

Utjecaj načina skladištenja na aromatski profil vina teran

Maričević, Martina

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

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:167:320723>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-22**

Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**UTJECAJ NAČINA SKLADIŠTENJA NA AROMATSKI
PROFIL VINA TERAN**

ZAVRŠNI RAD

MARTINA MARIČEVIĆ

Matični broj: 92

Split, rujan 2022.

**SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE
TEHNOLOGIJE**

**UTJECAJ NAČINA SKLADIŠTENJA NA AROMATSKI
PROFIL VINA TERAN**

ZAVRŠNI RAD

MARTINA MARIČEVIĆ

Matični broj: 92

Split, rujan 2022.

**UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
UNGRADUATE STUDY OF FOOD TECHNOLOGY**

**INFLUENCE OF STORAGE METHODS ON THE
AROMATIC PROFILE OF TERAN WINE**

BACHELOR TESIS

MARTINA MARIČEVIĆ

Parent number: 92

Split, September 2022.

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu
Preddiplomski studij prehrambene tehnologija

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Tema rada je prihvaćena na 25. izvanrednoj sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta.

Mentor: doc. dr. sc. Zvonimir Marijanović

UTJECAJ NAČINA SKLADIŠTENJA NA AROMATSKI PROFIL VINA TERAN

Martina Maričević, 92

Sažetak:

Vino je jedan od najstarijih prirodnih pića. To je poljoprivredno-prehrambeni proizvod koji se odlikuje složenim kemijskim sastavom. Aromatični profil vina čini niz spojeva koji pripadaju sljedećim kemijskim skupinama: esteri, aldehidi, kiseline, terpeni, antocijani, šećeri, pirazini, norisoprenoidi, katehini i sl. Na području Istre uzgaja se niz autohtonih sorti vinove loze, a jedna od značajnijih sorti je Teran. Cilj ovog rada bio je izolirati i identificirati hlapljive aromatske spojeve vina Teran iz tri proizvodne godine pri dva različita načina čuvanja (čuvanje pod morem i čuvanje u podrumu). Hlapljivi spojevi su izolirani metodom mikroekstrakcije vršnih para na čvrstoj fazi (HS-SPME) korištenjem plavog vlakna, a identificirani su vezanom tehnikom plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS). Identificirano je ukupno 14 hlapljivih spojeva iz skupine alkohola, estera, kiselina i aldehida od kojih je najzastupljeniji 3-metilbutan-1-ol.

Gljučne riječi: vino Teran, Istra, hlapljivi spojevi, HS-SPME, GC-MS

Rad sadrži: 37 stranica, 20 slika, 9 tablica, 6 kromatograma, 35 literaturne reference

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav povjerenstva za obranu:

- | | |
|------------------------------------|-------------|
| 1. Doc.dr.sc. Mladenka Šarolić | predsjednik |
| 2. Doc.dr.sc. Marina Zekić | član |
| 3. Doc.dr.sc. Zvonimir Marijanović | član-mentor |

Datum obrane: 26. rujna 2022.

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Food Technology

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, extraordinary session No.25.

Mentor: Zvonimir Marijanović, PhD, Assistant Professor.

INFLUENCE OF STORAGE METHODS ON THE AROMATIC PROFILE OF TERAN WINE

Martina Maričević,92

Abstract:

Wine is one of the oldest natural beverages. It is an agricultural food product characterized by a complex chemical composition. The aromatic profile of the wine consists of a number of compounds belonging to the following chemical groups: esters, aldehydes, acids, terpenes, anthocyanins, sugars, pyrazines, norisoprenoids, catechins, etc. In the territory of Istria, a number of autochthonous grape varieties are grown, and one of the most important varieties is Teran . The aim of this work was to isolate and identify the volatile aromatic compounds of Teran wine from three years of production under two different storage methods (storage under the sea and storage in the cellar). Volatile compounds were isolated by the method of peak vapor microextraction on solid phase (HS-SPME) using a blue fiber, and they were identified by the coupled technique of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). A total of 14 volatile compounds from the group of alcohols, esters, acids and aldehydes were identified, of which 3-methylbutan-1-ol is the most abundant.

Keywords: wine Teran, Istria, volatile compounds, HS-SPME, GC-MS

Thesis contains: 37 pages, 20 pictures, 9 tables, 6 chromatograms, 35 references

Original in: Croatian

Defence committee:

- | | |
|--|-------------------|
| 1. Mladenka Šarolić, PhD, Associate professor | chair member |
| 2. Marina Zekić, PhD, Assistant Profesor | member |
| 3. Zvonimir Marijanović, PhD, Assistant Profesor | member-supervisor |

Defence date: September 26, 2022.

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

Završni rad izrađen je u Zavodu za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Zvonimira Marijanovića od srpnja do rujna 2022. godine

Zahvaljujem se mentoru doc.dr.sc. Zvonimiru Marijanoviću na pomoći, savjetima i strpljenju koji su mi uvelike olakšali izradu završnog rada. Također, zahvaljujem se i Tomislavu Pavlešiću na danim uzorcima i fotografijama.

Najviše zahvaljujem mojoj obitelji i dečku Petru koji su mi pružali moralnu podršku i bili uz mene kada je bilo najteže da bi ostvarila svoje ciljeve.

Hvala i mojim prijateljima na svakom provedenom danu na fakultetu čime su sudjelovali u najljepšem periodu studiranja i početka mog samostalnog života.

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

- Odrediti profil hlapljivih spojeva uzoraka vina Teran iz tri proizvodne godine koji su čuvani u različitim uvjetima (pod morem i u vinskom podrumu) metodom mikroekstrakcije vršnih para na čvrstoj fazi (HS-SPME).
- Izolirane hlapljive spojeve identificirati primjenom vezanog sustava plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS).
- Analizirati i usporediti dobivene rezultate ispitanih uzoraka.

SAŽETAK

Vino je jedano od najstarijih prirodnih pića. To je poljoprivredno-prehrambeni proizvod koji se odlikuje složenim kemijskim sastavom. Aromatični profil vina čini niz spojeva koji pripadaju sljedećim kemijskim skupinama: esteri, aldehidi, kiseline, terpeni, antocijani, šećeri, pirazini, norisoprenoidi, katehini i sl. Na području Istre uzgaja se niz autohtonih sorti vinove loze, a jedna od značajnijih sorti je Teran. Cilj ovog rada bio je izolirati i identificirati hlapljive aromatske spojeve vina Teran iz tri proizvodne godine pri dva različita načina čuvanja (čuvanje pod morem i čuvanje u podrumu). Hlapljivi spojevi su izolirani metodom mikroekstrakcije vršnih para na čvrstoj fazi (HS-SPME) korištenjem plavog vlakna, a identificirani su vezanom tehnikom plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS). Identificirano je ukupno 14 hlapljivih spojeva iz skupine alkohola, estera, kiselina i aldehida od kojih je najzastupljeniji 3-metilbutan-1-ol.

SUMMARY

Wine is one of the oldest natural beverages. It is an agricultural food product characterized by a complex chemical composition. The aromatic profile of the wine consists of a number of compounds belonging to the following chemical groups: esters, aldehydes, acids, terpenes, anthocyanins, sugars, pyrazines, norisoprenoids, catechins, etc. In the territory of Istria, a number of autochthonous grape varieties are grown, and one of the most important varieties is Teran . The aim of this work was to isolate and identify the volatile aromatic compounds of Teran wine from three years of production under two different storage methods (storage under the sea and storage in the cellar). Volatile compounds were isolated by the method of peak vapor microextraction on solid phase (HS-SPME) using a blue fiber, and they were identified by the coupled technique of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). A total of 14 volatile compounds from the group of alcohols, esters, acids and aldehydes were identified, of which 3-methylbutan-1-ol is the most abundant.

Sadržaj

| | |
|---|----|
| UVOD..... | 1 |
| 1. OPĆI DIO | 2 |
| 1.1 VINO OPĆENITO | 2 |
| 1.2 POVIJEST ISTARSKOG VINOGRADARSTVA I VINARSTVA | 2 |
| 1.3 CRNO VINO..... | 3 |
| 1.4 TERAN..... | 4 |
| 1.5 PROIZVODNJA CRNOG VINA..... | 5 |
| 1.6 KEMIJSKI SASTAV CRNOG VINA..... | 7 |
| 1.6.1 VODA | 7 |
| 1.6.2 ALKOHOLI | 7 |
| 1.6.3 ORGANSKE KISELINE | 8 |
| 1.6.4 UGLJIKOHIDRATI..... | 8 |
| 1.6.5 MINERALNE TVARI..... | 9 |
| 1.6.6 VITAMINI..... | 9 |
| 1.6.7 ESTERI | 9 |
| 1.6.8 ALDEHIDI I KETONI..... | 9 |
| 1.6.9 POLIFENOLNI SPOJEVI..... | 10 |
| 1.7 AROMA VINA | 12 |
| 1.7.1 PRIMARNA AROMA | 13 |
| 1.7.2 SEKUNDARNA AROMA | 13 |
| 1.7.3 TERCIJARNA AROMA ILI AROMA STARENJA | 14 |
| 1.8 METODE IZOLACIJE HLAPLJIVIH SPOJEVA U VINU | 14 |
| 1.8.1 EKSTRAKCIJA..... | 14 |
| 1.8.2 MIKROEKSTRAKCIJA NA KRUTOJ FAZI (HS-SPME)..... | 16 |
| 1.9 ANALIZA HLAPLJIVIH SPOJEVA | 16 |
| 1.9.1 PLINSKA KROMATOLOGRAFIJA | 16 |

| | | |
|-----|--|----|
| 2. | EKSPERIMENTALNI DIO..... | 18 |
| 2.1 | MJESTO UZORKOVANJA..... | 18 |
| 2.2 | ANALIZIRANI UZORCI | 22 |
| 2.3 | APARATURA I KEMIČALIJE | 22 |
| 2.4 | MIKROEKSTRAKCIJA VRŠNIH PARA NA ČVRSTOJ FAZI | 23 |
| 2.5 | GC-MS ANALIZA HLAPLJIVIH ORGANSKIH SPOJEVA | 24 |
| 3. | REZULTATI | 26 |
| 4. | RASPRAVA | 32 |
| 5. | ZAKLJUČAK..... | 34 |
| 6. | LITERATURA | 35 |

UVOD

Hrvatsko vinarstvo svoj razvitak započelo je krajem prošlog stoljeća , a najveći uspon doživjelo je na početku 21. stoljeća. Više pažnje počelo se posvećivati kakvoći dok je urod (ništa manje bitan) pao u drugi plan. Najbitnija područja Hrvatske obuhvaćena vinarstvom preko kojih se proteže procijenjenih 20 tisuća hektara vinograda jesu: Slavonija i hrvatsko Podunavlje, Istra, Kvarner i Dalmacija, te bregovita Hrvatska. Početak vinarstva u Hrvatskoj javlja se u Dalmaciji, dok na otocima vinarstvo započinje djelovanjem Grka na Visu i Hvaru. To područje Hrvati naseljavaju u 7. stoljeću i preuzimaju sve što su prethodnici stvorili. Istarski poluotok obitava kulturom vinove loze još od vremena Rimljana čemu je pogodovao geopolitički položaj koji je smješten na sjevernom dijelu Mediterana i Jadranskog mora. U austrijskoj kronici zabilježene su prve raznolikosti među sortama vinove loze Istarskog poluotoka. Neke od tih sorti jesu Teran, Malvazija, Cipran, Trebian, Rebula i dr.(1,2)



Slika 1. Poluotok Istra (3)

1. OPĆI DIO

1.1 VINO OPĆENITO

Prema Zakonu o vinu (NN 96/2003) *vino jest poljoprivredni prehrambeni proizvod, dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta, od svježeg i za preradu u vino pogodnoga grožđa*. Vina možemo razvrstati u skupine prema kakvoći prerađenog grožđa, randmanu, organoleptičkim odnosno senzornim svojstvima, prirodi po hektaru, stupnju zrelosti grožđa, načinu i njege te količini alkohola i drugih sastojaka. Vino je bio ključni proizvod i doprinos Istre u poljoprivredi, a tako je ostalo i sve do danas. (4)

1.2 POVIJEST ISTARSKOG VINOGRADARSTVA I VINARSTVA

Za vrijeme prošlog stoljeća u doba Austro-Ugarske Istra je proizvodila 3 do 4 puta više crnog vina u odnosu na bijela pa je samim time crno vino bilo namijenjeno većoj masi tržišta, dok je bijelo bilo namijenjeno za domaću potrošnju. Bez obzira na velike proizvođače crnih vina u svijetu kao što su Bordeaux, Piemont u Italiji, Porto u Portugalu ostaje mjesta za istarska crna vina zbog njihove iznimne kvalitete poput Merlota, Cabernet Sauvignona te Terana. (5)

Teran je nosilac sortimenta i obilježje Istre, dok su druge autohtone crne sorte imale mjesni značaj.

