepela	16,0	25,0 g/L

1.2. Tehnologija proizvodnje bijelog vina

Govoriti o bijelim vinima odnosno tehnologiji proizvodnje bijelih vina znači govoriti o jednoj jakoj profinjenoj i senzibilnoj tehnologiji. Vinifikacija bijelih vina u današnje vrijeme podrazumijeva nove stručne i tehnološke pojmove, modernu opremu i ne dopušta ni najmanje pogreške. Shematski prikaz tehnologije proizvodnje bijelih vina dan je na slici 2.

Kod bijelih vina vinifikacija je u jednoj ravnoteži. Bijela vina trebaju biti proizvedena bez ili s vrlo kratkom maceracijom, u pravilu ne dobivaju na kvaliteti dugogodišnjim čuvanjem (neka vina postignu svoj optimum nakon par mjeseci čuvanja), tanjeg su tijela, mogu se konzumirati mimo obroka i zahtijevaju serviranje na nižim temperaturama.⁷



Slika 2. Shematski prikaz tehnologije proizvodnje bijelih vina⁸

1.2.1. Berba grožđa

Prerada grožđa ne započinje u podrumu već u vinogradu berbom grožđa. Berba grožđa obuhvaća niz važnih zahvata, počevši od pripreme za berbu pa sve do prijevoza ubranog grožđa na mjesto prerade. Berba započinje kad grožđe dostigne punu zrelost, jer tada dolaze do izražaja njegova sortna svojstva. Samo od tehnološki zrelog i zdravog grožđa mogu se očekivati i vina visoke kvalitete. Berba prije pune zrelosti može imati za svrhu dobivanje svježijih i laganijih vina. Zrelost grožđa najčešće se određuje organoleptički, po izgledu, te fizikalnim metodama i kemijskom analizom.⁹

1.2.2. Runjanje-muljanje

Ove operacije se provode kako bi se odvojile bobice od peteljke (runjanje) te se potom bobice gnječe (muljanje) kako bi se izdvojio groždani sok (mošt). Zgnječeno grožđe-čvrsti i tekući dio zajedno naziva se masulj, a samo tekući dio naziva se groždani sok ili mošt. Nakon runjanja i muljanja grožđa, masulj se obično preša, iako se kod aromatičnih sorti preporučuje maceracija masulja nekoliko sati, kako bi mirisni spojevi iz kožice prešli u sok. Maceracija bijelog masulja treba se odvijati na niskim temperaturama (9-12 °C), jer se pri višim temperaturama ekstrahiraju u sok i spojevi iz koštice i ostatka peteljkovine, koji nisu poželjni u vinu. Kako bi se izvukla ciljana aroma iz kožice mogu se dodati i enzimski preparati.¹⁰

1.2.3. Tiještenje (prešanje)

Nakon muljanja i runjanja grožđa slijedi tiještenje (prešanje) neprovrelog ili provrelog masulja. Jedna od osnova buduće kakvoće vina, osim svojstava sorte, je tiještenje. Potrebno je pristupiti tiještenju masulja što prije, a trajanje ciklusa mora biti što kraće kako bi se spriječila nepoželjna oksidacija masulja i mošta. Tiještenje s povećanim pritiskom u cilju dobivanja većeg randmana nije poželjno, jer ide na štetu kakvoće mošta i vina. U tijeku prerade grožđa 40-70% mošta dobije se postupcima koji prethode tiještenju (muljanje-cijeđenje), a tiještenjem se dobije ostatak mošta.⁷

1.2.4. Taloženje-rasluzivanje

Nakon prešanja mošt se sumpori kako bi se spriječile oksidativne promjene, onemogućio rad spontane mikroflore, bakterija i loših kvasaca. Brzina prerade i zaštita mošta od oksidacije, odstranjivanje sveukupnih nečistoća prije vrenja, uvjet je za proizvodnju bijelog vina svijetložute do zelenkasto žute boje te čistog vinskog okusa i mirisa. Moštovi od bolesnog grožđa, s nižim sadržajem kiselina i višim temperaturama,

jače se sumpore nego moštovi od zdravog grožđa i s višim kiselinama. Nakon sumporenja, vino se taloži 12-24 sata, kako bi se eliminirala većina nepoželjnih sastojaka iz mošta. Poželjno je moštove prilikom taloženja hladiti, zbog boljeg uspjeha taloženja te je na taj način moguće primijeniti i manju količinu sumpora. Postoje i drugi načini provedbe taloženja korištenjem enzima radi sigurnijeg i bržeg taloženja, te dodatkom nekih bistrila.⁷

1.2.5. Fermentacija

Pravilno provedena fermentacija jedan je od osnovnih čimbenika koji uvjetuje kvalitetu vina. Nakon provedenog pročišćavanja, mošt se pretače u čistu bačvu i spreman je za alkoholnu fermentaciju. Uzročnik alkoholnog vrenja u vinu je jednostanično živo biće, vinski kvasac. Alkoholna fermentacija je biokemijski proces, koji se odigrava u stanicama kvasca, kojim iz šećera kao krajnji produkt nastaje alkohol, CO₂ i toplina, uz formiranje puno drugih takozvanih sekundarnih sastojaka.¹¹

Najpovoljnija temperatura za vrenje bijelog mošta je 16-18 °C. Pri tim temperaturama vrenje je tiho, dobivaju se vina s više aromatičnih tvari u okusu, svojstvena sorti grožđa od koje potječu, harmonična, s niskim sadržajem hlapljive kiseline i s više otopljenog CO₂, što pridonosi svježini vina.¹²

Nakon završetka vrenja volumen mladog vina se smanjuje zbog hlapljenja alkohola te sniženja temperature. Kako se bačve nikad ne pune moštom do vrha, ostaje prazni prostor koji pogoduje razvoju različitih bolesti i mana vina. Danas se uglavnom vina čuvaju u inox cisternama pa se ovisno o tipu posude kontakt vina s kisikom sprječava vazelinskim uljem ili zračnicom u manjim tankovima, kao i inertnim plinom (dušik ili argon) u velikim zatvorenim posudama.¹¹

1.2.6. Otvoreni pretok

Zdrava vina najčešće se pretaču otvoreno, no vina u kojima se želi očuvati miris pretaču se bez pristupa zraka. Otvorenim pretokom potiče se hlapljenje ugljikovog dioksida (CO₂), a određena količina kisika povoljno djeluje na biokemijske procese za dozrijevanje vina. U svrhu eliminiranja neugodnih mirisa npr. sumporovodika (miris na trula jaja), viška slobodnog sumporovog dioksida (SO₂) ili pak odstranjivanja bolesti ili mana vina obavlja se otvoreni pretok.¹³

1.2.7. Bistrenje i stabilizacija

Bistrenje vina obavezni je postupak nakon prvog pretoka, a u njemu se provodi stabilizacija vina na bjelančevine. Bistrilo koje se najčešće upotrebljava je bentonit. Bentonit osim što stabilizira vino na termolabilne bjelančevine, odstranjuje nestabilne polifenole, smanjuje pojavu posmeđivanja i lomova u vinu te može apsorbirati ostatke pesticida.¹⁴

Stabilizacija je niz postupaka kojima se priprema vino za punjenje u bocu i priprema za tržište, a cilj joj je spriječiti mutnoću i taloženje pojedinih sastojaka vina. Glavni uzroci nestabilnosti u vinu su dušične tvari (bjelančevine), boje i tanini (polifenoli), mikroorganizmi (kvasci i bakterije) te soli kiselina i kiseline. Do punjenja vina u boce potrebno je procese nestabilnosti vina eliminirati ili svesti na minimum.¹⁵

1.2.8. Flaširanje vina

Flaširanje predstavlja završni korak u procesu proizvodnje vina. U trenutku flaširanja vino mora biti savršeno bistro i stabilno. Bitno je naglasiti da je potrebno najmanje 15 dana od posljednjeg pretakanja do flaširanja. Također, flaširanjem se bolje čuva i kvaliteta vina.¹⁶

1.3. Sur lie tehnologija

Sur lie je tradicionalna tehnologija Burgundije za sortu Chardonnay poznatija pod nazivom *battonage*. Kvaliteta vina odnjegovanih na talogu kvasaca ovisi o duljini miješanja vina s kvascem te tipu i starosti bariknih bačvica.¹⁸

Nakon muljanja i runjanja masulj se ocjeđuje, a odvojena samotočna frakcija mošta se sumpori i najčešće stacionarno taloži. Preporučljivo je nakon otakanja mošta s grubog taloga dodati selekcionirane starter kulture kvasaca i mliječno kisele bakterije u svrhu dobrog protjecanja alkoholne fermentacije i potpune razgradnje šećera te jabučne kiseline. Nakon završene fermentacije vina se otaču s grubog taloga i ponovno vraćaju u barikne bačvice bez sumporenja.²

Razlikuje se fini i grubi talog u vinu nakon završene fermentacije. Grubi talog sastoji se od dijelova kožice i mesa, aglomerata kristala soli vinske kiseline, kvasaca, pigmentata, istaloženih tanina, koloidnih čestica stvorenih reakcijama između proteina, polisaharida i tanina tijekom maceracije te bistrila uporabljenih prije fermentacije. Provedbom pravilne tehnologije proizvodnje bijelih vina talog može biti fantastičan

izvor pozitivnih svojstava. Kako bi se izbjegli negativni ishodi taloga potrebno je uklanjanje krutog dijela iz preše, pravilno vođenje predfermentativnih postupaka, upotreba hranjivih tvari, svakodnevno miješanje cijelog taloga i kontrola temperature fermentacije. Tako dobiveni talog i pravilno upravljanje njime ima mnoge pozitivne učinke za vino. Tijekom dozrijevanja vina u bariknim bačvicama (*barrique*) uz miješanje s talogom kvasca protječe malolaktična fermentacija i autoliza kvašćevih stanica. Stjenka stanice kvasca *Saccharomyces cerevisiae* većinom je sastavljena od β -glukana i manoproteina koji se oslobađaju tijekom odležavanja vina na talogu kao rezultat enzimske hidrolize djelovanjem enzima β -glukanaze. Proteini autolize pomažu zaokružiti i ublažiti potencijalnu oštrinu koju tanini mogu ponekad stvarati u vinima. Rad s proteinima je vrlo moćan alat koji vinari mogu koristiti za podizanje kvalitete svojih vina. Aminokiseline se oslobađaju enzimskom hidrolizom proteina kvasaca. Poznato je da aminokiseline kao prekursori okusa povećavaju njegovu kompleksnost, ali i zdravstvenu vrijednost vina. Poslije završenog miješanja s talogom kvasaca vino se slabije sumpori i nakon sedimentiranja taloga otače ponovno u barik bačve u kojem ga proizvođači najčešće ostavljaju do sljedeće berbe. Prije punjena u boce potrebno je provjeriti stabilnost na bjelančevine i tartarate te prema potrebi tretirati minimalnom dozom bentonita.

Vina proizvedena ovom tehnologijom prirodno su fizikalno-kemijski stabilna na taloženje. Razlog ove prirodne stabilizacije su manoproteini. Miješanjem vina s talogom kvasaca oslobađaju se reduktivni spojevi te su vina otporna na oksidacije i stabilne su boje i mala je potreba za sumporenjem. Vina *sur lie* tehnologije su stabilna na tartarate te u pravilu nije potrebna hladna stabilizacija, ne dolazi do taloženja bjelančevina te nema potrebe za bistrenje bentonitom. Negativan učinak na kvalitetu vina može se odraziti ukoliko se koriste stare bačvice koje su zbog preduge uporabe manje propusne za kisik te može doći do pojačane razine octene kiseline, acetaldehida te pojave sumporovodika i tiola.²

Iskustvo je pokazalo kako sortna odnosno voćna aroma postaje intenzivnija dozrijevanjem vina na talogu kvasca. Talog kvasca modificira arome hrastovine jer dolazi do vezanja s komponentama deriviranim iz drveta. Karakteristični spoj ekstrahiran iz hrastovine je *whisky* ili hrastov lakton koji daje aromu nalik na kokos, svježe drvo i breskvu. Prepoznatljiva aroma u vinima *sur lie* tehnologije je vanilin koji je glavni spoj arome u plodu vanilije, a prisutan je u sirovoj hrastovini. Eugenol i

gvajakol su značajne komponente koje se ekstrahiraju iz hrastovine, a daju vinu aromu začina. Razgradnjom lignina hrastovine pri visokim temperaturama nastaju gvajakol i 4-metilgvajakol koji imaju aromu dima. Karamelizacijom celuloze i hemiceluloze nastaje furfural i 5-metilfurfural koji vinu daju slatku aromu što podsjeća na maslac, kavu, prženi badem, karamel.^{2,19}

Za okus vina *sur lie* tehnologije karakterističan je i peti okus *umami*. To je okus koji najjasnije i najjednostavnije govori potrošaču ,je li vino dobro ili nije. Vina *sur lie* tehnologije su puna, zaobljena, harmonična, dobro strukturirana i mekana okusa, zahvaljujući manoproteinima i aminokiselinama ekstrahiranim iz stanica kvasca.²

1.4. Kvasci

Povezanost između kvasca i fermentacije prvi je otkrio Luis Pasteur. Kvasci su sitni živi organizmi, nevidljivi golim okom i bez njih proizvodnja vina i sličnih pića ne bi bila moguća. Dijele se na rodove, sojeve i vrste. Za vinarsku praksu najznačajniji su kvasci iz roda *Saccharomyces*, a dijele se na autohtone i selekcionirane kvasce.²⁰

Selekcionirani vinski kvasci

Kod moderne proizvodnje vina danas se koriste selekcionirani vinski kvasci. To su odabrani kvasci s bobice grozda izolirani posebnim postupkom i razmnoženi u sterilnom moštu u mikrobiološkim laboratorijima. Kvasci se razmnožavaju pupanjem te od stanice majke nastaje stanica kćer koja se isto tako dalje razmnožava, pa je to razmnožavanje relativno brzo. Izabiru se najbolji kvasci namijenjeni specifičnim uvjetima fermentacije ili za isticanje sortnih svojstava budućeg vina. Dobivena smjesa kvasaca u obliku paste se suši te se sušena plasira na tržište. Izolirani kvasci se dalje razmnožavaju u većoj količini mošta.²¹

Enološki najznačajnija vrsta kvasaca je *Saccharomyces cerevisiae*. Ovi kvasci prolaze fazu razmnožavanja u aerobnim uvjetima, alkoholnu fermentaciju u anaerobnim uvjetima i fazu razgradnje. Optimalna temperatura za razmnožavanje kvasaca je 25-27 °C. Kvasci *Saccharomyces cerevisiae* imaju jaku sposobnost razgradnje šećera pri pH 2,8 i 4,0 te sojevi ove vrste mogu stvoriti do 17% vol. alkohola. Kako bi kvasci mogli završiti alkoholnu fermentaciju potrebnu energiju dobivaju metabolizirajući potrebne nutrijente, prvenstveno šećere i asimilacijske oblike dušičnih spojeva.²

Autohtoni vinski kvasci

Autohtona mikroflora je različita pa uz „plemenite“ kvasce ima i „divljih“ ili *Apiculatus* kvasaca. Divlji kvasci koji pripadaju rodovima ne-*Saccharomyces* kvasaca nalaze se u vinogradu i u samom grožđu te se šire zračnim strujama, pticama te insektima. U vinogradu su uz *Apiculatus* kvasce u znatno manjoj mjeri prisutni i različiti sojevi *Saccharomyces cerevisiae*. Najzastupljeniji divlji kvasac je *Kloeckera apiculata*. Negativno utječu na kvalitetu vina jer imaju sposobnost sinteze etil-acetata, prvi započinju fermentaciju no već pri stvaranju 5% vol. alkohola odumiru.^{2,20}

1.4.1. Zymaflore® X-5

Zymaflore® X-5 (proizvođača Laffort) je selekcionirani soj kvasca *Saccharomyces cerevisiae* za proizvodnju bijelih i rose vina s visokim aromatičnim intenzitetom. To je soj kojim se postiže visoki sadržaj sortnih aroma tiolnog tipa koje se opisuju kao šimšir, agrumi, tropsko voće i visoki sadržaj fermentacijskih aroma odgovornih za voćne i cvjetne arome. Soj ovog kvasca jamči sigurnost fermentacije čak i pod teškim uvjetima mutnoće (< 50 NTU) i niske temperature. Prilagođava se temperaturama nižim od 13 °C te može tolerirati alkohol do 16% vol. Ima srednje do visoku potrebu za dušikom tijekom alkoholne fermentacije. Preporučena doza (20-30 g/hl), način doziranja, temperatura te higijenski uvjeti su od iznimne važnosti za uspješnu primjenu ovog kvasca.²²

1.4.2. Zymaflore® X-16

Zymaflore® X-16 (proizvođača Laffort) je selekcionirani soj kvasca *Saccharomyces cerevisiae* koji se koristi za proizvodnju aromatičnih bijelih i rose vina s visokom proizvodnjom fermentacijskih aroma. Osigurava nastanak fermentacijskih estera koji se opisuju kao breskva i žuto voće, zadržavajući oštar i čist aromatični profil. Karakterizira ga osobito brza kinetika fermentacije, tolerancija na alkohol do 16% vol. i mutnoću. Ima niske potrebe za dušikom, osigurava nisku proizvodnju hlapljivih kiselina i H₂S. Ne posjeduju enzim cinamat dekarboksilazu koji je odgovoran za formiranje vinilfenola koji mogu prouzročiti negativne mirise u vinu. Potrebno je poštovati propisanu dozu (20-30 g/hl) kako bi se osigurala pravilna implementacija i učinak ovog kvasca čak i uz prisustvo autohtonih sojeva kvasaca.²³

1.5. Aroma vina

Pod pojmom arome vina podrazumijeva se impresija okusnih i mirisnih komponenti vina. Aroma vina je rezultat interakcije između kemijskog sastava vina sa osjećajem okusa i mirisa kod konzumenata vina.²⁴

Prema podrijetlu aroma vina može se podijeliti u tri skupine:

- primarna aroma koje potječe od grožđa (terpeni, norizoprenoidi, pirazini, hlapljivi tioli),
- sekundarna aroma nastala tijekom alkoholne fermentacije (viši alkoholi, esteri, masne kiseline, aldehidi itd.)
- tercijarna aroma nazvane još i aroma starenja.²⁵

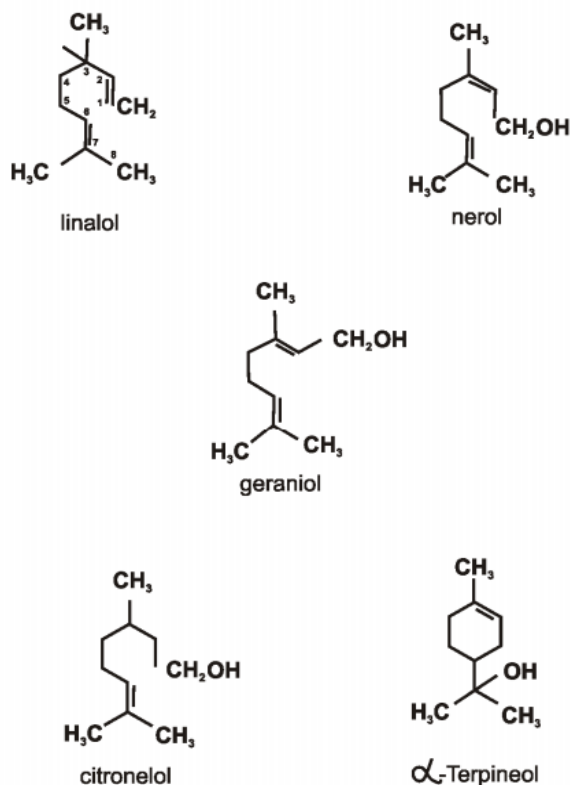
1.5.1. Primarna aroma

Grožđe sadrži spojeve koji su nosioci sortne arome te prekursore aroma. Primarna aroma se formira u grožđu i prelazi u mošt. Karakteristična aroma vina određenog kultivara se pripisuje primarnim aromatičnim spojevima jer ti spojevi prelaze iz grožđa u vino nepromijenjeni i oslobođeni utjecaja fermentacije.

Čimbenici koji utječu na formiranje primarnih aroma su: agroklimatski uvjeti (svjetlo, padaline, temperatura, položaj vinograda, vrsta tla), sorta i stupanj zrelosti grožđa, prinos grožđa, udio spojeva s dušikom koji su ujedno i prekursori aroma.²⁶ Spojevi koji su karakteristični za primarnu aromu vina su terpeni, norizoprenoidi, metokspirazini i hlapljivi tioli. U grožđu je identificirano oko 40 terpenskih spojeva, mogu se detektirati u svakom vinu, ali u većini vina njihova koncentracija je jako mala i neprepoznatljiva kao specifična aroma. Najveći doprinos primarnoj aromi daju monoterpeni koji se u vinu nalaze u slobodnom (hlapljivom) obliku. Među najaromatičnijim su neki monoterpenski alkoholi: citronelol, linalol, geraniol, α -terpineol i nerol (slika 3).²⁵

Većina terpena se u vinu nalazi u vezanoj, glikozidnoj formi, koja je nehlapljiva. Kako bi se potpomoglo oslobađanje vezanih terpena i time poboljšala aroma osobito kod bijelih vina, danas je uobičajeno koristiti enzime, uz kratku maceraciju prije alkoholnog vrenja.²⁶

Primarne arome uglavnom podsjećaju na voće i cvijeće. Zanimljivo je napomenuti da samo vino od muškarnih sorti miriše po grožđu, a sva ostala vina po drugom voću.²⁷



Slika 3. Glavne monoterpeniski alkoholi²⁸

Norizoprenoidi su spojevi koji su srodni terpenima, nastaju oksidativnom degradacijom karotenoida (terpena s 40 C atoma) te nastaju derivati s 9, 10, 11 ili 13 C atoma. Među njima norizoprenoidni derivati s 13 C atoma imaju značajna aromatična svojstva. Najzastupljeniji norizoprenoidi u vinu su β -damscenon, α -ionon i β -ionon, a vinu daju voćni i cvjetni karakter.^{26,28}

Metokspirazini su hlapljivi aromatski spojevi koji nastaju u bobici grožđa kao proizvodi aminokiselina, vrlo su niskih olfaktivnih pragova te karakterističnih mirisa na zelenu papriku i zemlju.²⁸

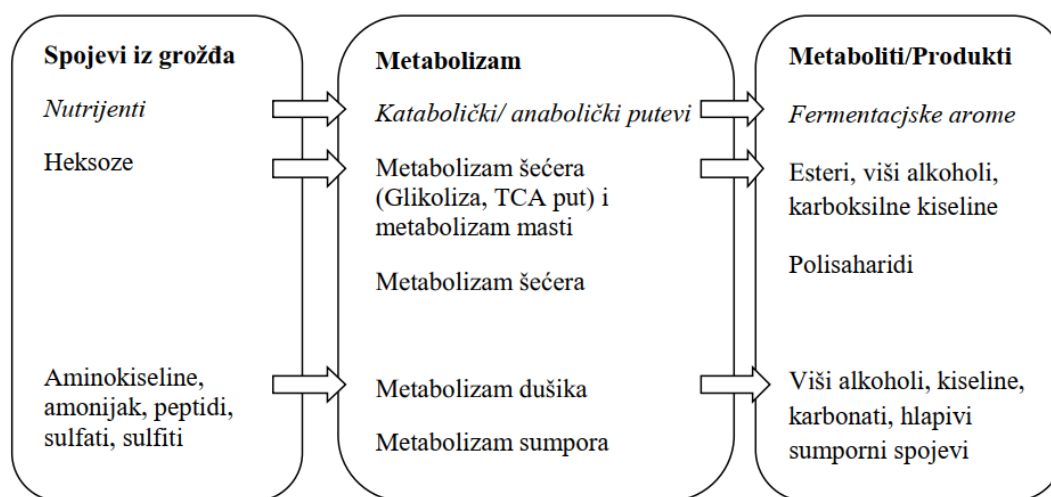
1.5.2. Sekundarna aroma

Sekundarna aroma je aroma koja se stvara tijekom procesa fermentacije (slika 4). Na intenzitet spojeva arome i nastajanje novih spojeva utječu svi tehnološki procesi kroz koje grožđe prolazi prije alkoholne fermentacije. Čimbenici koji utječu na formiranje sekundarne arome vina su temperatura, trajanje fermentacije, soj kvasca koji je odgovoran za fermentaciju, pH vrijednost mošta, koncentracija kisika i sumporovog dioksida.²⁸

Utjecaj alkoholne fermentacije na aromu vina

Tijekom alkoholne fermentacije povećava se kemijska složenost i kompleksnost okusa i mirisa, olakšava se ekstrakcija spojeva iz čvrste faze prisutne u moštu te se modificiraju neki spojevi podrijetlom iz grožđa. Tijekom alkoholne fermentacije nastaje velika skupina aromatičnih spojeva, uključujući više alkohole, aldehide, estere, ketone.²⁹

Znanstvenici postavljaju mnogobrojne pokuse kako bi utvrdili optimalnu temperaturu fermentacije pri kojima bi se izvukao maksimum sortnih kao i sekundarnih aroma. U posljednje vrijeme vlada trend laganih i svježih bijelih vina s voćno cvijetnim aromama. Većina istraživanja pokazuje kako senzorske karakteristike bijelih vina profitiraju pri nižim temperaturama (15 °C i niže). Hlapljivi spojevi nastali tijekom alkoholne fermentacije uvelike doprinose aromi vina tako što povećavaju voćnost i kompleksnost. Međutim, tijekom alkoholne fermentacije mogu se sintetizirati i spojevi koji daju neželjene arome (etil-acetat, izoamilni alkohol) ili pak oni koji maskiraju sortne arome.³⁰



Slika 4. Sekundarne arome, prekursori i metabolizam njihovog nastanka³⁰

Utjecaj jabučno-mliječne fermentacije na aromu vina

Jabučno-mliječna fermentacija obično se provodi nakon alkoholne fermentacije. Najčešće korištena bakterije u proizvodnji vina su bakterije roda *Oenococcus oeni*. U

ovom procesu dolazi do dekarboksilacije jabučne kiseline u mliječnu uz nastajanje CO₂. Jabučno-mliječna fermentacija provodi se u slučaju povećane kiselosti te utječe na aromatične karakteristike vina. Jedan od intermedijera metabolizma bakterija mliječne kiseline je diacetil, koji se smatra jednom od najvažnijih komponenti arome proizvedene tokom jabučno-mliječne fermentacije.²⁸

1.5.3. Tercijarna aroma ili aroma starenja

Vino koje odležava određeni vremenski period dozrijeva i stari te dolazi do razvoja tzv. aroma starenja („*bouquet arome*“). Najznačajnije reakcije koje se odvijaju tijekom dozrijevanja i starenja vina su oksidacija postojećih aromatičnih spojeva te ekstrakcija sastojaka iz drveta bačve, ukoliko vino odležava u bačvama. Iz drveta bačve ekstrahiraju se različiti aromatični spojevi kao što su: aldehidi, ketoni, laktoni i hlapljivi fenoli. Smanjuje se količina voćnih estera, izoamil-acetata i 2-fenil-acetata, te povećava udio dietil-sukcinata. Način proizvodnje i podrijetlo drveta bačve utječu na koncentraciju i sastav hlapljivih spojeva koji potječu od bačve. Kvaliteta vina ovisi o bogatstvu i kompleksnosti i raznovrsnosti njegovih aroma. Visokokvalitetno vino se odlikuje s više sekundarnih i tercijarnih aroma.³¹

1.6. Senzorska svojstva vina

Osnovna senzorska svojstva vina su miris, okus, opip, bistroća i boja. Prema ISO definiciji miris je organoleptičko svojstvo koje se može percipirati mirisanjem određenih hlapljivih tvari našim olfaktornim organima. Unutar mirisnih značajki vina izdvaja se pojam aroma, koji se najčešće upotrebljava za karakteristična mirisna obilježja. Svako vino treba karakterizirati čisti vinski miris po kojem se vina razlikuju od ostalih pića. Najveći doprinos različitosti mirisa dolazi od hlapljivih sastojaka ili molekula u zraku koje se osjete putem olfaktornih receptora. Razlikuju se dva načina percepcije mirisa: udisanjem kroz nosnu šupljinu u smjeru normalne aspiracije i retronazalno iz mirisa prisutnog u ustima. Bitno je naglasiti da što smo dulje izloženi aromama, manje smo osjetljivi na njih, stoga je prvi udisaj onaj ključni koji nam odaje miris vina.^{2,32}

Okus je gustatorna senzacija slatkoga, kiseloga, gorkoga i slanog, koja se zapaža pomoću okusnih bradavica na jeziku. Osjetila za slatko, gorko i kiselo se različito manifestiraju, međutim iako postoji različiti prag osjetljivosti ljudi, može se zaključiti koje je vino više slatko, kiselo ili sadržava više tanina. Najzastupljeniji šećeri u vinu su heksoze D-glukoza i D-fruktoza. Ova dva šećera se razlikuju po svojoj slatkoći pa tako

utječu na slatkoću vina. Šećeri reduciraju okus kiselosti, gorčine i trpkosti te na taj način utječu na aromu vina. Tanini su spojevi koji su odgovorni za trpkost i gorčinu vina. Koncentracija i kvaliteta taninskih spojeva od odlučujućeg su značaja za kvalitetu okusa, odnosno intezitet gorčine i trpkosti okusa osobito crnih vina. Neuravnoteženi odnos tanina, kiselina i alkohola može prikriti aromu, dok dobro izbalansirani okus u kojem prevladavaju glatki i mekani tanini omogućuje bolji razvoj arome vina. Astrigencija ili trpki osjet predstavlja opipini (taktilni) doživljaj, prvenstveno suhoće i hrapavosti u usnoj šupljini, a javlja se zbog vezanja s bjelančevinama sline u kojoj su prisutni glukoproteini i mucini. Kod suhih bijelih vina harmoničan i pitki okus prvenstveno ovisi o dobro izbalansiranom odnosu alkohola i ukupne kiselosti, kao i pojedinačnih organskih kiselina. U vinima s ostatkom neprovelih šećera na harmoničnost okusa utječe i saržaj šećera koji mora biti lijepo sljubljen s alkoholom i kiselim komponentama.^{26, 27}