Najveći preporod vinogradarstva Istra doživljava u drugoj polovici prošlog stoljeća što je prije svega potaknuto razvojem gradova u Austro-Ugarskoj: Beč, Rijeka, Trst, Pula, a sve zbog naglog industrijskog razvoja čime vino postaje najtraženiji proizvod u poljoprivredi Istre. Klima, položaj i karakteristike tla glavni su temelji za izbor podloga te sorti vinove loze na području Istre i Kvarnera. (5,6)

Usporedimo li davne 1907. godine područje Istre prekriveno vinogradom, zasađeno je bilo 34.212 ha mješovitih sorti u razmacima 4 do 6 metara, red do reda. Tablica 1. govori o značajnom smanjenju površine vinograda na području Istre u razdoblju od 1970. do 1984. godine. (6)

| | 1970. | 1977. | 1984. |
|---------------------|--------|--------|--------|
| Društveni sektor ha | 1.837 | 1.197 | 1.757 |
| Privatni sektor ha | 12.227 | 10.701 | 8.755 |
| Ukupno ha | 14.064 | 11.898 | 10.512 |

Tablica 1. Vinogradarske površine u Istri (6)

Iz prikazane tablice vidljivo je kako se vinogradarske površine u Istri posljednjih godina smanjuju. Privatni sektori podrazumijevaju male površine i zastarjele načine uzgoja. Veći vinski podrumi građeni su u razdoblju od 1884. godine (Poreč) do 1905.godine (Buje).(6)

1.3 CRNO VINO

Crno vino razlikuje se od bijelog po procesu proizvodnje, a proizvedeno je od plavog ili crnog grožđa. Najpoznatije Istarske sorte crnih vina jesu Frankovka plava, Cabernet Sauvignon crni, Teran crni, Merlot crni te Crni Muškat. Od svih navedeni sorti najznačajniji za područje Istre je Teran prikazan na slici 2.(7)



Slika 2. Vina Laguna Select Teran (7)

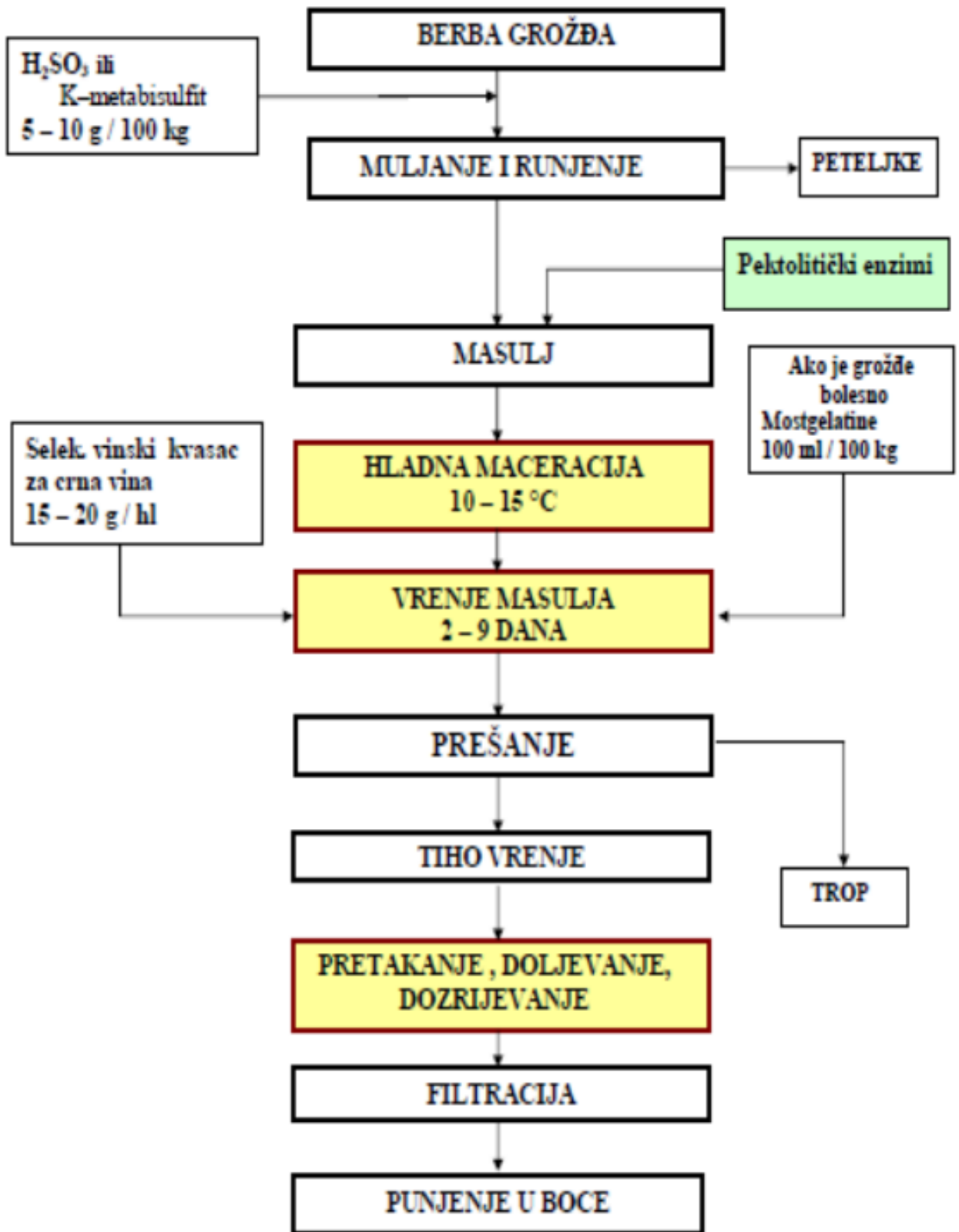
1.4 TERAN

Teran je glavna, autohtona istarska vinska sorta grožđa od davnina sve do danas. Vino ove sorte ima karakterističnu rubin-crvenu boju koja je prilikom okretaja čaše prožeta ljubičastim tonovima. Aroma je prepoznatljivog voćnog karaktera iz kojeg se izdvaja miris maline. Okus je jak i pun, a potječe od visoke koncentracije ukupnih kiselina i trpkosti. Da bi taj okus došao do izražaja preporuča ga se piti na temperaturi oko 18°C. Njegovu ljekovitost obilježava i velika količina polifenola poput antocijana i tanina. (8)

| | |
|---|--------|
| mošt / must | |
| Šećer (g L ⁻¹) / Sugar | 180,00 |
| Ukupna kiselost* (g L ⁻¹) / Total acidity | 8,20 |
| pH | 2,95 |
| NTU | 70 |
| bazno vino / basic wine | |
| Alkohol (vol %) / Alcohol | 11,10 |
| Šećer (g L ⁻¹) / Sugar | 1,00 |
| Ukupna kiselost* (g L ⁻¹) / Total acidity | 8,00 |
| hlapiva kiselost**(g L ⁻¹) / volatile acidity | 0,16 |
| SO ₂ slobodni (mg L ⁻¹) / SO ₂ free | 9,00 |
| SO ₂ ukupni (mg L ⁻¹) / SO ₂ total | 45,00 |
| pH | 3,00 |

Slika 3. Osnovni sastav mošta i baznog vina Teran, berba 2015. (9)

1.5 PROIZVODNJA CRNOG VINA



Slika 4. Dijagram proizvodnje crnog vina (10)

Potrebno je pratiti stupanj zrelosti grožđa prije njegove berbe. Određivanjem stupnja zrelosti planira se berba grožđa koje se zatim sprema za prijem i preradu. Tehnološka zrelost počinje smanjivanjem kiseline, a povećanjem udjela šećera u grožđu. Crno grožđe bere se prije bijelog zbog dobivanja zadovoljavajuće boje što bi bilo teže ostvariti s nagnjilim crnim grožđem, dok je proizvodnja bijelog vina moguća i s nagnjilim grožđem. (11, 12)

Za transport grožđa najčešće se koriste motorna cestovna vozila kojima se grožđe prevozi iz najudaljenijih područja. Transportiraju se u košarama ili sanducima. Kod transporta najbitnija je brzina jer prilikom prijevoza dolazi do nagnječenja grožđa što pogoduje razvitku štetne mikroflore, te zbog toga kritično vrijeme između branja i prerade iznosi 4 sata. (11)

Slijedi muljanje za koje se u današnje vrijeme koriste manje, jednostavne muljače – runjače na elektromotorni ili ručni pogon. Runjačama je uloga odstranjivanje peteljki, a to je od iznimne važnosti ako se radi o crnim vinima. Od kože i mesa bobice potječe boja, pa je maceracija tj. izdvajanje crvene karakteristične boje obavezan postupak kod proizvodnje crnih vina, a kontakt bobice i kože mogu trajati od pola sata do nekoliko dana. (13, 14)

Spremnik za fermentaciju napuni se do 4/5 visine. Punjenje se odvija u najkraćem mogućem vremenu, da bi fermentacija cjelokupne mase započela istovremeno. Zgnječeno izmuljano grožđe (masulj) sulfitira se sa SO₂. (11)

Temperatura prilikom vrenja ne bi trebala prelaziti 28°C, a fermentacija traje 8 do 10 dana i odvija se u otvorenim ili zatvorenim spremnicima. Duže vrijeme fermentacije uzrokuje gubljenje boje. Kod crnih sorti najintenzivnija boja dobije se osmi dan od fermentacije. (13)

Taloženjem vino se oslobađa od sastojaka koji su u nestabilnom stanju nakon čega je rezultat dobiveno relativno bistro vino. Filtracija kao korak u procesu proizvodnje vina prati bistrenje vina, a dobiveni rezultat je vino potrebne visoke čistoće. (13, 14)

Završnu fazu proizvodnje crnog vina obilježava punjenje vina u boce. Vino se pakira u ambalažu prilagođenu vrsti i udaljenosti tržišta za koje je ono namijenjeno. Također, čistoća ambalaže od izuzetne je važnosti jer su najmanje nečistoće najčešći izvor kontaminacije vina koja može dovesti do kvarenja vina. Na posljetku, vino se može skladištiti u podrumu koji se nalaze ispod razine zemlje i u more u razdoblju do nekoliko godina. (13, 15)

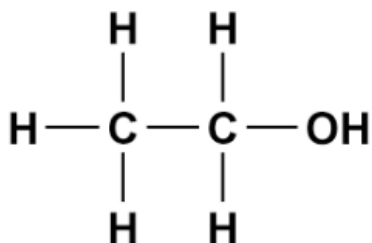
1.6 KEMIJSKI SASTAV CRNOG VINA

1.6.1 VODA

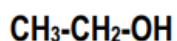
Voda predstavlja glavni sastojak čiji udio iznosi oko 85% u vinu s prosječno 12% vol alkohola. Ona omogućuje otapanje sastojaka topivih u vodi, osobito alkohola, soli i kiselina, dok manju topljivost imaju sastojci poput voska, ulja i drugih sličnih spojeva.(16)

1.6.2 ALKOHOLI

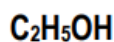
Alkohol tj. etilni alkohol ili etanol slijedi vodu na drugom mjestu po zastupljenosti u vinu. Njegov se raspon kreće u različitim udjelima ovisno o vrsti vina (kod suhih vina to je udio od 12.0 do 14.0 vol%). Prisutnost alkohola u vinu nastaje metabolizmom kvasaca u alkoholnoj fermentaciji. Kao nusprodukt nastaje i CO₂ koji većinski hlapi, a samo se mali dio otapa u vinu. Osim etanola u vinu ima i drugih alkohola npr. viši alkoholi. Najzastupljeniji alkohol etanol prikazan je na slici 5.(16)



strukturna formula etanola



sažeta strukturna formula etanola



molekulska formula etanola



sažeta molekulska formula etanola

Slika 5. Prikaz mogućih oblika formula etanola (17)

1.6.3 ORGANSKE KISELINE

Organske kiseline prisutne u crnom vinu jesu vinska limunska i jabučna, mliječna i jantarna. Kiseline doprinose okusu vina čiji je pH u vrijednosti između 3 i 4. (16)

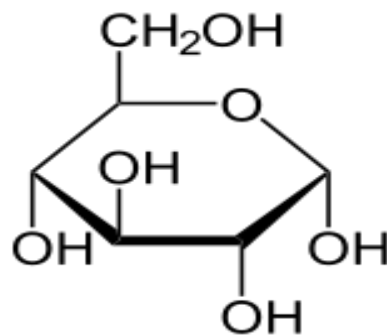
1.6.4 UGLJIKOHIDRATI

Šećerom se u vinu balansira okus, točnije, reducira se okus kiselosti, osjet trpkocē i gorčine. (16)

Monosaharidi prisutni u vinu:

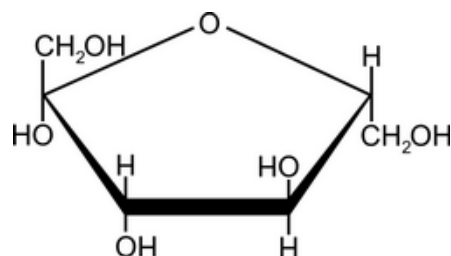
- Od heksoza: glukoza i fruktoza
- Od pentoza: arabinoza i ksiloza

Glukoza je glavni šećer u vinu, kristalne bijele boje i slatkog okusa, te lako topiva u vodi. Njezina strukturna formula prikazana je na slici 6. (18)



Slika 6. Strukturna formula glukoze (18)

Fruktozu još nazivamo i voćni šećer. Zrenjem grožđa udio fruktoze unutar grožđa raste obzirom na glukozu. Njezina strukturna formula prikazana je na slici 7. (18)



Slika 7. Strukturna formula fruktoze (20)

1.6.5 MINERALNE TVARI

Dio mineralnih tvari u vinu prirodno dolazi putem grožđa, dok ostatak mineralnih tvari u vinu nastaje pod utjecajem čovjeka prilikom prerade. Udio mineralnih tvari u vinu ovisi o: gnojidbi, sorti vinove loze, tlu, klimatskim promjenama te o stupnju zrelosti grožđa. One su bitne zbog kataliziranja oksido-redukcijskih procesa u vinu i moštu prilikom čega djeluju na bistroću i boju, a igraju veliku ulogu i u stabilizaciji vina. Od kationa prisutni su: kalij, magnezij, željezo, kalcij, cink, bakar, mangan, natrij, aluminij. Od aniona prisutni su: karbonati, fosfati, sulfati i dr. (18)

1.6.6 VITAMINI

Razlikujemo dvije grupe vitamina:

1. Vitamini topivi u mastima (A,D i E)
2. Vitamini topivi u vodi - koje vino i mošt sadržavaju u većim količinama, a najzastupljeniji su vitamini B grupe (B1,B2,B3,B5,B6 I B12), vitamin C (askorbinska kiselina), vitamin P, vitamin E, vitamin H i holin. (18)

1.6.7 ESTERI

Razlikujemo dvije vrste estera: one koji nastaju tijekom alkoholne fermentacije, tzv. voćni esteri (razlikujemo acetatne estere viših alkohola i etilne estere masnih kiselina) i one koji nastaju tijekom dozrijevanja vina. Esteri su zaslužni za voćni miris mladih vina. (16)

1.6.8 ALDEHIDI I KETONI

Aldehidi su odgovorni za organoleptička svojstva, a utječu i na kakvoću vina. Acetaldehid nastaje kao međuproizvod razgradnje šećera alkoholnim vrenjem, a veći dio prelazi u etilni alkohol. Posjeduje specifičan miris i u slobodnom stanju taj miris se prenosi na vino. Najzastupljeniji keton je diketon diacetil koji ima aromu maslaca. On je sekundarni metabolit jabučno-mliječne i alkoholne fermentacije. (16)

1.6.9 POLIFENOLNI SPOJEVI

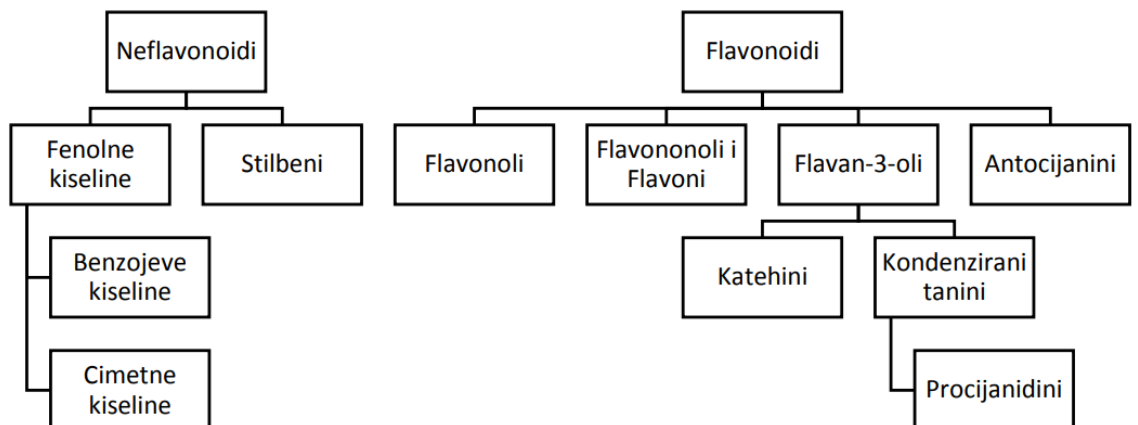
Polifenolni spojevi su kompleksna i velika skupina spojeva koji utječu na kakvoću vina kao što su stabilnost boje, a djeluju i kao pojačivači okusa i astrigencije vina.(21)

Polifenolni spojevi dijele se na :

1. Flavonoide – antocijani,flavanoli,flavonoli,tanini
2. Neflavonoide – fenolne kiseline (hidroksibenzojeva i hidroksicimetna kiselina i njihovi derivatni) i stilbeni.(21)

Niz elemenata utječe i na sastav te koncentraciju polifenolnih spojeva u vinu koja imaju antioksidativno, antikancerogeno i baktericidno djelovanje.(21)

Podjela fenolnih spojeva iz grožđa i vina prikazana je na slici 8. i klasifikacija fenolnih spojeva iz biljaka prikazana je na slici 9.



Slika 8. Podjela fenolnih spojeva iz grožđa i vina (22)

| Struktura | Fenolna skupina |
|--|---|
| C₆ | Jednostavni fenoli |
| C₆-C₁ | Fenolne kiseline i povezani spojevi |
| C₆-C₂ | Acetofenoni i feniloctene kiseline |
| C₆-C₃ | Cimetne kiseline, cimetni aldehidi/alkoholi |
| C₆-C₃ | Kumarini, izokumarini, hromoni |
| C₆-C₁-C₆ | Benzofenoni, ksantoni |
| C₆-C₂-C₆ | Stilbeni |
| C₆-C₃-C₆ | Haloni, auron, dihidrohaloni |
| C₆-C₃-C₆ | Flavoni |
| C₆-C₃-C₆ | Flavonoli |
| C₆-C₃-C₆ | Flavanoni |
| C₆-C₃-C₆ | Flavanonoli |
| C₆-C₃-C₆ | Flavan-3-oli |
| C₆-C₃-C₆ | Izoflavanoidi |
| C₆-C₃-C₆ | Antocijanidini/Antocijanin |
| (C₆-C₃-C₆)₂ | Biflavonidi |
| C₆, C₁₀, C₁₄ | Benzokvinoni, naftakvinoni, antrakvinoni |
| C₁₈ | Betacijanini |
| Lignani, neolignani | Dimeri i oligomeri |
| Lignin | Polimeri |
| Flobafeni | Polimeri |

Slika 9. Klasifikacija fenolnih spojeva iz biljaka (23)

U crnom vinu 90% ukupnog sadržaja fenola pripadaju skupini flavonoida. U ovu skupinu svrstavamo antocijane, flavanole, flavonole i tanine.(24)

Najbitniji spojevi za crna vina su antocijani i tanini.