Opip je taktilna senzacija, a podrazumijeva fizikalno-kemijske senzacije, kao što je pseudotoplina od učinka alkohola, astrigencija od utjecaja polifenola i sl., koje osjete sve sluzne membrane usne šupljine.²

Bistroća zajedno s bojom ostavlja najvažniji dojam pri kušanju. Bijela vina moraju biti bistra do kristalno bistra, a crna vina providno bistra. Mutnoća može zamaskirati okus jer čestice mutnoće oblažu jezik, a maskiraju i boju vina jer utječu na prolaz svjetlosti te se zrake svjetlosti lome (slika 5). Uzroci zamućenju mogu biti biološke prirode te posljedica aktivnosti mikroorganizama. Talog u vinu dakle u pravilu nije prihvatljiv, osim iznimno kod starijih crnih vina, a taj talog čine tanini, antocijani, soli vinske kiseline i proteini. U tim vinima talog će se pojaviti nakon nekoliko godina dozrijevanja, u malim količinama i trebalo bi ga oprezno odvojiti dekantiranjem vina da se ne izazove zamućenje. Uzroci zamućenja su različiti, a mogu biti u samom grožđu (netopljivi dijelovi kožice i mesa, sjemenke).³³



Slika 5. Filtrirano i nefiltrirano vino³³

Za boju vina odgovorni su fenolni spojevi. Količina ekstrahiranih obojenih tvari ovisi o maceraciji, bistrenju vina te sumporenju. S obzirom na različite postupke prerade grožđa dobivaju se i različite boje vina, te s obzirom na to razlikujuju se crna, bijela i rose vina. Boja vina mora biti karakteristična za sortu, podrijetlo vina i godište. Boja crnih vina ovisi o načinu vinifikacije, kiselosti, pH vrijednosti, malolaktičnoj fermentaciji, o količini taninskih spojeva i starosti vina (slika 6).² Ako je vino crno može biti rubin (ljubičasto – crveno) ili granatno vino (narančasto – crveno). Ljubičasta boja je indikator mladog crnog vina. Narančasta, jantarna i smeđa boja su indikatori starosti vina. Crna vina koja su dominantnija u ovim bojama nazivaju se zlatasta vina (*tawny wine*). Antocijani su nositelji boje mladih crnih vina. Dozrijevanjem se sadržaj antocijana smanjuje, zbivaju se kompleksne kemijske reakcije i nositelji boje postaju taninski spojevi. Međutim treba imati na umu da neka vina brže mijenjaju boju nego druga, zato se zaključak o starosti ne može donijeti na temelju izgleda. Ukoliko se radi o bijelom vinu, boja može biti limun žuta (žuta s nijansom zelene) ili zlatna (žuta s nijansom narančaste). Zelena boja upućuje na mlado vino, a narančasta i smeđa ukazuju na starost vina (slika 7). Za rose vina svjetlo ljubičasta boja indicira mlado vino, a narančasta i nijanse smeđe starije vino.^{20,34}



Slika 6. Boje crnog vina³⁵



Slika 7 Boje bijelog vina³⁵

U opisivanju boje vina jako je bitan intenzitet tj. dubina boje. Dojam dubine boje može se dobiti gledanjem vina u čaši koja stoji na bijeloj podlozi. Kad se uspoređuje više vina važno je da se osigura u svakoj čaši ista količina vina. U pravilu vina svjetlije boje su lakšeg okusa i tijela nego ona koja su dublje boje. Bijela vina koja su dozrijevala u bačvama imat će veći intenzitet boje.³⁵

1.7. Senzorska analiza vina

Senzorska analiza je znanstvena disciplina koja se koristi kako bi se analizirale i interpretirale reakcije na one karakteristike hrane koje se percipiraju ljudskim osjetilima. U senzorskim analizama sudjeluje grupa istreniranih ljudi koju nazivamo senzorskim panelom. Vrsta senzorskog testa i razina senzorskog raspoznavanja koja se

želi postići uvjetuju intenzitet i trajanje treninga. Dosljednost ocjenjivača u prepoznavanju i imenovanju karakteristika vina povećava se senzorskim treningom.³²

Procjena kvalitete vina se prvenstveno temelji na senzorskim svojstvima vina. Karakteristika kvalitetnog vina je harmonija okusa i osjeta koja se postiže međudjelovanjem senzorski aktivnih molekula. Način na koji doživljavamo vino predstavlja osnovnu vještinu komuniciranja između ljudi koji su uključeni u proizvodnju vina. Čin pretvaranja naših osjetila u riječi je pokazatelj kako se dojam o određenom vinu zadržava u našoj memoriji.³⁶

Testovi koji se koriste za senzorska istraživanja zahtijevaju specifične uvjete i odgovarajući dizajn istraživanja kako bi se kasnije mogla provesti statistička analiza.²⁷

Kako bi se napravila pravilna usporedba među vinima, nužno je koristiti standardiziranu čašu. Standardizirana čaša za vino ima zaobljenu stjenku dovoljnu veliku da bi se vino moglo zavrtjeti prije kušanja. Stjenka čaše koja je u obliku tulipana služi kako bi se zadržala koncentracija aroma, a držač kako ne bi zagrijali vino rukama. Najveći problem ISO čaša je njihova krhkost (napravljene su od tankog kristala), no takve čaše se preferiraju (slika 8).²⁷



Slika 8. ISO čaša za vino³⁶

U provedbi senzorske analize vina izuzetno je važno da dojam o vinu ne mijenjaju vanjski utjecaji. Idealna soba za kušanje je bez mirisa (proizvoda za čišćenje, duhana, hrane ili parfema) s prirodnim osvjetljenjem i s bijelom površinom. Nepca za

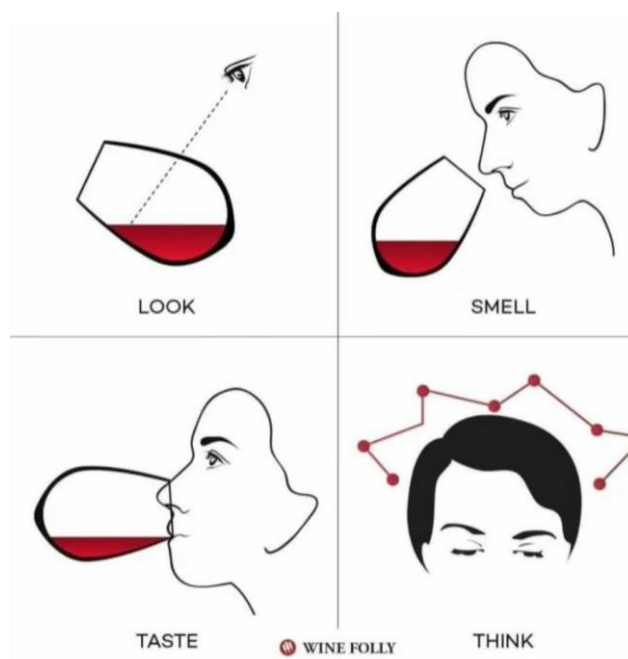
kušanje trebaju biti čista odnosno neposredno prije degustacije ne smije se pušiti, piti kava, jesti, žvakati žvaka te prati zubi. U sobi za kušanje treba održavati temperaturu zraka u rasponu od 20 do 22 °C. Pojedina mjesta moraju biti fizički odvojena kako bi se spriječila komunikacija između panelista.²⁷

Prije ulaska u prostoriju za ocjenjivanje panelistima se moraju dati detaljne i jasne upute o njihovom radu. Detalji o vinima koji se mogu iznijeti ovise o cilju ocjenjivanja npr. ukoliko se ocjenjuju ili ilustriraju raznolikosti regionalnih razlika, ispitivači zahtijevaju takve informacije, kako se ne bi bitne značajke ocjenjivanja propustile. Odgovarajući broj uzoraka za ocjenjivanje vina ovisi o prigodi. Za vinske škole ili ocjenjivački tim idealno je po šest uzoraka vina. Između 35-70 mL je dovoljna količina za ocjenjivanje vina, a ukoliko se provodi produljena i detaljnija procjena vina potrebno je 50–70 mL vina.²⁷

Redoslijed kušanja vina:

- Pjenušava vina se trebaju kušati prije stolnih vina (*still wine*)
- Bijela vina se trebaju kušati prije crnih
- Suha vina se trebaju kušati prije slatkih vina
- Vina laganijeg tijela (*light – bodied*) se trebaju kušati prije vina punijeg tijela (*full – bodied*)
- Mlada vina se trebaju kušati prije starih
- Vina srednje kvalitete trebaju se kušati prije vina visoke kvalitete.²⁷

Redosljed postupaka prilikom kušanja vina prikazan je na slici 9.



Slika 9. Redosljed postupaka prilikom kušanja vina³⁸

Objektivna procjena kvalitete vina je iznad onoga što se ljudima osobno sviđa ili ne sviđa. Mnogo kriterija može napraviti razliku između siromašnih vina, privatljivih i izvrsnih vina.²⁷

To uključuje:

- Balans - voćnost i slatkoća zasebno se ne odražavaju dobro na vino. Kiselost i tanini zasebno vino čine neugodnim i strogog okusa. Kod kvalitetnog vina, slatkoća i voćnost su izbalansirani s taninima i kiselosti.
- Kraj - izbalansirani, ugodni kraj gdje se okusi zadržavaju nekoliko sekundi su indikatori visoke kvalitete vina. Kod inferiornih vina, okus može odmah nestati neostavljajući dugotrajne dojmove i okusi mogu biti neugodni.
- Intenzitet - razrijeđeni okusi mogu indicirati na siromašno vino. Međutim, ekstremni intenziteti okusa nisu nužno znak kvalitete vina, jer oni mogu uništiti balans vina i učiniti ga teškim za piti.
- Izražajnost - izvanredna vina mogu izražavati karakteristike određene sorte vina i regiju proizvodnje (klima, tradicionalna tehnika proizvodnje vina). U nekoliko rijetkih slučajeva pojedinačni vinogradi mogu se prepoznati iz okusa vina.²⁷

Tijelo vina je ponekad opisano kao „*mounth feel*“, to je osjećaj bogatstva, težine i viskoznosti vina i kombinacija je efekta alkohola, tanina, šećera i spojeva arome ekstrahiranih iz kožice.²⁷

- Lagano tijelo vina - osjećaj između vode i obranog mlijeka. Tanka, osvježavajuća i mokra, lagana vina imat će dug okus (*aftertaste*), bez punjena usta.
- Srednje lagano tijelo vina- točno u sredini u smislu količine alkohola, tanina, šećera i ekstrakta. Smatraju se najboljim vinima jer nadopunjavaju hranu, a da ih ne nadvladaju okusi hrane.
- Puno tijelo vina - u ustima su teška, imaju bogat, složen, dobro zaobljen okus koji ostaje u ustima.²⁷

1.8. Izolacija hlapljivih spojeva

U vinu je identificirano više od 800 hlapljivih spojeva koji značajno pridonose kvaliteti vina. Prilikom određivanja hlapljivih spojeva u vinu jako je važno odabrati optimalnu metodu izolacije kako bi se dobio što potpuniji aromatični profil.

Metode izolacije hlapljivih spojeva:

- Ekstrakcija otapalima
- Destilacijske metode
- Izolacija hlapljivih spojeva upotrebom mikrovalne ekstrakcije
- Ultrazvučna ekstrakcija (ekstrakcija otapalima potpomognuta ultrazvukom)
- Ekstrakcije superkričnim i subkričnim fluidima (ekstrakcija s CO₂)
- Tehnike „vršnih para“
- Sorpcijske tehnike

Prilikom određivanja hlapljivih spojeva u vinu najčešće se koristi ekstrakcija tekuće-tekuće i mikroekstrakcija vršnih para u krutoj fazi. Izolirani spojevi se analiziraju plinskom kromatografijom u kombinaciji sa spektrometrijom masa (vezani sustav plinska kromatografija GC-MS).³⁸

1.8.1. Ekstrakcija tekuće-tekuće

Ekstrakcija s organskim otapalom provodi se u lijevku za odjeljivanje (diskontinuirano) ili komercijalno dostupnim ekstraktorima za kontinuiranu ekstrakciju. Kontinuirani ekstraktori se razlikuju po izvedbi, ovisno o tome da li su namijenjeni za ekstrakciju otapalom lakšim ili težim od vode.

Vrsta otapala koja se koristi mora zadovoljiti sljedeće uvjete:

- Otapalo mora biti inertno prema prisutnim tvarima
- Tvar koju ekstrahiramo mora imati što bolju topljivost u tom otapalu
- Otopina iz koje ekstrahiramo željenu tvar i otapalo moraju se što više razlikovati u gustoći
- Otapalo ne smije imati previsoko vrelište kako bi se nakon ekstrakcije moglo lako ukloniti
- Otapalo mora biti što manje zapaljivo.

Kako bi učinak ekstrakcije bio što bolji ekstrakcija se provodi više puta s manjom količinom otapala. Otapala koja se najčešće koriste su dietil-eter, diklormetan, kloroform, petroleter i drugi.³⁸

Za vrijeme ekstrakcije može doći do stvaranje emulzije što otežava odvajanje organskog od vodenog dijela. U tom slučaju koristi se cantrifugiranje za razbijanje emulzije i pospješivanje odvajanja slojeva. Nastanak emulzije može se spriječiti i korištenjem zasićene vodene otopine NaCl umjesto destilirane vode.³⁹

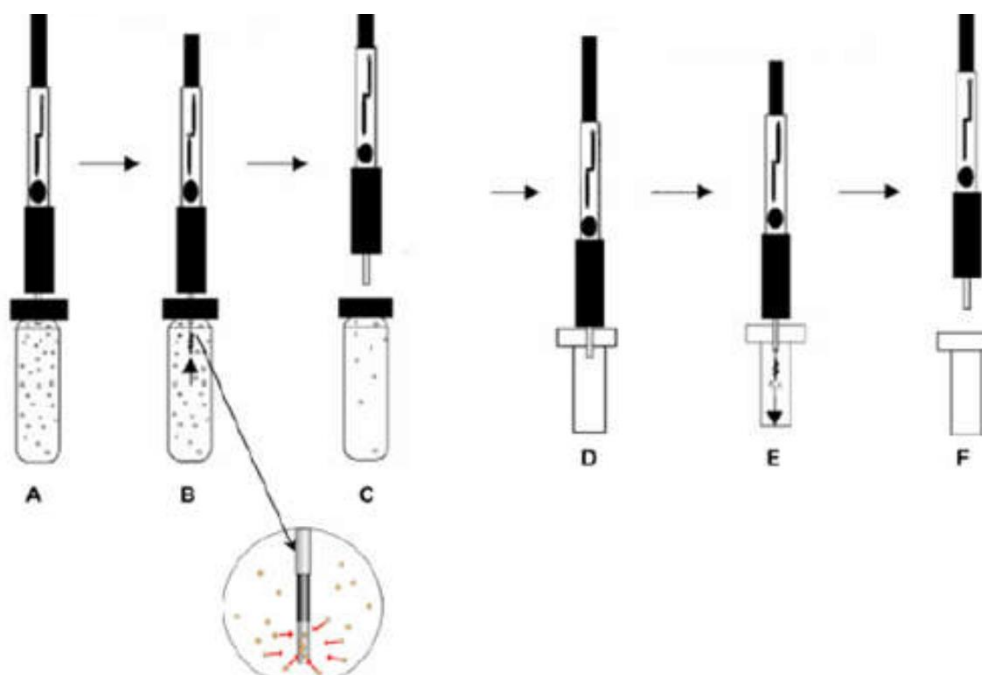
1.8.2. Sorpcijske tehnike

Sorpcijske tehnike se temelje na raspodjeli organskih spojeva između vodene ili parne faze i tankog polimernog filma. Prednosti sorpcijskih tehnika su brza ekstrakcija bez korištenja otapala i predkoncentracija aromatičnih spojeva. Najpoznatije i najviše korištene tehnike su mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi i sorpcijska ekstrakcija na miješajućem štapiću.

Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME)

Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (engl. *headspace solid phase microextraction*, HS-SPME) je metoda koju su 1990. izumili dr. Janusz Pawliszyn i njegovi suradnici na sveučilištu u Waterloo-u, Kanada.

HS-SPME je vrlo jednostavna, učinkovita i ekološki prihvatljiva metoda. Ovom metodom omogućeno je uzorkovanje, ekstrakcija i koncentriranje u jednom koraku bez otapala, a njezino korištenje smanjuje vrijeme pripreme uzorka i povećava osjetljivost u odnosu na druge ekstrakcije. Ovom tehnikom sakupljanje hlapljivih spojeva uzorka provodi se silikonskim vlaknom (duljine 1 do 2 cm) presvučenim odgovarajućim polimerom. Postoji veliki broj različitih vlakana, a najčešće se upotrebljavaju polidimetilsiloksan (PDMS), polidimetilsiloksan-divinilbenzen (PDMS-DVB), karboksen-polidimetilsiloksan (CAR-PDMS) i polidimetilsiloksan-divinilbenzen-karboksen (PDMS-DVB-CAR). Tip vlakna utječe na selektivnost ekstrakcije, tako polarna vlakna adsorbiraju polarne spojeve, a nepolarna vlakna nepolarne spojeve. Mikroekstrakcija se provodi tako da se u bočicu stavi određena količina uzorka, nakon toga se buši septum bočice, izvlači vlakno i uvodi u vršne pare iznad uzorka, a može se uroniti i u tekući uzorak. Nakon točno određenog vremena u kojem su se hlapljivi spojevi adsorbirali na prekrivaču vlakna, vlakna se uvlače u iglu, a zatim se igla uvodi u injektor plinskog kromatografa gdje se desorbiraju hlapljivi spojevi (slika 10). SPME vlakno se rekondicionira zagrijavanjem u injektoru plinskog kromatografa 5-15 min. Nedostaci ove tehnike su što je aromatični profil sakupljenih hlapljivih spojeva ovisan o vrsti, debljini i dužini korištenog vlakna, kao i temperaturi i vremenu uzorkovanja, a neka vlakna su diskriminirajuća za polarne spojeve.³⁸



Slika 10. Koraci ekstrakcije i desorpcije kod HS-SPME³⁹

1.9. Analiza hlapljivih spojeva

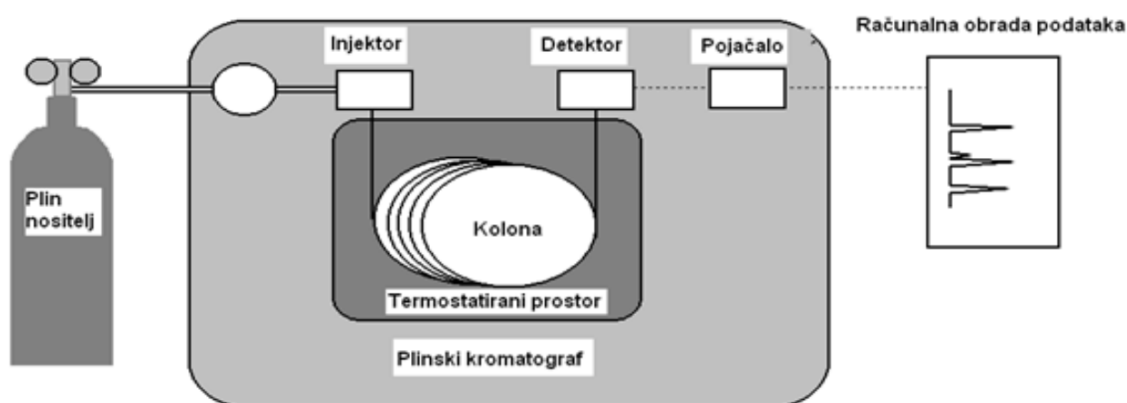
Najviše korištena metoda za analizu hlapljivih spojeva je plinska kromatografija sa masenim spektrometrom kao detektorom.³⁹

1.9.1. Plinska kromatografija

Plinska kromatografija (engl. *gas chromatography*, GC) je najpogodnija kromatografska metoda za odvajanje komponenti iz smjese. Za razliku od tekućinske kromatografije, instrumenti potrebni za plinsku kromatografiju mnogo su jednostavniji. Plinska kromatografija se koristi kada su komponente ispitne smjese hlapljive ili poluhlapljive i toplinski stabilne na temperaturama 350-400 °C. Mobilna faza (tzv. plin nositelj) je inertni plin, najčešće helij ili dušik, a stacionarna faza je tekućina nanosena na neki kruti nosač (punjene kolone) ili vezana za stjenke kapilare (kapilarne kolone). Temeljna razlika između sustava koji koristi punjene kolone i kapilarne kolone je u količini uzorka. Količina uzorka kod kapilarnih kolona je izuzetno mala. Kapilarne kolone koriste se samo za tekućine dok se punjene koriste za krutine i tekućine.⁴⁰

Osnovne komponente plinskog kromatografa (slika 11):

1. Izvor plina
2. Injektor
3. Peć (termostatirani prostor) i kromatografska kolona
4. Detektor⁴⁰



Slika 11. Shematski prikaz plinske kromatografije³⁸

U plinskoj kromatografiji uređaji za injektiranje imaju zadaću ispariti uzorak koji se analizira i inkorporirati ga u struju plina nositelja usmjerenog prema koloni.

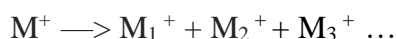
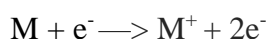
Isparavanje i uvođenje uzoraka u sustav mora se provesti u skladu sa sljedećim zahtjevima:

1. Isparavanje uzoraka mora biti što je brže moguće
2. Prilikom isparavanja treba obratiti pozornost kako ne bi došlo do isparavanja komponenti uzorka³⁸

U osnovi injektor se sastoji od metalnog bloka koji je dobar vodič topline, opremljen sustavom grijanja, termostatom koji može održavati svoju stalnu temperaturu i odgovarajuću toplinsku izolaciju. Pri tome prethodno zagrijani nosivi plin neprekidno prolazi kroz sustav. Uzorak se ubrizgava u komoru pomoću precizne mikrošprice kroz septum. Nakon što se ubrizga uzorak, on trenutno isparava i miješa se s plinom nositeljem. Nakon što uzorak ispari nošen je strujom plina u smjeru kolone. Unutar kolone dolazi do razdvajanja sastojaka uzorka ovisno o njihovim fizikalnim i kemijskim svojstvima, zatim odijeljene komponente odlaze plinom nositeljem u detektor (spektrometar masa). Odjeljivanje sastojaka odvija se pri temperaturi koja postiže najbolje rezultate odjeljivanja sastojaka smjese. Pećnica na plinskom kromatografu ima zadaću održavati kolonu termostatiranom na zadanoj temperaturi s velikom preciznošću (unutar granice ± 1 °C), s druge strane potrebno je da kontrola termostatiranja pećnice omogući povećanje temperature na fiksne i konstante brzine. Za razliku od većine vrsta kromatografije mobilna faza ne stupa u interakciju s molekulama analita, njezina jedina funkcija je transport analita kroz kolonu.³⁹

1.9.2. Spektrometrija masa

Spektrometrija masa uključuje dva važna postupka, prvi je ionizacija uzorka, a zatim slijedi razdvajanje i određivanje iona. Spektrometar masa se sastoji od komore za bombardiranje u koju se unosi mala količina uzorka u plinovitom stanju. Unutrašnjost spektrometra je pod vakuumom, što omogućava ionima prelazak puta od izvora do senzora bez sudara s drugim molekulama. Kod elektronske ionizacije (EI) uzorak se bombardira elektronima visoke energije pri čemu se molekule ioniziraju i nastaje pozitivni molekularni ion, M^+ koji se fragmentira:



Tako nastaju različiti fragmenti čijom analizom se može zaključiti kakva je struktura dotičnog spoja i kolika mu je molekulska masa. Dobiveni ioni se razvrstavaju u analizatoru prema intenzitetu i veličini m/z . Ioni se na osjetljivom dijelu analizatora registriraju kao električni signal. Signal elektronskim sustavom biva zabilježen u memoriji računala i tako se dobiva spektar masa koji se obično prikazuje kao linijski dijagram s odnosom relativnog intenziteta i omjera mase i naboja fragmenata (m/z). Tumačenje samog fragmentiranja važno je dokazivanje spojeva.³⁹

1.9.3. Vezani sustav plinska kromatografija-spektrometrija masa

Vezani sustav plinska kromatografija-spektrometrija omogućava istraživanje hlapljivih spojeva uz minimalnu uporabu količine uzorka. Obje metode rade s uzorkom u plinskoj fazi tako da ono što je odvojeno plinskim kromatografom može se lako analizirati spektrometrijom masa. Plinska kromatografija je izvrsna metoda za odjeljivanje i kvantizaciju, a nepouzdana za kvalitativnu analizu dok je spektrometrija masa vrlo pogodna za kvalitativnu analizu. Spajanjem ove dvije metode dobiva se osjetljivost do 10^{-15} g. GC-MS je jako pouzdana i brza za određivanje različitih spojeva. Za svaki odijeljeni spoj sustavom GC-MS dobivaju se dva važna podatka na temelju kojih se identificiraju spojevi, a to su vrijeme zadržavanja na koloni i spektar masa.^{13,39}

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. Materijali

Za proizvodnju vina korišteno je grožđe sorte Pošip koje potječe iz Korčulanskog vinogorja (položaj Smokvica) berbe 2020. Grožđe je ubrano pri tehnološkoj zrelosti u jutarnjim satima i prevezeno u vinariju gdje se hladilo do 15 °C prije samog početka prerade. Tehnološki proces je započeo prešanjem cijelih grozdova u pneumatskoj preši Vaslin Bucher XP5000 uz dodatak SO₂ i pektolitičkih enzima za prešanje. Tijekom postupka prešanja odvojene su dvije frakcije mošta. Prva frakcija ili samotok odvajana je do radnog tlaka preše od 1,25 bara, a druga frakcija (preševina) je odvajana s početnim radnim tlakom preše iznad 1,25 bara pa do samog kraja prešanja (2,2 bara). Nakon prešanja mošt je dosumporen tako da je ukupni SO₂ bio 55 mg/L i ohlađen na temperaturu od 7 °C. Cjelokupna količina samotoka od 2100 L nalazila se u jednom tanku za rasluzivanje, a druga frakcija (preševina) u količini od 400 L odvojena je u zasebni tank.

Nakon 18 sati mošt je dekantiran s taloga i razliven u inox posude za fermentaciju. Za alkoholnu fermentaciju su korišteni sojevi kvasaca Zymaflore X5 i Zymaflore X16 od proizvođača Laffort. Temperatura alkoholne fermentacije je kontrolirana i kretala se između 15 i 18 °C, a alkoholna fermentacija je trajala 16 dana. Po završetku fermentacije mlado vino je dosumporeno sa 50 mg/L SO₂ kako bi se spriječila malolaktična fermentacija. Vino je odležavalo na talogu šest mjeseci u zasebnim inox posudama, uz periodično miješanje taloga. Nakon 6 mjeseci odležavanja na talogu, uzorci za analizu su buteljirani u staklene boce od 750 mL s plutenim čepom. Boce su pohranjene i čuvane na temperaturi od 14 do 20 °C do trenutka analize (slika 12):

- Uzorak I “X5 samotok” – vino koje potječe od frakcije samotoka.
- Uzorak II “X16 samotok” – vino koje je potječe od frakcije samotoka.



Slika 12. Uzorci vina Pošip

2.2. Kemikalije i aparatura

Kemikalije

- Referentne otopine za provedbu senzorske analize (prikazane u tablici 2)
- NaCl_s
- Benzil-acetat, interni standard

Aparatura

- Čaše za senzorsku analizu vina
- Vlakno Supelco DVB/CAR/PDMS
- Vezani sustav GC-MS, Shimadzu Scientific Instruments, Inc., Columbia, MD, USA
 - GC, Shimadzu GC 2030 instrument
 - MS, trostruki kvadripolni spektar masa TQ8040 NX
- Kolona, X5MS, silikonski polimer; Teknokroma, Barcelona, Španjolska.

2.3. Metode

2.3.1. Senzorska analiza

Provedena je deskriptivna senzorska analiza uzoraka vina Pošip od strane istreniranih panelista. U senzorskoj analizi je sudjelovalo četvero panelista, a održano je na Sveučilištu Miguel Hernandez u Orihueli, Španjolska (slika 13). Uzorci vina (oko 35 mL) su servirani panelistima u standardnim „crnim“ čašama za vino u svrhu procjene mirisa kako bi se utvrdila pozitivna i negativna obilježja. Potom je oko 20 mL uzorka vina servirano panelistima u standardnim prozirnim čašama za vino. Odlučeno je da se ocjenjivanje izgleda treba provesti na kraju kušanja kako bi se izbjegao bilo kakav utjecaj na objektivni opis vina. Uzorci su ocjenjivani na sobnoj temperaturi ($20\pm 1^\circ\text{C}$), pod bijelim svjetlom. Uzorci su bili kodirani sa tri znamenke te servirani nasumično sa odgovarajućim ocjenjivačkim listićem. Između uzoraka se radila pauza od 5 minuta te su se u cilju čišćenja i odmora nepca između uzoraka panelistima ponudili voda i neslani krekeri.

U svakom ocjenjivačkom listu od panelista se tražilo da procjene intenzitete obilježja prikazanih u tablici 2.

Tablica 2. Obilježja i senzorski opisi korišteni pri senzorskoj analizi vina

Obilježja pri senzorskoj analizi vina				
<i>Miris</i>	<i>Okus</i>	<i>Opći dojam</i>	<i>Izgled</i>	<i>Mane (defekti)</i>
alkoholno	alkoholno	neuravnoteženo	bistroća	povrtno
voćno	voćno	postojano	boja	trula jabuka
cvjetno	cvjetno		intenzitet boje	octikavo
povrtno	povrtno			miris po ljepilu
začinsko	začinsko			sapunasto
animalno	animalno			miris na sumpor
prženo	prženo			miris na pokvarena jaja
	slatko			miris na luk
	kiselo			miris na cvjetaču
	gorko			miris na štalu
	adstringentno			miris po čepu

Intenzitet najizraženije mane je bodovan, ali isto tako senzorska obilježja svih utvrđenih mana su zabilježena u ocjenjivačkom listiću. Panelisti su za procjenu koristili 11-cm linijsku ljestvicu u kojoj vrijednost 10 predstavlja izuzetno visoki intenzitet, a vrijednost 0 izrazito niski ili neprimjetni intenzitet. Referentne otopine za svako obilježje su bile ranije pripremljene i bile su dostupne svim panelistima.