Antocijani su pigmenti crvene boje koji su zaslužni za boju crvenih vina. Njihova količina tj. koncentracija ovisi o: tehnikama vinifikacije, sorti i području uzgoja. Malvidin je najzastupljeniji antocijan u crvenom grožđu, a njegova ukupna količina u ukupnom antocijanskom profilu kreće se od manje od 50% do iznad 90%.(25)

Tanini su najzastupljenija grupa polifenola u crnim vinima (oko 50% ukupnih polifenolnih spojeva). Dozrijevanjem vina reagiraju s antocijanima stvarajući stabilnije pigmente. Posljedica tanina je suhoća u ustima nakon kušanja vina. (26) Sastav flavonoida i neflavonoida u bijelim i crnim vinima prikazano je u tablici 2.

| FENOLNI SPOJEVI | KONCENTRACIJA (mg/L) | |
|----------------------------|--------------------------|-----------------------|
| | CRVENA VINA | BIJELA VINA |
| NE-FLAVONOIDI | 240-500 | 160-260 |
| HIDROKSIBENZOJEVA KISELINA | 0-260 | 0-100 |
| HIDROKSICIMETNA KISELINA | 143,1 (74,1-226) | 130-154 |
| STILBENI | 1,2 (0,09-3,2) | 0,04 (0-0,1) |
| FLAVONOIDI | 750-1060 | 25-30 |
| FLAVONOLI | 127,8 (65,3-238,3) | U tragovima |
| FLAVAN-3-OL | 208,8 (27,3-557) | 11,5 (2-29) |
| ANTOCIJAN | 270,9 (39,4-469) | 0 |
| | | |
| UKUPNO | 1686,4 (700-4059) | 177,6 (96-331) |

Tablica 2. Sastav flavonoida i neflavonoida u bijelim i crnim vinima (27)

1.7 AROMA VINA

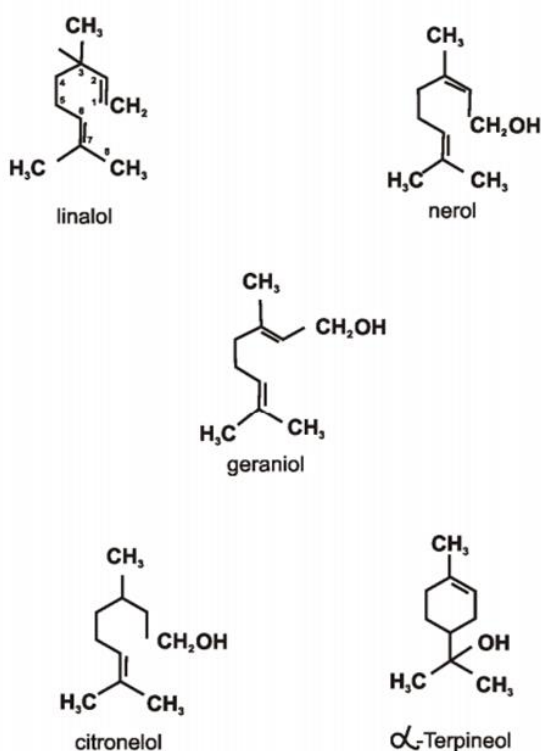
Aromatične tvari potječu od velikog broja spojeva prisutnih u grožđu koje tijekom vinifikacije prelaze u vino. Aroma vina sastoji se od raznih hlapljivih komponenti u malim koncentracijama u rasponu od nekoliko mg/L do nekoliko ng/L. Aroma vina sastoji se od više od 800 različitih komponenti. (28)

Aroma vina dijeli se na:

1. Primarnu aromu - potječe od grožđa (norizoprenoidi, terpeni, pirazini, hlapljivi tioli) - ovisno o sorti vinove loze, klimatskim uvjetima i poljoprivredno-tehničkim mjerama uzgoja
2. Sekundarna aroma - nastale tijekom alkoholne fermentacije (viši alkoholi, masne kiseline, esteri, aldehidi itd.)
3. Tercijarna aroma - koju još nazivamo i aroma starenja. (29)

1.7.1 PRIMARNA AROMA

Primarna aroma javlja se u grožđu i oblikuje u moštu. Određene sorte vina karakterizirane su primarnim aromama zbog prelaženja tih spojeva iz grožđa u vino pri čemu ostaju neizmjenjeni i bez utjecaja fermentacije. Njih oblikuju monoterpeni (linalol, α -terpineol, geraniol, hotrineol, citronelol). Terpeni se javljaju u slobodnom obliku ili u obliku glikozida (vezani za šećere, nehlapljivi). Korištenje enzima uz pomoć kratkotrajne maceracije pomaže oslobađanju vezanih terpena i poboljšanju arome. Glavne alkoholne forme monoterpena prikazane su na slici 10.(29)



Slika 10. Glavne alkoholne forme monoterpena (29)

1.7.2 SEKUNDARNA AROMA

Sekundarne arome nastaju kao rezultat alkoholne fermentacije. Jačina pojave arome i razvitak novih spojeva izazvana je svim tehnološkim procesima kojima je grožđe podvrgnuto prije alkoholne fermentacije. Čimbenici koji utječu na formiranje sekundarne arome vina su trajanje fermentacije, temperatura, soj kvasca koji je odgovoran za pH vrijednost mošta, koncentraciju kisika i SO₂ i fermentaciju.(30)

1.7.3 TERCIJARNA AROMA ILI AROMA STARENJA

Odležano vino nakon određenog vremena "doživljava" razne promjene poput dozrijevanja i starenja, tzv. aroma starenja. Oksidacije postojećih aromatskih spojeva i ekstrakcija iz drveta bačve najbitnije su reakcije ukoliko vino dozrijeva u bačvama. Iz drveta bačve ekstrahiraju se različiti aromatski spojevi kao što su: aldehidi, ketoni, laktoni i hlapljivi fenoli. Smanjuje se količina izoamil-acetata, voćnih estera i 2-fenil-acetata, te povećava udio dietil-sukcinata. Princip proizvodnje, te podrijetlo drveta od kojih se izrađuje bačva mogu utjecati na sastav i koncentraciju hlapljivih spojeva. (29)

Tvari arome u vinima određuju se instrumentalnim metodama, a to su: plinska kromatografija (GC), tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC), senzorskim ocjenjivanjem i drugim metodama.(28)

1.8 METODE IZOLACIJE HLAPLJIVIH SPOJEVA U VINU

1.8.1 EKSTRAKCIJA

Ekstrakcija je metoda namijenjena pročišćavanju i izolaciji tvari iz suspenzije, otopine, krute smjese ili emulzije pomoću otapala.

Razlikujemo dvije vrste ekstrakcije:

1. ekstrakcija tekuće-tekuće -> ekstrakcija iz tekuće faze
2. ekstrakcija čvrsto-tekuće -> ekstrakcija iz čvrste faze (30)

Otapalo koje se koristi za ekstrakciju treba zadovoljavati navedene kriterije:

1. Otapalo mora biti inertno prema tvarima u otopini/suspenziji/smjesi.
2. Tvar koju želimo izdvojiti treba imati što bolju topljivost u korištenom otapalu.
3. Otapalo i otopina u kojoj se nalazi tvar koju želimo ekstrahirati moraju se razlikovati u gustoći.
4. Vrelište otapala ne smije biti previsoko jer se otapalo uklanja nakon ekstrakcije.
5. Otapalo mora imati što manju zapaljivost, toksičnost i mora biti jeftino.(30)

Ekstrakcija tekuće-tekuće

Ovu metodu nazivamo još i metodom izmućkivanja, a izvodi se u lijevku za odjeljivanje. Ukoliko koristimo otapalo s kojim se otopina ne miješa dobijemo veću dodirnu površinu između otapala i otopine čiji je rezultat uspješnija ekstrakcija. Ekstrakcija će biti uspješnija ukoliko se ponovi nekoliko puta s manjom količinom otapala.

Lijevak za odjeljivanje odabire se prema volumenu otopine iz koje želimo izdvojiti odgovarajuću tvar i prema volumenu otapala. Poželjno je izvršiti najmanje tri izmućkivanja jedno za drugim kako bi se slojevi što bolje izdvojili. Ukoliko prilikom ekstrakcije dobijemo emulziju ili se slojevi neuspješno odvoje provodi se postupak isoljavanja. Najčešća tvar za ovaj postupak je kuhinjska sol koju dodajemo otopini tj. nastaloj emulziji do zasićenja. Također, pored isoljavanja može se provoditi postupak filtracije, centrifugiranja ili ostavimo emulziju neko vrijeme da se razdvoje slojevi.

Nakon što se formiraju dva sloja, gornji sloj izdvajamo kroz otvor lijevka, a donji otvaranjem pipca. Sloj iz kojeg ekstrahiramo odgovarajuću tvar vraćamo u lijevak i ponavljamo postupak s novom količinom otapala.

Dobiveni ekstrakt dehidrira se dodatkom tvari za sušenje. Tvar koja se dodaje ne smije biti topljiva u otapalu i u interakciji sa otopljenom tvari i otapalom ne smije reagirati. Nakon sušenja od pola sata, sredstvo se uklonilo filtriranjem organskog ekstrakta ili dekantiranjem.(30)

1.8.2. MIKROEKSTRAKCIJA NA KRUTOJ FAZI (HS-SPME)

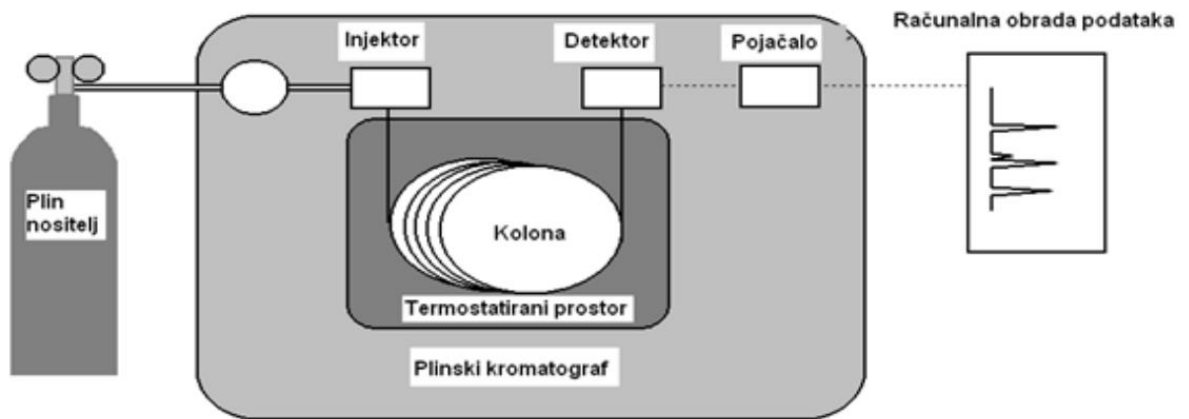
Mikroekstrakciju vršnih para na krutoj fazi su dr. Janusz Pawliszyn i njegovi kolege izumili 1990. na Sveučilištu u Waterloo-u, Kanada. Metoda osigurava koncentriranje, ekstrakciju i uzorkovanje u jednom ciklusu bez prisustva otapala, a njenim korištenjem umanjuje se vremensko pripremanje uzorka, te povećava osjetljivost obzirom na druge metode ekstrakcije što se objašnjava jednostavnošću, ekološkom prihvatljivošću i učinkovitosti metode.

Prilikom primjene ove tehnike koristi se silikonsko vlakno dužine 1 do 2 centimetra izrađeno od adekvatnih polimera čiji je zadatak sakupljanje pojedinih hlapljivih spojeva u uzorku. U prodaji je u ponudi veliki broj raznih vrsta vlakana, ali se najčešće koriste 4 najpoznatija. To su polidimetilsiloksan-divinilbenzen (PDMS-DVB), polidimetilsiloksan-divinilbenzenkarboksen (PDMS-DVB-CAR), karboksen-polidimetilsiloksan (CAR-PDMS) i polidimetilsiloksan (PDMS). (31)

1.9 ANALIZA HLAPLJIVIH SPOJEVA

1.9.1 PLINSKA KROMATOGRAFIJA

Plinska kromatografija je najučinkovitija kromatografska metoda uz tekućinsku kromatografiju zaslužnu za izolaciju, odjeljivanje i kvantitativnu analizu komponenti iz smjese. Pomoću nje analiziraju se hlapljivi spojevi, termički stabilni te djelomično polarni spojevi. Sadržava mobilnu fazu koju predstavlja inertni plin (helij ili dušik) i stacionarnu fazu koju predstavlja tekućina nanijeta na punjene kolone (tzv. kruti nosač) ili kapilarne kolone (vezana je za stjenke kapilare). Shema plinske kromatografije prikazana je na slici 7. (31)



Slika 11. Shema uređaja plinske kromatografije (31)

Glavni elementi uređaja prikazanog na slici 7. jesu:

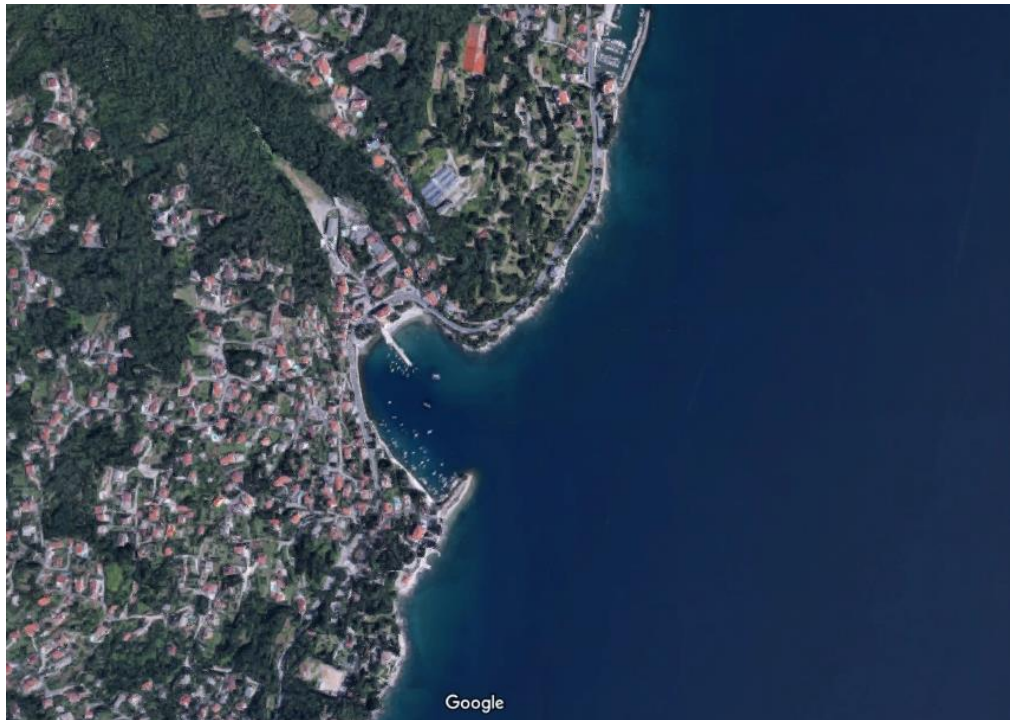
1. Plinski nositelj (izvor plina)
2. Injektor
3. Detektor
4. Pojačalo
5. Termostatski prostor i kromatografska kolona (31)

Uzorak plina ulazi u injektor i zatim isparava nakon čega ulazi u plinski tok popraćen plinom nositeljem (mobilnom fazom) do kolone za odvajanje. U koloni se odvija proces razdvajanja sastojaka na osnovu njihovih kemijskih i fizikalnih svojstava nakon čega ih plin nositelj dovodi do detektora. Detektor prevodi promjene koje je detektirao (promjene u koncentracijama sastojaka) u električni signal koji rezultira kromatogram. Temperatura za odjeljivanje sastojaka je ona pri kojoj je odjeljivanje sastojaka smjese najuspješnije. (31)

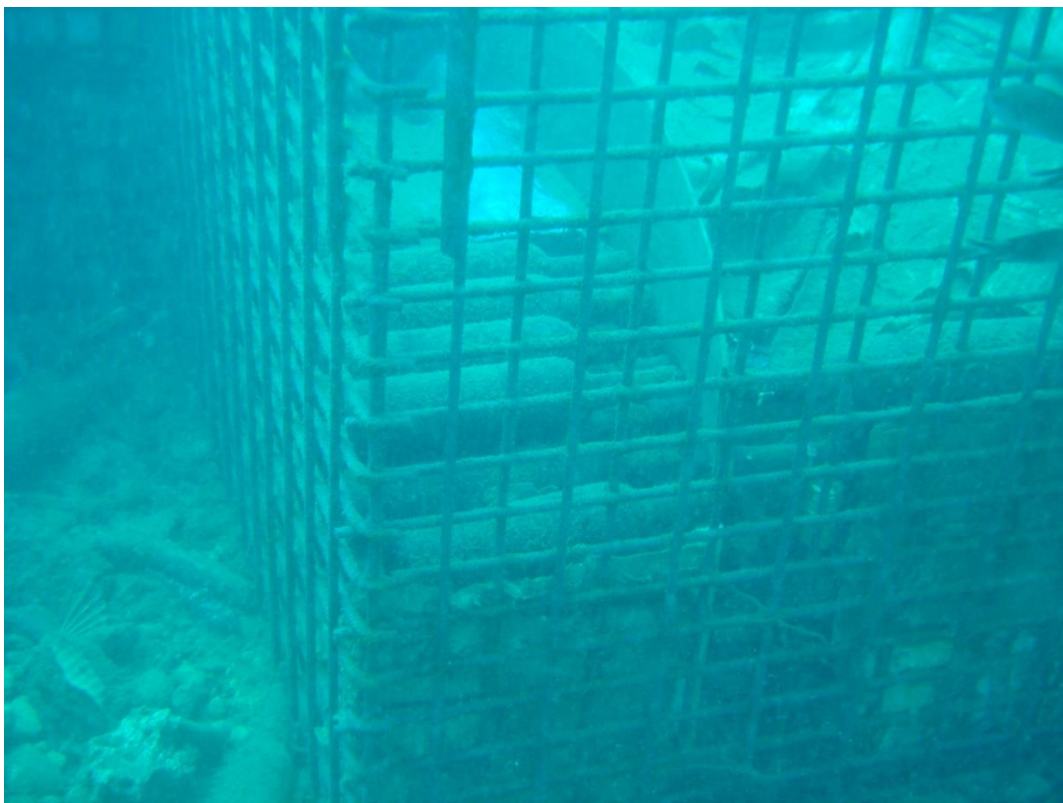
2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1 MJESTO UZORKOVANJA

Ika je mjesto smješteno nedaleko grada Rijeke. Svi ispitani uzorci vina su skladišteni u periodu od dvije godine paralelno u vinskom podrumu i pod morem. Naredne slike prikazuju položaj grada, način čuvanja te vađenja uzoraka vina iz mora.



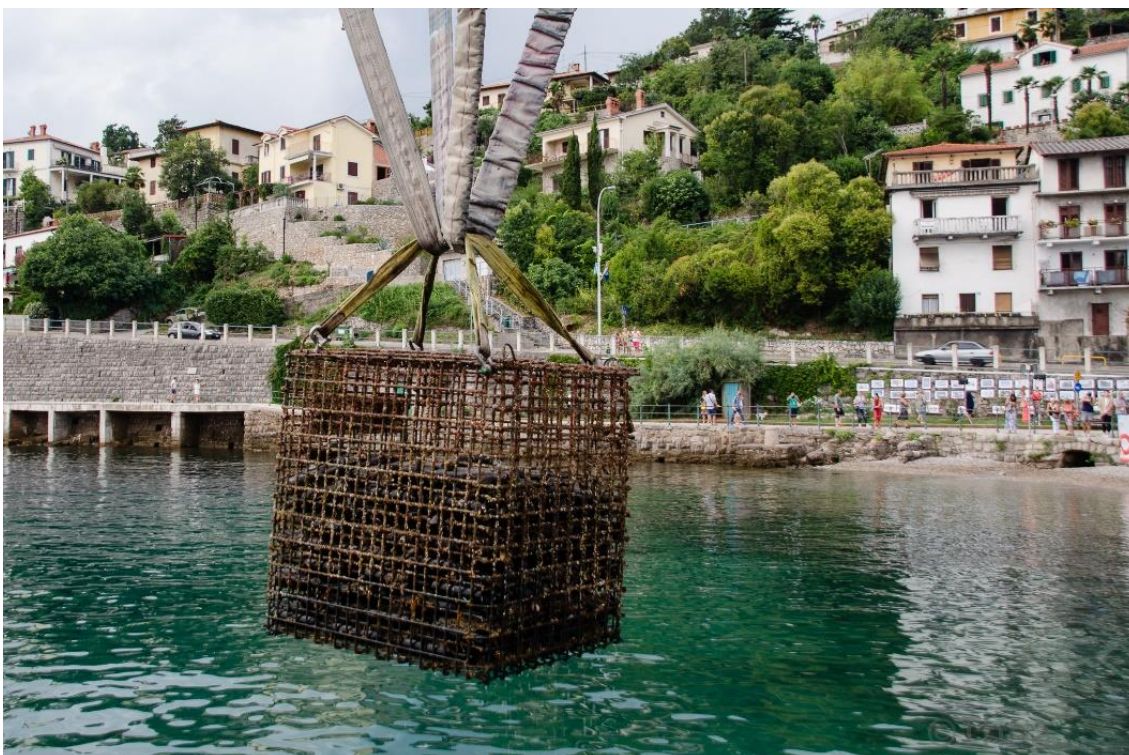
Slika 12 i 13 . Geografski položaj Ike (32)



Slika 14 . Uzorci vina ispod morske površine (33)



Slika 15 . Vađenje uzoraka vina uz pomoć educiranih ronioaca (33)



Slika 16 i 17 . Uspješno izvađeni uzorci (33)



Slika 18. Pravilno skladištenje vina u podrumu (34)

2.2 ANALIZIRANI UZORCI

Materijal korišten u ovom radu su uzorci vina Teran iz tri proizvodne godine čuvani na dva različita načina (pod morem i u podrumu). U tablici 3. prikazani su analizirani uzorci ovog eksperimenta.

| | POD MOREM 2019.-20. | | PODRUM 2019.-20. | |
|----|---------------------|--------|------------------|--------|
| | SORTA | GODINA | SORTA | GODINA |
| 1. | Teran | 2017. | Teran | 2017. |
| 2. | Teran | 2015. | Teran | 2015. |
| 3. | Teran | 2019. | Teran | 2019. |

Tablica 3. Analizirani uzorci

2.3 APARATURA I KEMIKALIJE

Korištena aparatura za izvođenje eksperimentalnog dijela rada:

- Uređaj za mikroekstrakciju vršnih para na čvrstoj fazi
- Plavo vlakno s ovojnicom polidimetilsiloksan/divinilbenzen (PDMS/DVB) dužine 5 cm (Supelco Co., SAD)
- Magnetske miješalice i vodena kupelj s termostatom (Heidolph EKT 3001, Njemačka)
- Vezana tehnika plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS);
 - plinski kromatograf (Agilent Technologies, SAD), model 7820A
 - Agilent Technologies (SAD) maseni detektor, model 5977E
- Kolona HP-5MS ((5% fenil)-metilpolisiloksan; 30 m × 0,25 mm; debljina sloja stacionarne faze 0,25 μm).J&W, SAD)

Od kemikalija korišten je:

- NaCl p.a. Kemika Zagreb

2.4 MIKROEKSTRAKCIJA VRŠNIH PARA NA ČVRSTOJ FAZI

Upotrebom plavog vlakna provedena je izolacija hlapljivih spojeva uzoraka iz vina pomoću HS-SPME metode.