Tablica 3. Rječnik pojmova i referentne otopine korišteni u senzorskoj analizi

<i>Obilježje</i>	<i>Opis</i>	<i>Referentne otopine i intenziteti</i>
<i>Aroma</i>		
alkoholno	okus koji podsjeća na alkoholne spojeve	otopina etanola 7% =2,0 otopina etanola 11% =5,0 otopina etanola 18% =9,5
voćno	mješavina aroma koja je slatka i podsjeća na raznoliko voće	citral 16 μg^{-1} =6,0 izoamil-acetat 30 μg^{-1} =6,0 benzaldehyd 100 μg^{-1} =6,0
cvjetno	slatko, teška aromatična mješavina kombinacije različitog cvijeća	geraniol 10 μg^{-1} =6,0 β - ionon 0,10 μg^{-1} =6,0
povrtno	aroma koji podsjeća na različite vrste povrća	2-izobutil-3-metoksipirazin 0,002 μg^{-1} =6,0 <i>cis</i> -heks-3-en-1-ol 70 μg^{-1} =6,0 okt-1-en -3-ol 1 μg^{-1} =6,0
začinsko	aroma koja podsjeća na različite začine koji su povezane s vinskim bačvama	eugenol= 15 μg^{-1} =6,0 anetol 70 μg^{-1} =6,0
animalno	aroma koja podsjeća na životinje i njihove produkte	aroma albona maslaca= 6 μg^{-1} =6,0 “le nez du vin“ aroma br. 45 =9,0
prženo	aroma koja podsjeća na pržene produkte koji uglavnom potječu od paljenja (tostiranja) bačava	vanilin 20 μg^{-1} =6,0 2-acetiltiazol 5 μg^{-1} =6,0
slatko	osnovni okus povezan s otopinom saharoze	otopina saharoze 4% =2,5 otopina saharoze 8% =5,0 otopina saharoze 16% =9,5
kiselo	okus povezan s kiselinama kao što su jabučna i limunska kiselina	otopina vinske kiseline 0,005% =2,5 otopina vinske kiseline 0,008% =4,0 otopina vinske kiseline 0,20% =9,5
gorko	okus povezan s tvarima kao što su kinin ili kofein	otopina kofeina 0,005% =2,5 otopina kofeina 0,08% =4,0 otopina kofeina 0,20% =9,5
adstringentno	kompleksni osjećaj sušenja, nabiranja i stezanja u usnoj šupljini	alum otopina 0, 05% =1,5 alum otopina 0,10% =3,0 alum otopina 0, 20% =6,0
<i>Opći dojam</i>		

neuravnoteženo	obilježje ili obilježja koja prevladavaju nad ostalima te tako remete ravnotežu	kiselo: vinska kiselina $2 \text{ gL}^{-1}=6,0$ adstringentno: tanini $4 \text{ gL}^{-1}=6,0$ gorko: kinin sulfat $0,03 \text{ gL}^{-1}=6,0$ alkohol: etanol $60 \text{ mL}^{-1}=6,0$
postojano	vrijeme u kojem aroma vina ostaje u ustima nakon gutanja uzorka	5-8 s=5,0 15-18s =10
Izgled		
bistroća	bez prisustva čestica i koloidnih tvari	prisustvo tvari =5,0 bez čestica =10
boja	vizualno ocjenjivanje intenziteta boje uzorka	panton 1675 C =2,0 panton 201 C =4,0 panton 201 C =4,0 panton 200 C=6,0
intenzitet boje	dubina boje kada se stavi tekst ispod čaše	ako se tekst može pročitati=1,0 ako se tekst može vidjeti ali se ne može pročitati =5,0 ako se tekst ne možeš vidjeti=10
Mane/defekti		
biljni	mana uzrokovana nezrelim groždem ili nedovoljnom čistoćom grozdova	„ <i>La nez du vin, faults</i> “ br. 1=8
trula jabuka	oksidacija vina uzrokovana <i>Candidom mycoderma</i> uz nastanak acetaldehida	„ <i>La nez du vin, faults</i> “ br. 2=8
octikavo	nastanak octene kiseline uzrokovan sa <i>Gluconobacter</i> i <i>Acetobacter</i>	„ <i>La nez du vin, faults</i> “ br. 3=8
miris po ljepilu	nastanak etil-acetata reakcijom octene kiseline s etanolom	„ <i>La nez du vin, faults</i> “ br.4=8
sapunasto	sapunasti miris uzrokovan solima određenih masnih kiselina uglavnom dekanskom kiselinom	„ <i>La nez de vin, faults</i> “ br. 5=8
miris po sumporu	uzrokovan viškom sulfita u vinu	„ <i>La nez de vin, faults</i> “ br. 6=8
pokvarena jaja	nastanak sumporovodika redukcijom sulfita od strane kvasaca	„ <i>La nez de vin, faults</i> “ br. 7=8
miris na luk	nastanak etantiola reakcijom sumporovodika s etanolom	„ <i>La nez de vin, faults</i> “ br. 8=8
miris na cvjetaču	miris karakterističan za aromatična vina proizvedena od nedovoljno čistih moštava	„ <i>La nez de vin, faults</i> “ br. 9=8
miris na štalu	neugodna animalna nota mirisa (uglavnom fenolna) koja nalikuje na miris staje konja. Ova mana se može javiti u prisustvu <i>Brettanomyces</i> kvasaca	„ <i>La nez du vin, fault,</i> “ br. 10=8

zemljano	miris koji koji nalikuje mirisu mokre zemlje	„ <i>La nez du vin, fault</i> “ br. 11 =8
miris po čepu	miris koji je uzrokovan lošom kvalitetom čepova	„ <i>La nez de vin fault</i> “ br. 12=8



Slika 13. Prostorija u kojoj je provedena senzorska analiza

2.3.2. Izolacija hlapljivih spojeva

Izolacija hlapljivih spojeva iz uzoraka vina Pošip provedena je metodom mikroekstrakcije vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME). Korišteno je vlakno Supelco DVB/CAR/PDMS (duljine 10 mm, debljine 80 μm) koje je prethodno kondicionirano prema uputama proizvođača. Uzorak vina (10 mL), 1 g NaCl i 5 μL internog standarda (benzil-acetat 1000 ppm) su se dodali u vialice od 25mL te se hermetički zatvorili teflonskom septom. Uzorci su se kondicionirali 5 minuta na 40 °C u vodenoj kupelji. Nakon kondicioniranja uzorka od 5 min na 40 °C, SPME igla se postavi u bočicu sa uzorkom te se vlakno izvuče iz SPME igle u bočicu i u vremenu od 40 min vlakno „sakuplja“ hlapljive spojeve. Nakon uzorkovanja, SPME vlakno se vrati u SPME iglu te je spremno za desorpciju i analizu hlapljivih spojeva.

2.3.3. Analiza hlapljivih spojeva

GC-MS analiza provedena je na Shimadzu GC2030 instrumentu i TQ8040 NX trostrukom kvadripolnom spektrometru masa (Shimadzu Scientific Instruments, Inc., Columbia, MD, USA) (slika 14). Podaci su prikupljeni koristeći GC-MS software verzije 4.4 (Shimadzu). Korištena kolona je X5MS (silikonski polimer; Teknokroma, Barcelona, Španjolska) s dimenzijama 30 m duljine i 0,25 mm unutarnjeg promjera i 0,25 μm debljine filma stacionarne faze. Po završetku adsorpcije igla s adsorbiranim tvarima odmah se stavlja u injektor plinskog kromatografa te slijedi njihova toplinska desorpcija. Program pećnice je bio sljedeći: početna temperatura 40 °C i zadržano 5 minuta; zatim stupnjevito zagrijavanje: 1. stepenica 2 °C/ min do 140 °C; 2. stepenica 5 °C/min do 210 °C i 3. stepenica 20 °C/ min do 230 °C i zadržano 10 minuta na 230 °C. Analiza je ukupno trajala 80 minuta. Analize su provedene pomoću plina helija kao plina nosača uz protok od 1 mL/min te omjer dijeljenja 1:20 (*Split mode*). Temperatura ionskog izvora i sučelja bila je 230 °C i 280 °C, a energija ionizacije 70 eV.

Identifikacija hlapljivih spojeva provedena je usporedbom njihovih vremena zadržavanja s vremenima zadržavanja već poznatih tvari iz smjesa hlapljivih spojeva prethodno analiziranih GC-MS sustavom. Osim toga identifikacija je provedena i usporedbom masenih spektara tih spojeva s masenim spektrima iz komercijalne biblioteka masenih spektara NIST05 i/ili usporedbom s masenim spektrima iz literature.



Slika 14. Vezani sustav plinska kromatografija-masena spektrometrija (GC-MS)

2.3.4. Statistička obrada

Svi rezultati u ovom radu predstavljaju srednju vrijednost od najmanje tri ponavljanja za ispitivanje hlapljivih spojeva te četiri za rezultate deskriptivne senzorske analize uzoraka vina Pošip.

Dobiveni rezultati su prvo podvrgnuti analizi varijance (ANOVA) te potom Tukey-evom testu signifikantne razlike u programu StatGraphics Plus 5.0 software (Manugistics, Inc., Rockville, MD). Razlike su smatrane statistički značajnim pri $p < 0,05$.

3. REZULTATI

3.1. Senzorska analiza uzoraka vina Pošip

U tablici 4 prikazani su rezultati senzorske analize uzoraka vina Pošip.

Tablica 4. Rezultati senzorske analize uzoraka vina Pošip

SVOJSTVO	ANOVA*	Uzorak X-5	Uzorak X-16
<i>Intenzitet senzorskog obilježja(skala 0-10)</i>			
<i>Miris</i>			
Alkoholno	*	2,0 b	3,0 a
Voćno	*	6,0 b	7,0 a
Cvjetno	NZ	4,5	4,0
Povrtno	NZ	1,5	1,0
Začinsko	NZ	0,5	0,0
Animalno	*	1,0 a	0,0 b
Prženo	NZ	0,5	0,0
<i>Okus</i>			
Alkoholno	*	4,0 a	3,0 b
Voćno	*	3,0 b	5,0 a
Cvjetno	NZ	3,5	3,0
Povrtno	*	3,5 a	2,0 b
Začinsko	NZ	0,5	0,5
Animalno	NZ	0,5	0,5
Prženo	NZ	0,5	0,5
Slatko	NZ	3,0	3,0
Kiselo	NZ	3,0	3,0
Gorko	*	1,5 b	2,5 a
Adstrigento	NZ	0,5	0,5
<i>Opći dojam</i>			
Neuravnoteženo	NZ	0,0	0,0
Postojano	*	4,0 a	2,0 b

<i>Izgled</i>			
Čistoća	NZ	6,0	6,0
Boja	NZ	8,0	8,0
<i>Defekti/Mane</i>			
Biljno	NZ	0,5	0,5
Trula jabuka	NZ	0,0	0,0
Octikavo	NZ	0,0	0,0
Ljepljivo	NZ	0,0	0,0
Sapunasto	NZ	0,0	0,0
Sulfitno	NZ	0,0	0,0
Pokvareno jaje	NZ	0,0	0,0
Luk	NZ	0,0	0,0
Karfiol	NZ	0,0	0,0
Miris na konje	NZ	0,0	0,0
Zemljano	NZ	0,0	0,0
Miris na čep	NZ	0,0	0,0

* Rezultati predstavljaju prosječne vrijednosti 15 obučeni panelista. NZ – nije značajno pri $p < 0,05$; - značajno pri $p < 0,05$. Različita slova unutar istog retka označavaju statistički značajne razlike između uzoraka (prema Tukey-jevom testu signifikantne razlike, $p \leq 0,05$).

3.2. GC-MS analiza hlapljivih spojeva vina Pošip

U tablici 5 prikazani su hlapljivi spojevi identificirani u uzorcima vina Pošip. Spojevi su poredani prema redosljedu eluiranja (retencijsko vrijeme) sa kolone X5MS.

Tablica 5. Kemijski sastav i sadržaj hlapljivih spojeva u uzorcima vina Pošip

R.br.	Retencijsko vrijeme	Naziv spoja	ANOVA	X-5 (mg/L)	X-16 (mg/L)	Kemijska skupina	Senzorski opis
1	6,504	Butan-2,3-diol	**	0,0449 a	0,0189 b	alkohol	voćno, kremasto, po maslacu
2	7,225	Etil-butanoat	**	0,0078 b	0,0196 a	ester	voćno, sočno, ananas
3	10,965	Heksan-1-ol	**	0,0359 a	0,0180 b	alkohol	zeleno, po travi, drveno, slatko
4	11,382	Izoamil-acetat	***	2,2181 b	3,7811 a	ester	banana, kruška
5	13,113	2-Amino-6-metil benzojeva kiselina	NZ	0,0304	0,0845	kiselina	slatko
6	14,662	<i>N,N</i> -dietil- <i>p</i> -nitroanilin	NZ	0,0168	0,0229	amin	/
7	19,852	Etil-heksanoat	**	1,7927 a	1,1336 b	ester	slatko, ananas, voćno, voštano, banana, zeleno
8	20,858	Heksil-acetat	**	0,3700 a	0,1659 b	ester	voćno, zeleno, svježije, slatko, banana, jabuka
9	21,807	Limonen	NZ	0,0012	0,005	terpen	citrusno, naranča, svježije, slatko
10	23,178	Etil-heks-2-enoat	NZ	0,0029	0,0008	ester	voćno, zeleno, slatko, sočno

11	24,056	Etil-3-hidroksi butirat	NZ	0,0043	0,0036	ester	voćno, zeleno, grejp, jabuka, tropsko
12	25,245	Oktan-1-ol	NZ	0,0042	0,0074	alkohol	citrusno, masno, drveno, voštano
13	26,038	Nonan-2-on	***	0,0015 b	0,0363 a	keton	sir, kokos, uljno, masno, po travi, cvjetno, voćno
14	26,38	Propil-heksanoat	**	0,0013 b	0,0123 a	ester	ananas, voćno, slatko, tropsko, svježe, zeleno
15	27,271	Linalil-izobutirat	NZ	0,0046	0,0039	ester	voćno, po bobičastom voću, slatko, citrusno
16	27,645	Nonanal	NZ	0,0108	0,0012	aldehid	jabuka, kokos, grožđe, grejp, limun, limeta, dinja
17	27,885	2-feniletanol	***	0,2635 b	0,3138 a	alkohol	med, ruža
18	29,125	Metil-oktanoat	NZ	0,0049	0,0033	ester	zeleno, voćno, voštano, citrusno, masno
19	31,104	Izobutil-heksanoat	NZ	0,0012	0,0011	ester	slatko, voćno, ananas, jabuka, zeleno, kruška
20	32,188	(E)-heks-2-enil-benzoat	NZ	0,0005	0,0004	ester	svježe, balzamično, sapunasto, drvenasto
21	32,353	Linalol	NZ	0,0007	0,0003	terpen	citrusno, cvjetno, drvenasto, borovnica
22	33,206	Dietil-sukcinat	NZ	0,0193	0,0318	ester	voćno, jabuka, kuhano
23	34,739	2-Metilbutil-oktanoat	***	18,4683 a	11,2739 b	ester	voćno

24	35,121	Pentadekanska kiselina	NZ	0,0028	0,0012	kiselina	voštano
25	35,484	Oktil-acetat	NZ	0,0076	0,0103	ester	zeleno, zemljano, gljive, trava, voštano, voćno
26	35,677	2,6-Dimetiloktan	NZ	0,0003	0	alkan	/
27	35,835	Dietilenglikol-diacetat	NS	0,001	0,0026	ester	/
28	35,974	2,3-Dihidrobenzofuran	NZ	0,0006	0	benzofuran	/
29	36,57	Heksadekan	NZ	0,0004	0,0004	alkan	/
30	36,715	Citronelol	NZ	0,0017	0,042	terpen	geranij, ruža
31	38,23	2-Feniletil-acetat	NZ	0,1654	0,2113	ester	cvjetno, ruža, slatko, med, voćno, tropsko
32	38,483	(E)-Dec-2-enal	**	0,0011 b	0,0182 a	aldehid	voštano, masno, zemljano, zeleno, gljive, korijander
33	39,311	5-Metilundekan	NZ	0,0007	0,0004	alkan	/
34	39,608	3-Fenilprop-2-enal	NZ	0,0014	0,0013	aldehid	začinsko, aromatsko, balzamično, cimet, med
35	39,783	Dekan-1-ol	**	0,0079 b	0,0125 a	alkohol	masno, voštano, cvjetno, naranča, slatko, vodenasto
36	40,06	Nonadekan	NZ	0,002	0,0006	alkan	/

37	40,479	Estragol	NZ	0,0006	0,0003	terpen	alkoholno, po travi, menta, zeleno
38	41,122	Izopropil-oktanoat	NZ	0,0109	0,0049	ester	voćno, banana, kokos, konjak
39	41,387	Etil-nonanoat	**	0,0123 a	0,0085 b	ester	voćno, ruža, voštano, vinsko, tropsko
40	41,837	4-Hidroksi-3-metilacetofenon	NZ	0,0071	0,0018	keton	/
41	43,256	Metil-dekanoat	NZ	0,0092	0,0048	ester	uljno, vinsko, voćno, cvjetno
42	44,843	Izobutil-oktanoat	NZ	0,007	0,0091	ester	voćno, zeleno, uljno, cvjetno
43	44,956	Citronelol-acetat	NZ	0,0034	0,0011	terpensi ester	cvjetno, ruža, zeleno, masno, limun, kruška
44	45,867	(<i>E</i>)-9- Dodecenal	NZ	0,001	0,0004	aldehid	citrusno, metalno, mandarina, naranča
45	47,166	Kopaen	***	0,0036 b	0,2066 a	terpen	drveno, začinsko, med
46	47,468	Etil-dec-9-enoat	NZ	0,4178	0,3511	ester	zeleno jabuka, kruška, dinja, ljubičica
47	48,339	Dodekanska kiselina	NZ	14,3131	14,2786	kiselina	užeglo, kiselo, masno, citrusno
48	48,939	Dodekanal	NZ	0,009	0,0064	aldehid	po travi, voštano, cvjetno, slatko
49	51,234	3-Metilbutil-oktanoat	NZ	0,1404	0,1271	ester	slatko, uljno, voćno, zeleno, sapunasto, ananas

50	51,377	2-Metilbutil-nonanoat	NZ	0,0229	0,0243	ester	voćno
51	52,175	2-Metildodekan	NZ	0,0008	0,0003	alkan	/
52	52,971	Undekanol	NZ	0,0017	0,0034	alkohol	grožđe, limun, limeta, zeleno, slatko
53	53,287	Heksadekan	***	0,0015 b	0,0256 a	alkan	bez mirisa
54	53,974	Propil-dekanoat	NZ	0,0177	0,0054	ester	voštano, voćno, masno, zeleno, po travi, drveno
55	54,23	Etil-undekanoat	*	0,0040 a	0,0019 b	ester	sapunasto, voštano, masno, konjak, kokos
56	55,726	Metoksicitronelal	NZ	0,0009	0,0007	terpen	cvjetno, svježe, dinja, ljiljan, slatko
57	55,945	Metil-dodekanoat	NZ	0,002	0,0009	ester	voštano, sapunasto, kremasto, kokos, gljive
58	57,056	Izobutil-dekanoat	NZ	0,0103	0,0126	ester	fermentirano
59	57,459	4,6-dimetildodekan	NZ	0,0001	0	alkan	/
60	57,68	Nerolidol	NZ	0,0017	0,001	terpen	jabuka, citrusi, drveno, zeleno, ruža
61	57,946	Tridekanska kiselina	NZ	0,0295	0,0218	kiselina	užeglo, kiselo, masno, citrusno
62	58,456	Oleinska kiselina	NZ	0,0006	0,0009	kiselina	bez mirisa

63	58,689	Oktil-oktanoat	NZ	0,0031	0,0006	ester	kokos, uljno, vočno
64	59,311	Etil-heksadekanoat	**	1,1981 b	3,8711 a	ester	voštano, sapunasto
65	59,768	2-Heksildekan-1-ol	NZ	0,0022	0,0032	alkohol	blago sladak miris
66	59,9	Tetradekanal	NZ	0,004	0,0048	aldehid	masno, kokos, drvenasto
67	60,434	1-Joddekan	NZ	0,0033	0,0036	alkan	/
68	60,773	2,6-Dimetilokta-1,7-dien -3,6-diol	NZ	0,002	0,0036	alkohol	/
69	60,934	3-Metilbutil- pentadekanoat	NZ	0,2057	0,2429	ester	voštano, banana, vočno, slatko
70	61,552	4-Metildodekan	NZ	0,0011	0,0015	alkan	/
71	62,115	Heptadec-1-en	NZ	0,0024	0,0047	alken	/
72	65,44	Etil-tetradekanoat	***	0,1297 b	0,1869 a	ester	med, masno
73	66,697	2-Metilbutil-laurat	NZ	0,0409	0,0368	ester	masno
74	69,514	Etil-heksadec-9-enoat	**	0,1629 a	0,1395 b	ester	voštano, kremasto, masno, sapunasto
75	69,887	Etil-heksadekanoat	NZ	0,2673	0,2709	ester	voštano

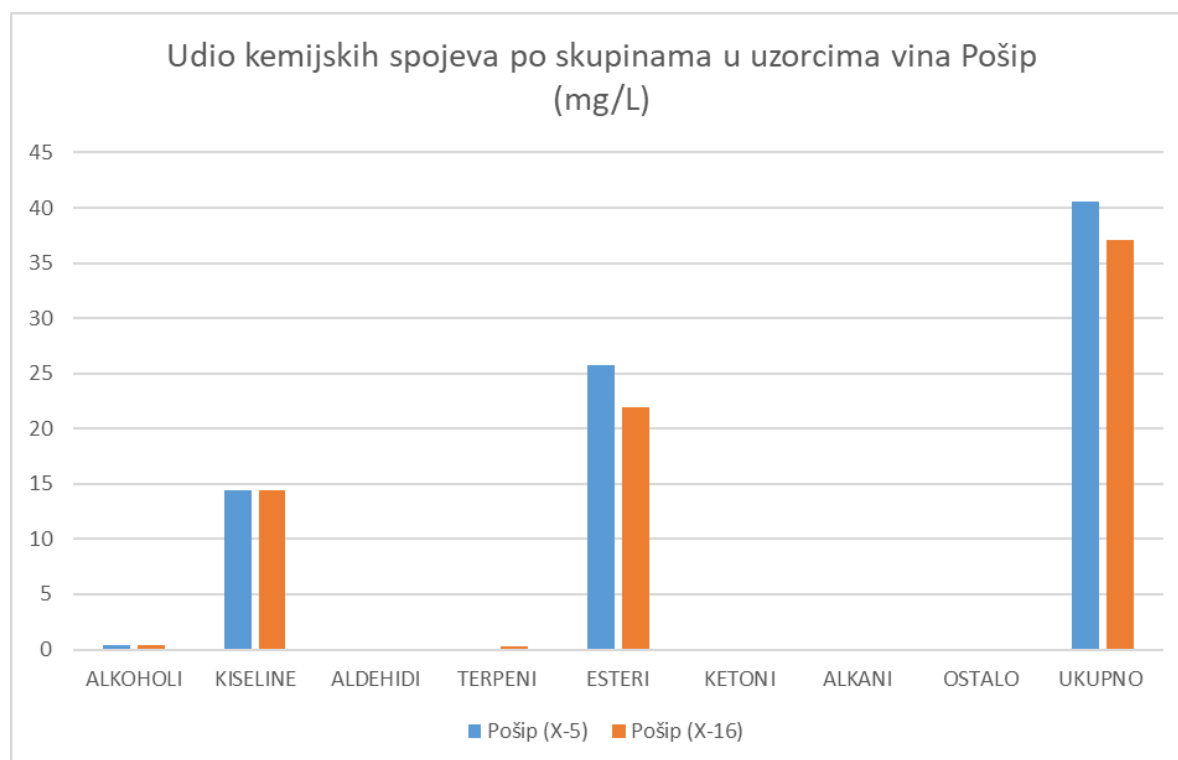
76	72,63	Etil-linoleat	NZ	0,0076	0,0068	ester	voštano, voćno, kremasto, mliječno, balzamično
77	72,758	Etil-oleat	NZ	0,0108	0,0081	ester	voštano
78.	73,302	Etil-oktadekanoat	NZ	0,0058	0,0027	ester	voštano
UKUPNO			***	40,5747 a	37,1276 b		

Rezultati predstavljaju prosječne vrijednosti 3 ponavljanja. NZ – nije značajno pri $p < 0,05$; *, **, ***- značajno pri $p < 0,05$, $0,01$ i $0,001$. Različita slova unutar istog retka označavaju statistički značajne razlike između uzoraka (prema Tukey-evom testu signifikantne razlike, $p \leq 0,05$).

Tablica 6. Udio hlapljivih spojeva po skupinama u uzorcima vina Pošip

Skupina kemijskih spojeva	ANOVA	X-5 (mg/L)	X-16 (mg/L)
Alkoholi	*	0,3623 b	0,3808 a
Esteri	*	25,7597 a	21,9735 b
Kiseline	NZ	14,3764	14,3870
Alkani	NZ	0,0102	0,0324
Terpeni	**	0,0104 b	0,2559 a
Ketoni	NZ	0,0086	0,0381
Aldehidi	*	0,0273 a	0,0323 b
Ostalo	NZ	0,0198	0,0276
UKUPNO	**	40,5747 a	37,1276 b

Različita slova unutar istog retka označavaju statistički značajne razlike između uzoraka (prema Tukey-
evom testu signifikantne razlike, $p \leq 0,05$).



Slika 15 . Sadržaj hlapljivih spojeva po skupinama u uzorcima vina Pošip

4. RASPRAVA

Na aromu vina utječu brojni faktori kao što su sorta grožđa, vinogradarska praksa te posebno primijenjeni enološki postupci tijekom proizvodnje i starenja vina. Veliki dio spojeva arome sintetizira se tijekom alkoholne fermentacije, kao sekundarni kvaščevi metaboliti. Različiti sojevi kvasaca različito doprinose kompleksnosti arome vina. Konačan aromatični profil rezultat je kemijskih reakcija koje se odvijaju tijekom dozrijevanja i starenja vina, prvenstveno oksidacije i hidrolize.²⁴

Cilj ovog rada bio je utvrditi utjecaj soja kvasca na senzorska svojstva i sastav hlapljivih spojeva vina Pošip. U tu svrhu provedena je senzorska analiza uzoraka vina te izolacija i identifikacija hlapljivih spojeva.

Senzorska analiza

Brojne su studije u kojima se provodila senzorska procjena vina primjenom deskriptivne senzorske analize kako bi se bolje razumjela kvaliteta vina i njegova senzorska obilježja. U pojedinim istraživanjima se dodatno provodila i analiza hlapljivih aromatičnih spojeva kako bi pridonijela boljem razumijevanju osjetilne senzorske percepcije vina.

U ovom radu u uzorcima vina su ocjenjivana sljedeća svojstva: miris, okus, opći dojam, izgled te prisustvo mana (tablica 4). Ova svojstva su ocjenjivana prema opisnim obilježjima definiranim u tablici 3 pri čemu su ocjenjivači koristili referentne otopine za svako navedeno obilježje.

U senzorskoj analizi uzoraka vina ocjenjivana su ukupno 34 opisna obilježja (7 u svojstvu mirisa, 11 u svojstvu okusa, 2 u svojstvu općeg dojma, 2 u svojstvu izgleda i 12 mogućih mana). Gledajući cjelokupne rezultate senzorske analize može se utvrditi kako je od 34 opisna obilježja kod njih osam utvrđena statistički značajna razlika. Od toga u ocjenjivanju mirisa utvrđena je značajna razlika kod opisa obilježja alkoholno, voćno i animalno. Alkoholno i voćno izraženiji su u uzorku X-16, dok je obilježje animalno utvrđeno samo u uzorku X-5. U ocjenjivanju svojstva okusa od 11 navedenih opisnih obilježja statistička značajnost je utvrđena kod četiri, a to su: alkoholno, voćno, povrtno i gorko. Voćnost i gorčina su bile jače izražene u uzorku X-16, dok je alkoholno obilježje okusa bilo izraženije u uzorku X-5. U ocjenjivanju općeg dojma oba uzorka su ocijenjena kao postojana i uravnotežena iako postoji statistički značajna razlika u smislu dodijeljenih ocjena. Kod ocjenjivanja izgleda tj. boje i čistoće oba uzorka su dobila relativno visoke ocjene (6 i 8) te među njima nije utvrđena statistički značajna

razlika. Prilikom ocjenjivanja prisustva mana (defekata) u uzorcima vina utvrđena je ista vrijednost (0,5) intenziteta mane „biljno“ kod oba uzorka, dok ostale mane nisu identificirane.

Hlapljivi spojevi

Vino sadrži na tisuće hlapljivih spojeva koji značajno pridonose aromi vina. Znanstvena istraživanja donose niz čimbenika koji utječu na nastanak hlapljivih aromatičnih spojeva. Među značajnijim su sorta grožđa, klimatski uvjeti, položaj terena te suvremene fermentacijske tehnike. Sve je više istraživanja usmjereno na unaprjeđenje fermentacijskih postupaka s ciljem proizvodnje visoko kvalitetnih, harmoničnih vina, s izraženim pozitivnim aromama s naglaskom na zadržavanje specifičnosti tla i regije proizvodnje.

Jedan od značajnijih čimbenika u ostvarivanju ovih ciljeva svakako je korištenje odgovarajućih sojeva kvasaca koji su sposobni tijekom fermentacije proizvesti što je moguće više hlapljivih aromatičnih spojeva.²⁴

Hlapljivi spojevi vina ispitani u ovom radu izolirani su mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME), a analiza istih je provedena vezanim sustavom plinska kromatografija-masena spektrometrija (GC-MS). Dobiveni rezultati su prikazani u tablicama 5 i 6.