Prije upotrebe vlakno je potrebno aktivirati kondicioniranjem. Po uputama proizvođača SPME igla postavljena je u injektor plinskog kromatografa na temperaturi od 300°C u vremenu od 60 minuta. Nakon završetka kondicioniranja, plavo vlakno se koristi odmah prilikom procesa ekstrakcije uzoraka.

Volumen od 5 mL vina ulije se u staklenu bocu volumena 15 mL s dodatkom 1g NaCl. Vijalica se hermetički zatvara politetrafluoretilen (PTFE, teflon)/silikon septom i postavlja se u vodenu kupelj zagrijanu na temperaturi od 40°C u kojoj se sadržaj miješa magnetskom mješalicom (250 okr/min). Na slici 19. je prikazana aparatura korištena pri mikroekstrakciji vršnih para na krutoj fazi.



Slika 19. Aparatura za mikroekstrakciju vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME)

(35)

Nakon 15 minuta uzorak je kondicioniran i SPME igla se postavlja u bočicu i izvlači se vlakno. Trajanje ekstrakcije je 40 minuta bez mijenjanja brzine miješanja uzorka (1000 o/min). Nakon šta je uzorkovanje provedeno, vlakno se vraća u iglu, izvlači iz boce s uzorkom i uvodi u injektor GC-MS uređaja. U GC koloni se provodi toplinska desorpcija ekstrahiranih spojeva na temperaturi od 250°C u trajanju od 7 minuta.

2.5 GC-MS ANALIZA HLAPLJIVIH ORGANSKIH SPOJEVA

Kvantitativna i kvalitativna analiza prethodno izoliranih hlapljivih spojeva izvršena je primjenom sustava plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS). S masenim detektorom korišten je plinski kromatograf koji je spojen na računalo što je prikazano na slici 20.



Slika 20. Spregnuta tehnika plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS) (35)

Na nepolarnoj kapilarnoj koloni HP-5MS provedena je separacija sastojaka. Kolona je širine 0,25mm i duljine 30 m, sa premazom stacionarne faze (5% difenil-95% dimetilpolisilksan) debljine 0,20 μm . Helij je plin nositelj, a protok mu je 1 mL/min. Injektor je podešen na temperaturi od 250°C, dok je temperatura kolone programirana na idući način: 2 minute na temperaturi od 70 °C, a zatim se zagrijava do 200 °C brzinom od 3 °C po minuti.

Za detekciju korišten je spektrometar masa. Temperatura detektora iona iznosi 280°C, energija ionizacije je 70 eV, a interval snimanja iznosi 30-300 masenih jedinica. Uzorak se ubacuje u jednom potezu, te isparava što je posljedica visoke temperature. Nakon šta su regulirani stacionarni uvjeti reproducibilnost je osigurana, uspostavljeni su protoci i temperatura.

Za svaki pojedini uzorak koji je analiziran putem GC-MS analize prikupljeni su sljedeći podaci:

- kromatogram ukupne ionske struje
- naziv spoja ili spojeva čiji spektar ili spektri su najbliži spektru nepoznate komponente pojedinog pika iz kromatograma ukupne ionske struje; sličnosti spektara koji se uspoređuju izraženi su postotkom
- retencijsko vrijeme pojedinog kemijskog spoja
- u postotcima izražen relativni udio jedne komponente

Na posljetku se identifikacija spojeva provodi usporedbom vremena zadržavanja (u odnosu na C₈-C₃₀ *n*-alkane za HP-5MS kolonu) s podacima prisutnima u literaturi, pri čemu se uspoređuju njihovi spektri masa sa spektrima iz komercijalno dostupnih baza masenih spektara *Wiley 09* i *NIST117* (eng. National Institute of Standards and Technology). Dobiveni postotci definiranih komponenti iz uzoraka vina izmjereni su iz površine GC pikova.

3. REZULTATI

Rezultati dobiveni pomoću HS-SPME analize uzoraka prikazani su u obliku kromatograma i u tablicama.

| Red. broj | RI | Spoj | Udio (%) |
|------------------------------|------|-------------------|----------------|
| 1. | <900 | 3-metilbutan-1-ol | 26,21 |
| 2. | <900 | 2-metilbutan-1-ol | 16,33 |
| 3. | 1116 | 2-feniletanol* | 28,45 |
| 4. | 1181 | dietil-sukcinat | 15,80 |
| 5. | 1198 | etil-oktanoat | 0,68 |
| Ukupno identificirano | | | 87,46 % |

Tablica 4. Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva uzorka 1. čuvan pod morem dobiven HS-SPME metodom pomoću plavog vlakna

| Red. broj | RI | Spoj | Udio (%) |
|------------------------------|------|---------------------|---------------|
| 1. | <900 | 3-metilbut-1-ol | 10,93 |
| 2. | <900 | 2-metilbut-1-ol | 9,34 |
| 3. | <900 | 3-metilbutil-acetat | 0,36 |
| 4. | 1116 | 2-feniletanol* | 12,29 |
| 5. | 1181 | dietil-sukcinat | 8,66 |
| 6. | 1370 | dekanska kiselina | 39,01 |
| 7. | 1397 | etil-dekanoat | 4,20 |
| 8. | 1593 | etil-dodekanoat | 8,40 |
| 9. | 1992 | etil-heksadekanoat | 1,21 |
| 10. | 2159 | etil-linolat | 0,91 |
| Ukupno identificirano | | | 95,31% |

Tablica 5. Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva uzorka 1. čuvan u podrumu dobiven HS-SPME metodom pomoću plavog vlakna

RI = retencijski indeks na HP-5MS koloni

*identifikacija potvrđena pomoću referentnog spoja

| Red. broj | RI | Spoj | Udio (%) |
|------------------------------|------|---------------------|---------------|
| 1. | <900 | 3-metilbutan-1-ol | 43,58 |
| 2. | <900 | 2-metilbutan-1-ol | 0,68 |
| 3. | <900 | heksanol | 3,09 |
| 4. | <900 | 3-metilbutil-acetat | 1,28 |
| 5. | 965 | benzaldehyd | 0,20 |
| 6. | 996 | etil-heksanoat | 0,34 |
| 7. | 1116 | 2-feniletanol* | 28,14 |
| 8. | 1181 | dietil-sukcinat | 14,46 |
| 9. | 1198 | etil-oktanoat | 0,71 |
| Ukupno identificirano | | | 92,48% |

Tablica 6. Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva uzorka 2. čuvan pod morem dobiven HS-SPME metodom pomoću plavog vlakna

| Red. broj | RI | Spoj | Udio (%) |
|------------------------------|------|---------------------|---------------|
| 1. | <900 | 3-metilbutan-1-ol | 45,14 |
| 2. | <900 | 2-metilbutan-1-ol | 0,28 |
| 3. | <900 | heksanol | 1,99 |
| 4. | <900 | 3-metilbutil-acetat | 1,45 |
| 5. | 996 | etil-heksanoat | 0,28 |
| 6. | 1116 | 2-feniletanol* | 26,91 |
| 7. | 1181 | dietil-sukcinat | 13,33 |
| 8. | 1198 | etil-oktanoat | 1,49 |
| Ukupno identificirano | | | 90,87% |

Tablica 7. Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva uzorka 2. čuvan u podrumu dobiven HS-SPME metodom pomoću plavog vlakna

RI= retencijski indeks na HP-5MS koloni

*identifikacija potvrđena pomoću referentnog broja

| Red. broj | RI | Spoj | Udio (%) |
|------------------------------|------|-------------------|---------------|
| 1. | <900 | 3-metilbutan-1-ol | 27,84 |
| 2. | <900 | 2-metilbutan-1-ol | 19,57 |
| 3. | <900 | heksanol | 1,64 |
| 4. | 996 | etil-heksanoat | 0,38 |
| 5. | 1116 | 2-feniletanol* | 37,66 |
| 6. | 1181 | dietil-sukcinat | 7,50 |
| 7. | 1198 | etil-oktanoat | 0,94 |
| Ukupno identificirano | | | 95,53% |

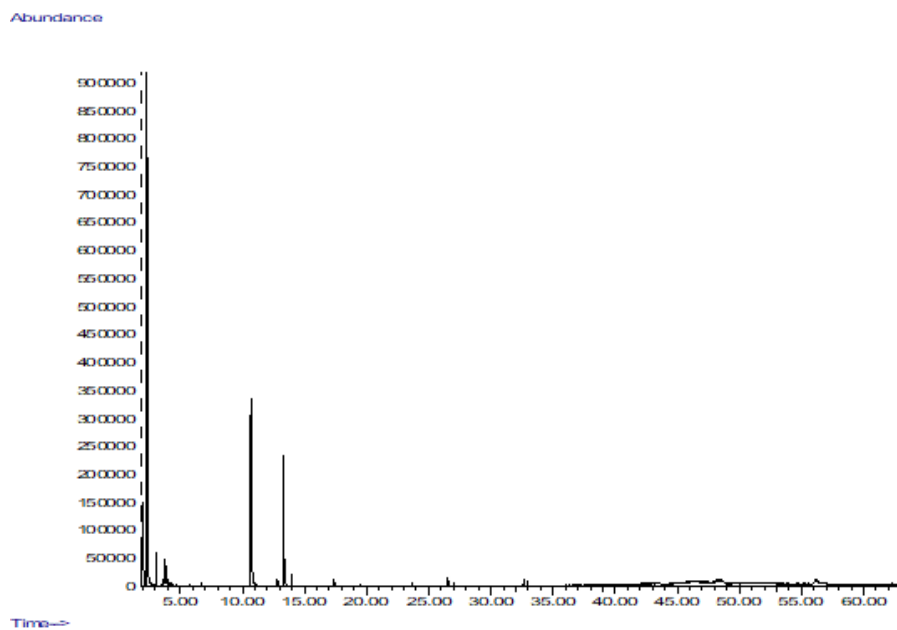
Tablica 8. Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva uzorka 3. čuvan pod morem dobiven HS-SPME metodom pomoću plavog vlakna

| Red. broj | RI | Spoj | Udio (%) |
|------------------------------|------|--------------------|---------------|
| 1. | <900 | 3-metilbutan-1-ol | 37,34 |
| 2. | <900 | 2-metilbutan-1-ol | 0,56 |
| 3. | <900 | heksanol | 6,37 |
| 4. | 996 | etil-heksanoat | 0,36 |
| 5. | 1116 | 2-feniletanol* | 29,14 |
| 6. | 1181 | dietil-sukcinat | 6,32 |
| 7. | 1198 | etil-oktanoat | 0,72 |
| 8. | 1397 | etil-dekanoat | 0,53 |
| 9. | 1593 | etil-dodekanoat | 2,49 |
| 10. | 1992 | etil-heksadekanoat | 0,51 |
| Ukupno identificirano | | | 84,34% |