U uzorcima vina ukupno je identificirano 78 hlapljivih spojeva (tablica 5). Uzorak X-5 imao je veći (40,5747 mg/L) ukupni udio hlapljivih spojeva u odnosu na uzorak X-16 (37,1276 mg/L), te je među uzorcima utvrđena statistički značajna razlika. Identificirani hlapljivi spojevi svrstani su sljedeće kemijske skupine: alkoholi, esteri, kiseline, alkani, terpeni, ketoni, aldehidi i ostalo. Na slici 15 prikazana je zastupljenost hlapljivih spojeva po skupinama u uzorcima vina. U oba uzorka najzastupljeniji su bili esteri i kiseline.

Esteri

Esteri predstavljaju vrlo važnu grupu spojeva. Važni su i za okus, ali posebnu važnost imaju za aromu vina. Dvije su grupe estera u vinu: tzv. „voćni“ esteri nastaju tijekom alkoholne fermentacije i imaju izrazite svježje, privlačne, voćne arome, a druga grupa estera nastaje tijekom dozrijevanja vina. Fermentacijski esteri također se dijele u dvije grupe, acetatni esteri viših alkohola i etilni esteri masnih kiselina. Obje su grupe rezultat metabolizma kvasaca.²⁶

Acetatni esteri nastaju reakcijom kondenzacije viših alkohola s acetil-CoA. Reakcija je katalizirana enzimom alkohol acetiltransferazom. Smatra se da najveći dio etilnih estera masnih kiselina nastaje enzimskim reakcijama esterifikacije aktivirane masne kiseline (acil-CoA) nastale tijekom početnog stadija biosinteze lipida.²⁹

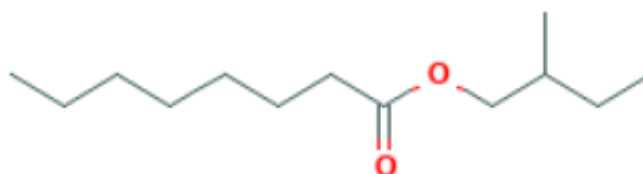
Esteri su prisutni u malim količinama u grožđu, ali su veoma značajni spojevi prilikom formiranja arome. Kako su esteri vrlo hlapljivi spojevi, tijekom prve godine dozrijevanja vina osobito u neodgovarajućim uvjetima (više temperature, oksidativni uvjeti), njihove koncentracije opadaju. Gubitak voćnih i cvjetnih aroma mladih bijelih vina tijekom skladištenja ponajviše je povezan s hidrolizom estera.³⁰ Čuvanje vina na nižim temperaturama jedan od preduvjeta očuvanja finih, svježih, voćnih mirisa. Etilni esteri imaju vrlo ugodne mirise po voću i medu te doprinose aromi bijelih vina. Prisutni su u ukupnim koncentracijama od nekoliko mgL⁻¹.⁴² Etilni esteri masnih kiselina kao što su etil- heksanoat, etil-oktanoat ili etil-dekanoat su nositelji cvjetnih i voćnih nota mladih vina, dok tijekom starenja dolazi do promjena u koncentraciji navedenih spojeva.⁴⁴

Najvažniji faktori koji utječu na nastajanje estera su sadržaj šećera, kisika, lipida, raspoloživog dušika i temperatura fermentacije. Veći udio estera se stvara kada je povećana količina aminokiselina u moštu, a aminokiseline arginin, glutamat i glutamin su glavnih prekursori estera.⁴⁰ Voćni esteri kao što su izoamil-acetat, izobutil-acetat, etil-butirat i heksil-acetat sintetiziraju se pri temperaturama od 10-15 °C, dok se nešto „teži“ esteri kao što su etil-oktanoat, 2-fenil-acetat i etil-dekanoat sintetiziraju pri temperaturama od 15-20 °C. Sinteza acetatnih estera generalno je viša kod spore i otežane fermentacije te fermentacije pri nižim temperaturama. Iako ovi esteri imaju ugodne voćne mirise na bananu, jabuku i ružu, njihova visoka koncentracija može maskirati sortne arome.³⁰

Prema rezultatima vidljivo je kako su esteri najzastupljenija skupina kemijskih spojeva u ispitanim uzorcima vina Pošip. Uglavnom pripadaju skupini spojeva sekundarne arome vina odnosno arome fermentacije i nositelji su voćnih, cvjetnih, svježih i zelenih senzorskih obilježja. U skupini estera uglavnom dominiraju etilni esteri viših masnih kiselina. Viši sadržaj estera utvrđen je u uzorku X-5 (25,7587 mg/L), dok su u uzorku X-16 prisutni u sadržaju od 21,9781 mg/L. Kvantitativno najzastupljeniji esteri u oba uzorka su 2-metilbutil-oktanoat (18,4683 mg/L i 11,2739 mg/L) i etil-heksadekanoat (1,1981 mg/L i 3,8711 mg/L). U sadržaju ovih estera utvrđena je statistički značajna razlika. Značajne razlike u sadržaju uočene su i u sljedećim esterima: etil-butanoat,

izoamil-acetat, etil-heksanoat, heksil-acetat, propil- heksanoat, etil-nonanoat, etil-undekanoat, etil-heksadekanoat, etil-tetradekanoat i etil-dec-9-enoat.

Od navedenih spojeva najveća razlika u sadržaju je utvrđena kod estera 2-metilbutil-oktanoata (slika 16) koji je više zastupljen u uzorku X-5, a odgovoran je za aromu voćnosti.



Slika 16. Kemijska struktura 2-metilbutil-oktanoata ⁴¹

Terpeni

Glavni aromatični spojevi koji su odgovorni za primarnu aromu vina su terpeni. Klasifikacija terpena se provodi prema broju izoprenskih jedinica koje čine osnovu njihove strukture. Terpenski skelet se pojavljuje u obliku otvorenog lanca, ali i u različitim cikličkim formama tako da je moguća daljnja podjela terpena na acikličke i cikličke. Mogu sadržavati različite funkcijske skupine. Prema funkcijskim skupinama terpeni mogu biti ugljikovodici, alkoholi, fenoli, kiseline, esteri, oksidi, aldehidi, ketoni i drugi.⁴⁵

Koncentracija terpena ovisi o sorti grožđa, ali i tehnološkom postupku prerade i njege vina. Terpenski spojevi imaju neizravnu ulogu u formiranju arome jer u sinergističkim vezama djeluju kao pojačivači arome te pridonose ukupnoj kompleksnosti vina.²⁸

Utvrđeno je kako temperatura fermentacije utječe na koncentraciju terpena u vinu. Pri višim temperaturama fermentacije koncentracija terpena opada pri čemu se gubi voćnost budućeg vina uslijed hlapljenja monoterpena.³⁰

Ove spojeve možemo detektirati u svim vinima, ali u većini vina njihova koncentracija je jako mala i neprepoznatljiva kao specifična aroma. Podrijetlom su iz grožđa i predstavljaju primarnu grožđanu aromu. Neke aromatične sorte, primjerice Traminac ili muškatne sorte, imaju puno viši sadržaj terpena u odnosu na većinu drugih sorti (1-5 mg/L). Ta aroma prepoznatljiva je u grožđu i dominira tijekom cijelog života vina.²⁶

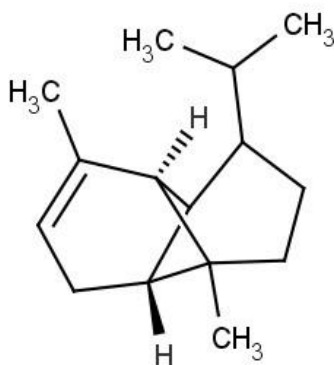
Nosioci sorte arome su uglavnom terpenški spojevi, a među njima se najviše ističu monoterpeni koji su odgovorni za voćne i cvjetne arome u vinu.⁴⁵

Monoterpeni se javljaju u obliku jednostavnih ugljikovodika (limonen, mircen itd.), aldehida (linalal, geranial itd.), alkohola (linalol, geraniol), kiselina (linalna i geranijska kiselina) i estera (linalil-acetat). Najveća količina monoterpena se nalazi u kožici bobice te se načinom i dužinom trajanja maceracije može utjecati na njihovu količinu u moštu i vinu.²⁶

Različita senzorska obilježja vina, poput cvjetnih, voćnih i citrusnih nota pripisuju se monoterpenima linalolu, nerolu i citronelolu.⁴⁶

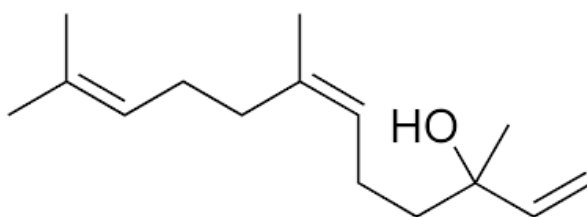
U ispitanim uzorcima vina Pošip identificirani su sljedeći terpenški spojevi: limonen, linalol, citronelol, estragol, kopaen, metoksicitronelal i nerolidol. Statistički značajna razlika utvrđena je samo u sadržaju kopaena (0,0036 mg/L u uzorku X-5 i 0,2066 mg/L u uzorku X-16). Linalol daje specifičan miris na ružu.⁴⁴ Kopaen je identificiran iz brojnih sorti grožđa, uključujući Cabernet Sauvignon, Gewürztraminer, Rizling, Žuti muškat i Shiraz.²⁸

Kopaen pripada skupini seskviterpena (slika 17). Pojedina znanstvena istraživanja tog spoja su pokazala da je sadržaj seskviterpena u sorti grožđa odgovoran za organoleptička i nutritivna svojstva proizvoda od grožđa. Međutim, istraživanja seskviterpena u grožđu i vinu su nedostatna u usporedbi s dugim skupinama terpena, poput monoterpena i izoprenoida.⁴⁷



Slika 17. Kemijska struktura kopaena⁴⁷

Prema Li i sur. (2020.) glavni predstavnici seskviterpena pronađeni u grožđu i vinu su α - i β -kariofilen, germakren, farnesol i nerolidol. Od navedenih spojeva u uzorcima vina Pošip identificiran je nerolidol (slika 18).

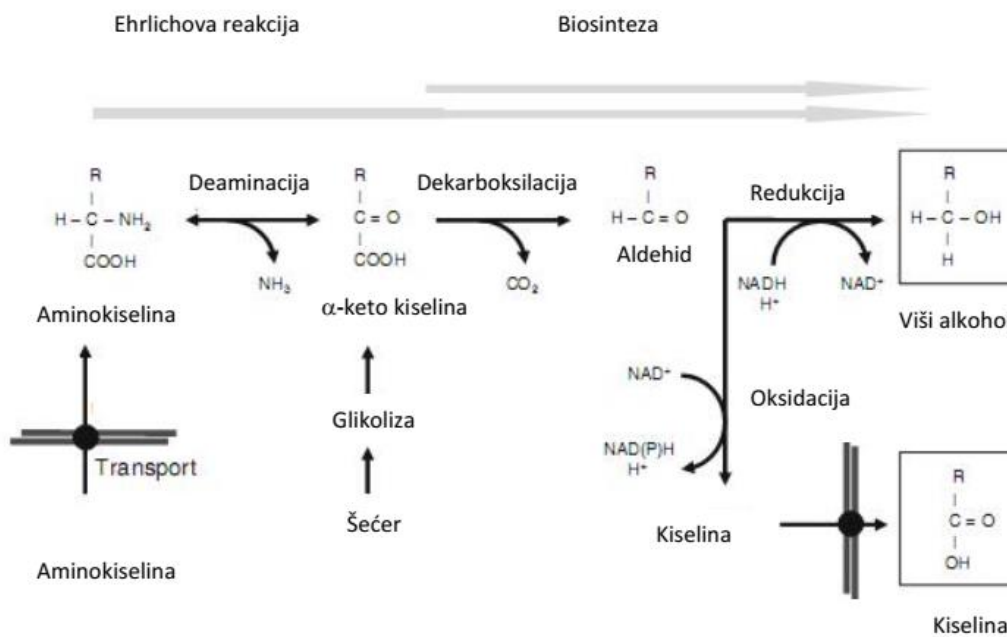


Slika 18. Kemijska struktura nerolidola ⁴⁸

Viši alkoholi

Osim etanola kao najzastupljenijeg alkohola u vinu, tijekom fermentacije nastaju i alkoholi s više od 2 ugljikova atoma, a nazivaju se viši alkoholi. U manjim koncentracijama (manje od 300 mg/L) doprinose aromi vina, dok u višim koncentracijama mogu dati neke neugodne arome ili pak maskirati sortne arome.³⁰

Viši alkoholi nastaju radom kvasca *Saccharomyces cerevisiae* tijekom alkoholne fermentacije. Uz hlapljive estere bitan su čimbenik fermentacijske arome vina.⁵⁰ Viši alkoholi su s kvantitativne točke gledišta najvažnija skupina hlapljivih spojeva koji nastaju tijekom alkoholne fermentacije šećera u moštu pomoću kvasaca. Oni mogu nastati metabolizmom ugljikohidrata (anabolički) i transformacijom odgovarajućih aminokiselina (katabolički) – Ehrlichova reakcija (slika 19).²⁹ U manjim koncentracijama (manje od 300 mg/L) doprinose aromi vina, dok u višim koncentracijama mogu dati neke neugodne arome ili pak maskirati sortne arome. Faktori koji utječu na povećanu sintezu viših alkohola su prisutnost kisika te više temperature alkoholne fermentacije.⁴³ U većini istraživanja sinteza izobutanola, izamilnog alkohola i 2-feniletanola povećavala se kako je rasla temperatura fermentacije.³⁰ Međutim, najveći doprinos viših alkohola aromi vina je u sintezi estera reakcijom s kiselinama, a to se u pravilu odvija pri nižim temperaturama. U skupini viših alkohola jedino 2-feniletanol koji se povezuje s mirisom ruže značajno pozitivno doprinosi aromi vina, dok se za veći udio drugih viših alkohola smatra da negativno utječu na aromu vina jer daju senzorski opis kuhanog.⁴⁹

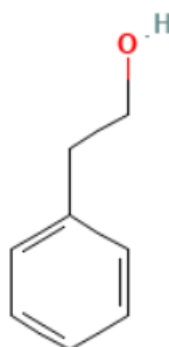


Slika 19. Nastanak viših alkohola iz šećera i aminokiselina²⁹

Viši alkoholi i esteri nastaju tijekom alkoholne fermentacije i njihova koncentracija ovisi o sastavu mošta, upotrijebljenom soju kvasca, temperaturi fermentacije te tehnologiji proizvodnje. Ukoliko se fermentacija provodi pri sobnoj temperaturi u pravilu nastaje niža koncentracija viših alkohola nego pri nižim temperatura.⁵⁰ Viši alkoholi razgranatog lanca koji su nastali od aminokiselina razgranatog lanca, uključujući izoamil-alkohol i izobutil-alkohol imaju arome paljenja, slada i viskija ili gorke arome. Aromatske aminokiseline, uključujući fenilalanin i tirozin, proizvode aromatične alkohole kao što je 2-feniletanol koji ima medne i začinske arome te arome ruže i ljiljana.³⁰ Glavni predstavnici viših alkohola u vinu su: propan-1-ol, izobutanol (2-metilpropan-1-ol), amilni alkohol (2-metilbutan-1-ol), izoamilni alkohol (3-metilbutan-1-ol) i 2-feniletanol. Za aromu Chardonnay vina značajni su 2-metilpropan-1-ol i 3-metilbutan-1-ol.²⁹ Viši alkoholi su supstrati za nastanak acetatnih estera u reakciji kataliziranoj enzimom alkohol acetiltransferazom. Brojni acetatni esteri su povezani s cvjetnim i voćnim aromama u vinu. Koncentracija aminokiselina u moštu je ključan čimbenik koji utječe na nastanak viših alkohola u vinu. Povećana koncentracija specifičnih prekursora aminokiselina u pravilu će osigurati i veći sadržaj viših alkohola u vinu. Stoga, ukoliko se žele proizvoditi vina s višim sadržajem 2-feniletanola koriste

se posebni sojevi kvasaca koji tijekom fermentacije osiguravaju više prekursora odgovarajuće aminokiseline.⁵⁰