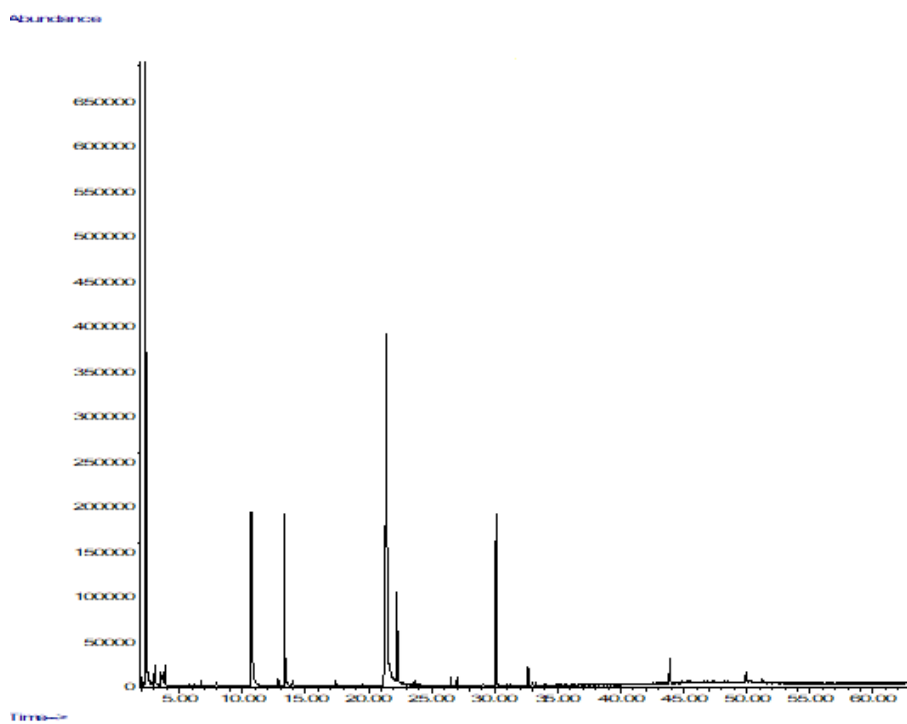
Tablica 9. Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva uzorka 3. čuvan u podrumu dobiven HS-SPME metodom pomoću plavog vlakna

RI= retencijski indeks na HP-5MS koloni

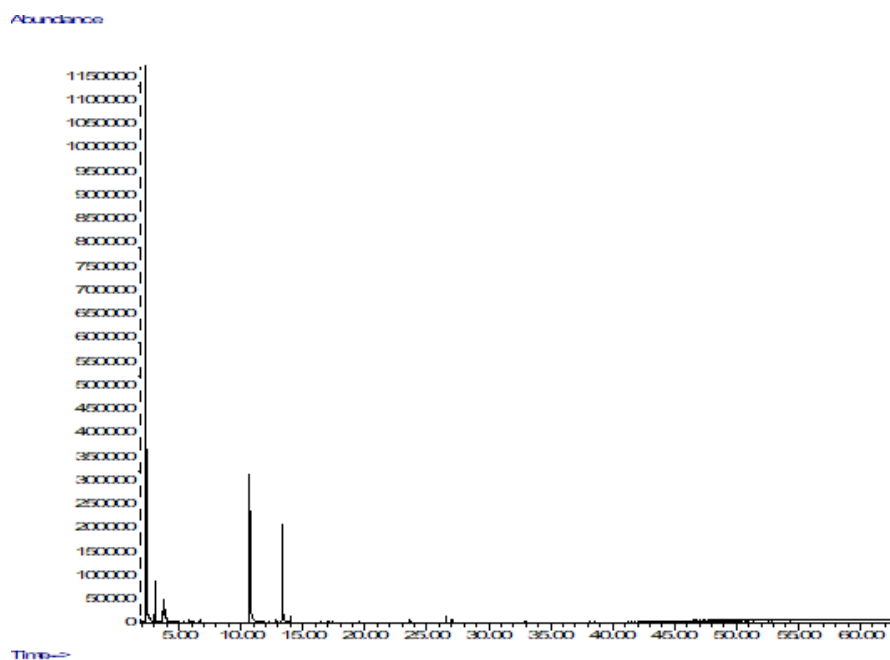
*identifikacija potvrđena pomoću referentnog broja



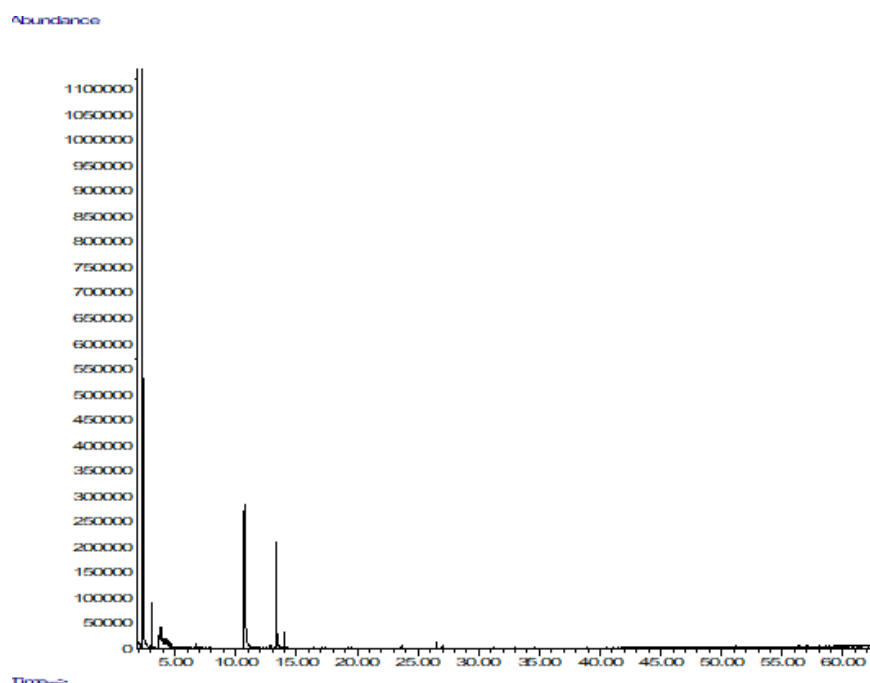
Kromatogram 1. Kromatogram ukupne ionske struje hlapljivih spojeva vina izoliran iz uzorka 1. čuvan pod morem HS-SPME metodom pomoću plavog vlakna



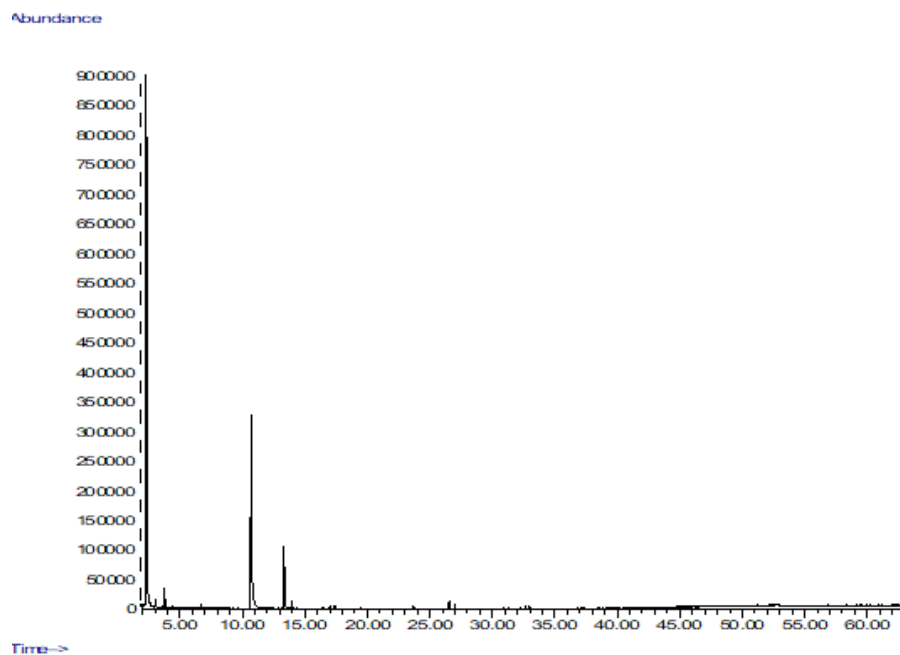
Kromatogram 2. Kromatogram ukupne ionske struje hlapljivih spojeva vina izoliran iz uzorka 1. čuvan u podrumu HS-SPME metodom pomoću plavog vlakna



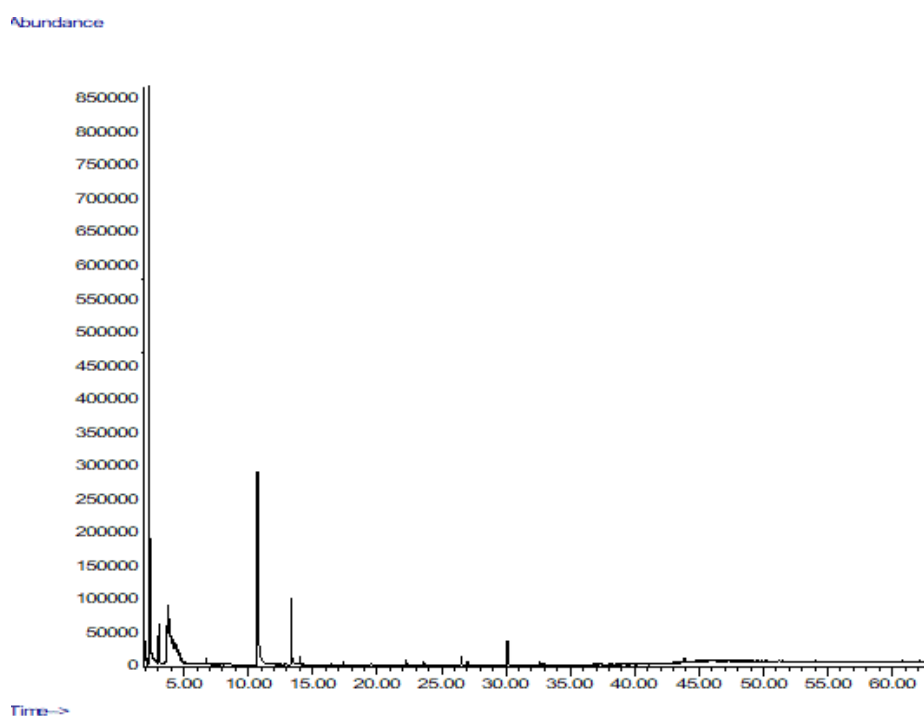
Kromatogram 3. Kromatogram ukupne ionske struje hlapljivih spojeva vina izoliran iz uzorka 2. čuvan pod morem HS-SPME metodom pomoću plavog vlakna



Kromatogram 4. Kromatogram ukupne ionske struje hlapljivih spojeva vina izoliran iz uzorka 2. čuvan u podrumu HS-SPME metodom pomoću plavog vlakna



Kromatogram 5. Kromatogram ukupne ionske struje hlapljivih spojeva vina izoliran iz uzorka 3. čuvan pod morem HS-SPME metodom pomoću plavog vlakna



Kromatogram 6. Kromatogram ukupne ionske struje hlapljivih spojeva vina izoliran iz uzorka 3. čuvan u podrumu HS-SPME metodom pomoću plavog vlakna

4. RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je izolirati, analizirati i identificirati utjecaj skladištenja na aromatski profil vina Teran iz tri proizvodne godine skladišten pod morem i u podrumu u razdoblju od 2019.-2020. godine, te usporediti identificirane spojeve u pojedinom sastavu vina. Samom proizvodnjom vina putem vinifikacije potiče se niz kemijskih reakcija koje rezultiraju nastankom aromatičnih spojeva vina koji služe kao parametar ocjenjivanja kvalitete vina. Za izolaciju hlapljivih spojeva korištena je metoda mikroekstrakcije vršnih para na čvrstoj fazi (HS-SPME) primjenom plavog vlakna (PDMS/DVB), dok je identifikacija vršena korištenjem vezanog sustava plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS) na nepolarnoj HP-5MS koloni.