Od identificiranih alkohola u ispitanim uzorcima vina Pošip kvantitativno najzastupljeniji je 2-feniletanol (0,2635 mg/L u uzorku X-5 i 0,3138 mg/L u uzorku X-16). Između ispitanih uzoraka postoji statistički značajna razlika u sadržaju ovog spoja. 2-Feniletanol uglavnom nastaje iz odgovarajuće aminokiseline fenilalanina tijekom alkoholne fermentacije, ali dio 2-feniletanola je prisutan i u grožđu u vezanom obliku (slika 20).³⁹



Slika 20. Kemijska struktura 2-feniletanola ⁵²

Kvasci su odgovorni za nastanak butandiona, acetoina i butan-2,3-diola iz piruvata. Prema Cheynier i sur., 2010., prisustvo butan-2,3-diola u vinu može pridonijeti ukupnoj aromatskoj ravnoteži vina. Senzorski opis mu je voćno i kremasto.⁵³

Kiseline

Vino sadrži masne kiseline kratkog lanca (C2 - C4), srednjeg lanca (C6 - C10), dugačkog lanca (C12 - C18) i skupinu masnih kiselina razgranatog lanca (2-metil propanska, 2-metilbutanska i 3-metilbutanska kiselina). Masne kiseline srednjeg lanca (C6 - C10) važne su za ukupnu aromu vina, a sintetiziraju ih kvasci kao međuprodukt pri biosintezi masnih kiselina dugog lanca. Među njima najznačajnije su kapronska, kaprilna i kaprinska kiselina.²⁹ Masne kiseline srednjeg lanca kao što su heksanska, oktanska i dekanska također igraju bitnu ulogu u aromi vina, a njihova koncentracija ovisi o sastavu mošta, sorti, soju kvasca i temperaturi fermentacije.³⁰ Nastanak masnih kiselina srednjeg lanca kao i niz drugih aromatičnih spojeva koji se stvaraju tijekom alkoholne fermentacije ovisi o kemijskom sastavu mošta, sorti, soju kvasaca, temperaturi fermentacije te tehnologiji proizvodnje.⁵⁴ U ispitanim uzorcima vina Pošip

nije utvrđena statistički značajna razlika u sadržaju masnih kiselina. Od identificiranih masnih kiselina kvantitativno najzastupljenija u oba uzorka vina je dodekanska kiselina (14,3131 mg/L i 14,2786 mg/L).

Hlapljive masne kiseline kao što su pentanska, heksanska, oktanska i dodekanska masna kiselina daju vinima cvjetna obilježja. U vinu sorte Traminac utvrđen je sadržaj od 32,175 mg/L.⁵⁵ Koncentracija pojedinačnih masnih kiselina u vinu uglavnom ne prelazi olfaktivne pragove, ali u interakciji s drugim hlapljivim spojevima pozitivno utječe na njegove aromatične karakteristike.

Ostali spojevi

Aldehidi su organski spojevi osebujnog mirisa koji nastaju oksidacijom primarnih alkohola, a daljnjom oksidacijom prelaze u kiseline.²⁶ U ispitanim vinima utvrđena je razlika u sadržaju (*E*)-dec-2-enala gdje je uzorak X-16 imao veći udio tog spoja. Ketona u moštu i vinu ima vrlo malo no uočena je razlika u sadržaju nonan-2-ona gdje je uzorak X-16 imao veću udio tog spoja. Razlike su još identificirane u količini nonanala (aldehid), pentadekana (alkan), nonan-2-ona (keton). Uzorak X-16 imao je veći udio svih navedenih spojeva.

5. ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata istraživanja provedenim u ovom radu mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- Postavljeni cilj istraživanja (utvrđivanje utjecaja soja kvasca na senzorska svojstva i sastav hlapljivih spojeva vina Pošip) je ostvaren.
- Rezultati senzorske analize vina Pošip pokazali su da su najveći intenziteti mirisnih i okusnih obilježja bili „voćno“ i „cvjetno“. Navedena aromatična svojstva u pravilu se pripisuju esterima, hlapljivim alkoholima i terpenima identificiranim u uzorcima vina. Uzorak X-16 imao je nešto veće intenzitete „voćnosti“ dok su „cvjetni“ intenziteti bili viši u uzorku X-5. Oba uzorka su bila ujednačene gorčine te u općem dojmu opisana kao ujednačena i postojana.
- Primijenjena metoda ekstrakcije hlapljivih spojeva vina (HS-SPME) pokazala je vrlo sličan kvalitativni i kvantitativni sastav u oba uzorka vina. Identificirani hlapljivi spojevi su svrstani u sljedeće kemijske skupine: alkoholi, esteri, kiseline, terpeni, ketoni, aldehidi, alkani i ostali. U uzorku X-5 utvrđen je viši udio hlapljivih spojeva (40,5747 mg/L) u odnosu na uzorak X-16 (37,1276 mg/L).
- Prema dobivenim rezultatima statistički značajna razlika između uzoraka utvrđena je u sadržaju alkohola, estera, terpena i aldehida.
- Najzastupljeniji spojevi u oba uzorka vina su spojevi sekundarne (fermentacijske) arome, a to su esteri i kiseline. U skupini estera dominiraju etilni esteri viših masnih kiselina (2-metilbutil-oktanoat, etil-heksadekanoat, etil-dec-9-enoat, etil-tetradekanoat, etil-linoleat). Najviši udio u oba uzorka vina imao je ester 2-metilbutil-oktanoat čiji je senzorski opis „voćno“. U udjelu ovog estera postoji statistički značajna razlika u ispitanim uzorcima vina. Acetatni esteri su manje zastupljeni, a posebno značajan je udio izoamil-acetata koji se opisuje voćnim mirisima. U uzorku X-16 utvrđen je viši udio ovog estera što se može dovesti u korelaciju s rezultatima senzorske analize gdje su obilježja „voćnosti“ viših intenziteta u uzorku X-16.
- Od identificiranih kiselina u ispitanim uzorcima vina utvrđen je najviši udio dodekanske kiseline, ali među uzorcima nije utvrđena statistički značajna razlika.

- Među identificiranim alkoholima značajan je 2-feniletanol kojeg ima više u uzorku X-16, a povezuje se mirisom na ružu i med.
- Za dobivanje potpunijeg zaključka o utjecaja soja kvasca na senzorska svojstva i sastav hlapljivih spojeva vina Pošip potrebno je provesti daljnja istraživanja na većem broju berbi grožđa sorte Pošip, s različitim intervalima miješanja u različitom vremenu držanja vina na talogu kvasaca, korištenjem drugih sojeva kvasaca te drugih metoda izolacije hlapljivih spojeva. Daljnja ispitivanja bi također trebalo provesti u smislu korelacije identificiranih hlapljivih spojeva s senzorskim svojstvima vina kako bi se utvrdio utjecaj pojedinih spojeva na aromu vina.

6. LITERATURA

1. D. Fabijanić, I. Čuljak, *Vina Hrvatske*, Gran Cro-vrsna hrvatska vinska gospodarstva
2. S. Herjavec, *Vinarstvo*, Nakladni Zavod Globus, Zagreb, 2019.
3. Zakon o vinu, Narodne Novine, broj 96/2003
4. <https://croatia.hr/en-GB/experiences/gastronomy-and-enology/posip>
5. <https://www.nacional.hr/en-primeur-2018-kusanje-mladih-grasevina-posipa-i-drugih-sorti/>
6. Lj. Rumora, *Bijelo vino Pošip s otoka Korčule*, Institut za jadranske kulture, Split, 1964.
7. M. Zoričić, *Podrumarstvo*, Nakladni Zavod Globus, Zagreb, 1996.
8. [http://www.veleri.hr/files/datoteke/nastavni_materijali/k_vinarstvo_1/3 -
_Vinifikacija sa presama.pdf](http://www.veleri.hr/files/datoteke/nastavni_materijali/k_vinarstvo_1/3_-_Vinifikacija_sa_presama.pdf)
9. www.agrotehnika-hrvatska.hr
10. D. Tomas, D. Kolovrat, *Priručnik za proizvodnju vina- za male proizvođače i hobiste*, Federalni agromediteranski zavod, Mostar 2011.
11. A Harden , *Alcoholic fermentation*, Longmas, Green and Co., London 1914.
12. M. Grgić, *Procesi fermentacija u proizvodnji bijelih vina*, Diplomski rad, Poljoprivredni fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Osijek, 2015.
13. M. Rajčić, *Utjecaj soja kvasca na aromatski profil vina Pošip*, Završni rad, Veleučilište „Marko Marulić“ u Kninu, Knin, 2017.
14. <https://rwa.hr/bistrenje-i-principi-bistrenja-vina/>
15. <https://www.agroklub.com/vinogradarstvo/stabilizacija-vina/9938/>
16. <http://www.savjetodavna.org/Savjeti2/Flasiranje%20vina.pdf>,
17. <https://hr.wineverity.com/what-are-wine-lees>
18. J. Simon, *Velika knjiga o vinu*, Profil, Zagreb, 2004.

19. Ž. Ćurković, *Kemijski profil isparljivih spojeva vina Pošip proizvedenog „sur lie“ metodom*, Završni rad, Veleučilište „Marko Marulić“ u Kninu, Knin, 2016.
20. M. Mijoković, *Proizvodnja bijelih vina uz primjenu starter kulture*, Diplomski rad, Poljoprivredni fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Osijek 2016.
21. D. Juranić, *Utjecaj različitih sojeva kvasaca (Saccharomyces cerevisiae) na fermentaciju mošta i kvalitetu vina sorte Cabernet Sauvignon (Vitis Vinifera L.)*, Diplomski rad, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Osijek 2020.
22. Laffort, *Zymaflore® X-5*, specifikacija i enološka aplikacija, Bordeaux
23. Laffort, *Zymaflore® X-16*, specifikacija i enološka aplikacija, Bordeaux
24. K. Kovačević Ganić, N. Ćurko, M. Tomašević, L. Gracin, *Senzorska analiza vina*, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2015.
25. <https://www.menu.hr/vina-i-vinari/arome-vina/>
26. I. Alpeza, *Temelji kemijskog sastava vina*, Glasnik zaštite bilja 6/2008
27. J. Robinson, *Wines and Spirits*, Wine & Spirit Education Trust, London, 2014
28. L. Joukhader, *Analiza arome bijelog vina proizvedenog primjernom različitim tehnologijama*, Završni rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2016.
29. M. Matošević, *Aroma vina*, Završni rad, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Osijek, 2015.
30. M. Miošić, *Utjecaj temperature fermentacije na aromatski profil i senzorna svojstva vina „Fulir“*, Diplomski rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2016.

31. A. Prida, P. Chatonnet P: *Impact of oak-derived compounds of the olfactory perception of barrel -aged wines: American Journal of Enology and viticulture* 61(3):408-413, 2010.
32. K. Marković, N. Vahčić, M. Hruškar, *Senzorska analiza hrane*, Nastavni tekst, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2017.
33. <https://grama.com.hr/bistroca-vina/>
34. H. Karalić, *Polifenolne tvari u vinu*, Diplomski rad, Prehrambeno- tehnološki fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Osijek, 2014.
35. T. Ivandija, *Ocjenjivanje vina*, glasnik zaštite bilja, 6/2011
36. B.M Watts, G.L Ylimaki, L.E Jeffery , L.G Elias, *Basic sensory methods for food evaluation*, International Development Research Centre, Ottawa, Kanada, 1989.
37. <https://winefolly.com/deep-dive/science-of-wine-tasting/>
38. I. Jerković, A. Radonić, *Praktikum iz organske kemije*, Kemijsko-tehnološki fakultet, Split 2009.
39. I. Surjan, *Hlapljivi organski spojevi vina traminac*, Diplomski rad, Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, Split, 2017.
40. L. Noguera, A. Carbonell, *Cromatografo de gases*, interna skripta, 2020.
41. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2-Methylbutyl-octanoate>
42. E. Lengyel,, L. Sikolya, *The influence of aroma compounds on sensorial traits of wines from the apold depression*, Management of Sustainable Development Sibiu, Vol. 7, No. 1, 2015.
43. Ribereau-Gayon i sur., *Handbook of Enology- The chemistry of wine stabilization and treatments*, second edition, John Wiley and sons, Chichester, West Sussex, England, 2006.

44. M. Jurković, *Utjecaj visokonaponskog električnog pražnjenja na sastav polifenolnih i hlapivih spojeva vina tijekom starenja*, Diplomski rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2019.
45. A. Aničić, *Aromatični profil vina sorte Kujundžuša*, Diplomski rad, Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, Split, 2017.
46. Z. Li., K. Howell., Z. Fang., P. Zhan, *Sesquiterpenes in grapes and wines: Occurrence, biosynthesis, functionality, and influence of winemaking processes*, *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 19, 247–281, 2020.
47. <http://www.thsci.com/TS19859.html>
48. <https://labeffects.com/terpene-glossary-nerolidol/>
49. M. Mačinković, *Utjecaj skladištenja na tvari boje i arome vina sorte bouvier*, diplomski rad, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Osijek, 2017.
50. A. G. Cordente, D.E. Nandorfy, M. Solomon., A. Schulkin, R. Kolouchova, Francis, I. L., Schmidt, S. A., *Aromatic Higher Alcohols in Wine: Implication on Aroma and Palate Attributes during Chardonnay Aging*, *Molecules*, 26, 4979, 2021
51. M. Vilanova, S. Cortés, L. Santiago, J. L., Martínez, C. Fernández, *Aromatic Compounds in Wines Produced During Fermentation: Effect of Three Red Cultivars*, *International Journal of Food Properties*, 10, 867–875, 2007.
52. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2-Phenylethanol>
53. V. Cheynier, R. Schneider, J. M. Salmon., H. Fulcrand *Chemistry of Wine*, *Comprehensive natural products II*, Vol. 3, 1119-1172.
54. C. G. Edwards, R. B. Beelman, E. Bartley., L. Mcconnell, *Production of Decanoic Acid and Other Volatile Compounds and the Growth of Yeast and Malolactic Bacteria During Vinification*, *Am. J. Enol. Vitic.*, Vol. 41, No. 1, 1990.

55. E. Lengyel, L. Sikolya, *The influence of aroma compounds on sensorial traits of wines from the Apold depression*, *Management of Sustainable Development Sibiu*, Vol. 7, No. 1, 2015.