Identificirani hlapljivi spojevi pripadaju sljedećim kemijskim skupinama: alkoholi, esteri, kiseline i aldehidi. Uspoređeni su rezultati kod vina skladištenog u vrulji i vina skladištenog u podrumu. Vidljive brojčane promjene u sastavu uzrokovane različitim načinima skladištenja vina prikazane su u tablicama rezultata. Navedeni hlapljivi spojevi uglavnom su obilježja sekundarne arome vina.

Alkoholi su očekivano najzastupljenija grupa u svim ispitanim uzorcima, dok su na drugom mjestu esteri koje zatim slijede aldehidi i kiseline.

Usporedbom aromatičnog profila ispitanih uzoraka vina vidljivo je kako je uzorak skladišten pod morem bogat alkoholom 3-metilbutan-1-ol-om i njegov udio iznosi redom po uzorcima: 26,21%, 10,93% i 27,84%, dok se skladištenjem u podrumu njegov udio povećava i iznosi redom po uzorcima: 43,58%, 45,14% i 37,34%. Primjećujemo da je u uzorku 2. skok udjela ovog alkohola najizraženiji. Na drugom mjestu nalazi se alkohol 2-metilbutan-1-ol, no međutim njegova je promjena nešto drugačija. Bez obzira što se nalazi na drugom mjestu njegov udio u vinu skladištenom u vrulji je izražen (16,33%, 9,34%, 19,57%), ali skladištenjem u podrumu njegov udio značajno opada (0,68%, 0,28%, 0,56%). Prateći tablicu primjećujemo da je u uzorku 1. i 2. skladištenom pod morem prisutan 2-feniletanol koji ima ružine mirisne note.⁽²⁹⁾ Alkohol koji je prisutan u uzorku 1. i 2. skladištenom u podrumu je heksanol koji se može pojaviti kao produkt metabolizma kvasca tijekom procesa fermentacije.⁽³⁵⁾ Iznimku možemo pronaći

u uzorku 3. koji u oba slučaja skladištenja posjeduje heksanol.

Esteri su druga po redu skupina po zastupljenosti aromatičnih spojeva. U sva 3 uzorka u oba slučaja skladištenja uspješno je izoliran dietil-sukcinat, kao i etil-oktanoat koji radi iznimku prilikom skladištenja uzorka 2. u vrulji. Etil-oktanoat dijeli zajedničke karakteristike ove skupine spojeva sa etil-dekanoatom i etil-heksanoatom u uzorcima kojima etil-oktanoat nije prisutan, a zadaća im je osiguravanje arome vina nošenjem cvjetnih i voćnih mirisnih nota.(35) Ostali esteri kao što su 3-metilbutil-acetat, etil-dodekanoat, etil-heksadekanoat i etil-linolat prisutni su u nešto manjim količinama, a također su kao važna grupa spojeva bitni za formiranje arome.(29)

Od iznimki u uzorku 1. skladištenom u podrumu ističe se benzaldehid. On je nusproizvod alkoholne fermentacije. Uzorak 2. skladišten pod morem specifičan je zbog sadržaja dekanske kiseline koja nije prisutna u ostalim uzorcima. Njezina uloga nije bitna toliko za aromu koliko je za složenost sastava arome.(29)

5. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenih istraživanja i dobivenih rezultata mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- HS-SPME metodom ekstrakcije izoliraju se hlapljivi spojevi male molekulske mase.
- GC-MS analizom tri uzorka vina od kojih je svaki odležao dvije godine u moru i dvije godine u podrumu identificirano je 14 hlapljivih spojeva od kojih je najzastupljeniji 3-metilbutan-1-ol.
- Svi spojevi pripadaju sekundarnim aromama i izolirani su pomoću plavog vlakna.
- Najvažniji i najzastupljeniji izolirani hlapljivi aromatski spoj prisutan u Teranu pripada skupini alkohola.
- Razlike u aromatskim profilima nakon provedenih istraživanja mogu se objasniti različitim uvjetima skladištenja.
- Potrebno je promijeniti uvjete HS-SPME ekstrakcije te provesti ekstrakciju tekuće-tekuće kako bi se dobio potpuni aromatski profil uzoraka vina.

6. LITERATURA

1. Lj. Rumora; Bijelo vino Pošip s otoka Korčule; *Agronomski glasnik, Glasilo Hrvatskog agronomskog društva*; Institut za jadranske kulture, Split; 14 (4-5) 1964: 285-292
2. Đ.Peršurić, D.Gluhić, Anita Silvana Ilak Peršurić; Pregled istraživanja šest sorata vinove loze u Istri; *Agronomski glasnik, Glasilo Hrvatskog agronomskog društva*; Institut za poljoprivredu i turizam Poreč, Hrvatska; 71 (4) 2009: 307-316
3. Slika 1. Istra, poluotok dostupno na: <https://www.istrapedia.hr/hr/natuknice/1260/istra-poluotok>
4. Zakon o vinu -NN 96/2003 , Odluka o proglašenju zakona o vinu, članak 3 (https://narodnenovine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2003_06_96_1219.html)
5. N.Fazinić; Problematika sortimenta vinove Loze u Istri i Hrvatskom primorju; *Agronomski glasnik, Glasilo Hrvatskog agronomskog društva*; Institut za voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo, Zagreb; 48 (1-2) 1986: 65-71
6. K.Štiglić; Stanje i perspektiva razvoja vinogradarstva i vinarstva Istre i Hrvatskog primorja; *Agronomski glasnik, Glasilo Hrvatskog agronomskog društva*; Zagreb, Hrvatska; 48 (1-2) 1986: 53-64
7. Vina laguna, vina istarskog stola, dostupno na: <https://vinalaguna.hr/vina-istarskog,-stola/>
8. Teran, Vinistria, dostupno na: <http://www.vinistra.com/Teran.aspx>)
9. T.Plavša, M.Bubola ,AM. Jagatić Korenika, A.Jeromel; Utjecaj inkapsuliranog kvasca na kakvoću pjenušavog ružičastog vina Teran; *Glasnik zaštite bilja*; 44 (6) 2021: 92-99
10. F.Stojanović, Primjena staklene ambalaže za pakiranje vina, Završni rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakulte, 2016
11. Tehnologija hrane, Tehnologija proizvodnje vina, dostupno na: <https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/tehnologija-proizvodnje-vina#toc-berba-groa>
12. Udruga kaptol, Osnove iz vinogradarstva i podrumarstva dostupno na: <https://www.udruga-vvv-kaptol.hr/osnove-iz-vinogradarstva-i-podrumarstva.html>
13. Vodič do vrhunskog crnog vina, dostupno na: <https://www.jabuka.tv/vodic-do->

[vrhunskog-crnog-vina/](#)

14. Proces prerade grožđa za proizvodnju vina, dostupno na: <https://flora.com.hr/2018/01/11/proces-prerade-grozda-za-proizvodnju-vina/>
15. I.Keszthely, Proizvodnja i čuvanje vina, Završni rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet, 2016.
16. I. Alpeza; Temelji kemijskog sastava vina; *Glasnik zaštite bilja* ;Hrvatski zavod za vinogradarstvo i vinarstvo, Zagreb; 31 (6) 2008; 143-150
17. Slika 3. dostupno na: (http://os-fkoncelak-drnje.skole.hr/upload/os-fkoncelakdrnje/images/static3/897/attachment/KEMIJA_8_Alkoholi_org_spoj_evi_sa_kisikom.pdf)
18. D. Domin; Usporedba osnovnih parametara kakvoće crnih vina različitih sorta, Završni rad, Veleučilište u Karlovcu, 2017.
19. Strukturna formula glukoze dostupno na: <https://bs.wikipedia.org/wiki/Glukoza>
20. Strukturna formula fruktoze dostupno na: <https://sites.google.com/site/kemijamilanzailac8b/ugljikohidrati/mono/fruktoza>
21. AM. Jagatić-Korenika, A. Jeromel, M. Mihaljević-Žulj, M., I. Puhelek; Utjecaj hladne maceracije na kemijski sastav vina autohtonih hrvatskih sorti vinove loze; *Glasnik zaštite bilja*; 35 (4) 2012; 78-86
22. Wahle, KW., Brown, I., Rotondo, D., Heys, S.D. Plant Phenolics in the Prevention and Treatment of Cancer.; *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 698 2010;36-51
23. Bo Zhank, Jian Cai, Chang-Qing Duan, Malcolm J. Reeves, Fei He; A Review of Polyphenolics in Oak Woods; *International Journal of Molecular Sciences*; 16 2015; 6978-7014
24. Sadržaj fenola u vinu - Phenolic content in wine, dostupno na: https://upwikihir.top/wiki/phenolic_content_in_wine
25. T. Plavša, K. Kovačević-Ganić; Utjecaj komercijalnih kvasaca (*Saccharomyces cerevisiae*) na antocijanski profil vina Teran i Cabernet Sauvignon; *Glasnik zaštite bilja*; 34 (4) 2011; 82-87
26. Što su tanini u vinu, dostupno na: <https://adrianysus.com/hr/wat-zijn-tannines-in-wijn/>

27. D. de Beer, E. Joubert, W.C.A. Gelderblom, M. Manley; Phenolic Compounds: A Review of Their Possible Role as In Vivo Antioxidants of Wine; *South African Journal of Enology and Viticulture*; 23 (2) 2002; 48-61
28. M.Bošnjak; Utjecaj koncentriranja membranskim procesom reverzne osmoze na tvari arome vina Cabernet Sauvignon, Diplomski rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek,2020.
29. A.Jurišić; Utjecaj soja kvasca na senzorska svojstva i sastav hlapljivih spojeva Pošip, Diplomski rad, Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, Diplomski studij prehrambene tehnologije,2021.
30. I. Jerković, A. Radonić, Praktikum iz organske kemije, Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu, Split, 2009.
31. I. Surjan, Hlapljivi organski spojevi vina Traminac, Diplomski rad, Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, 2017.
32. Slika 8 i 9. preuzeto sa: www.googlemaps.com
33. Tomislav Pavlešić, Privatna zbirka fotografija
34. Slika 14. dostupno na: <http://apolitichni.hr/pravilno-skladistenje-vina/>
35. D. Kovačić; Karakterizacija aromatičnih spojeva rakije biske, Diplomski rad, Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, Diplomski studij prehrambene tehnologije, 2021.