

Aroma vina pošip nakon 60 mjeseci starenja u bocama

Dorner, Amanda

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:541136>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-24**



Repository / Repozitorij:

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



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Amanda Dorner

6884/PT

AROMA VINA POŠIP NAKON 60 MJESECI STARENJA U BOCAMA

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Osnove prehrambenih tehnologija

Mentor: Doc. dr. sc. Marina Tomašević

Zagreb, 2019.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

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

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

AROMA VINA POŠIP NAKON 60 MJESECI STARENJA U BOCAMA

Amanda Dorner, 0058204477

Sažetak:

Aroma vina ovisi o brojnim faktorima kao što su sorta grožđa, vinogradarska praksa te primijenjeni enološki postupci tijekom proizvodnje i starenja vina. Cilj ovog rada bio je odrediti spojeve arome u vinima Pošip, proizvedenim različitim enološkim postupcima (predfermentativna maceracija, autohtoni kvasci i dodatak antioksidansa - glutation i sumporov dioksid), nakon 60 mjeseci starenja u bocama. Spojevi arome analizirani su primjenom plinske kromatografije s masenom detekcijom uz prethodnu mikroekstrakciju na čvrstoj fazi (SPME-GC/MS). Dobiveni rezultati pokazali su kako primjena predfermentativne maceracije kao ni alkoholna fermentacija autohtonim kvascima nisu rezultirali značajnim promjenama u koncentraciji analiziranih spojeva arome. Jedino je dodatak antioksidansa imao utjecaj njihove koncentracije, pri čemu je kombinacija glutationa i sumporovog dioksida rezultirala najboljim očuvanjem spojeva arome, odnosno njihovim najvišim koncentracijama.

Ključne riječi: aroma starenja, plinska kromatografija, Pošip, SPME

Rad sadrži: 33 stranice, 13 slika, 3 tablice, 55 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: Doc. dr. sc. Marina Tomašević

Datum obrane: 09. srpanj 2019.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

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

Department of Food Engineering
Laboratory for Technology and Analysis of Wine

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

AROMA OF POŠIP WINE AFTER 60 MONTHS OF BOTTLE AGING **Amanda Dorner, 0058204477**

Abstract:

Wine aroma depends on numerous factors, such as grape variety, agricultural practices as well as applied enological practices during vinification and aging of wine. The aim of this work was to evaluate aroma compounds in Pošip wines, produced by different enological practices (pre-fermentative maceration, indigenous yeast strains and antioxidants additions - sulfur dioxide and glutathione), after 60 months of aging in bottles. Aroma compounds were analyzed by solid phase microextraction prior to gas chromatography coupled with mass spectrometry (SPME-GC/MS). Obtained results showed that application of preferemntative maceration as well as indigenous yeast fermentation did not influence important changes in concentrations of aroma compounds. The only positive effect had the antioxidant addition, primarily combination of glutathione and sulfur dioxide that resulted in the best preservation (i.e., higher concentration) of aroma compounds.

Keywords: aged bouquet, gas chromatography, Pošip, SPME

Thesis contains: 33 pages, 13 figures, 3 tables, 55 references

Original in: Croatian

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

Mentor: PhD Marina Tomašević, Assistant professor

Defence date: 9th July 2019

Sadržaj:

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. Aroma vina.....	2
2.2. Utjecaj tehnoloških postupaka na aromu vina.....	3
2.2.1. Prešanje.....	3
2.2.2. Maceracija.....	3
2.3. Promjena arome vina tijekom starenja.....	4
2.4. Upotreba antioksidansa u procesu starenja vina.....	7
2.4.1. Sumporov dioksid.....	7
2.4.2. Glutation.....	7
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	9
3.1. Materijal.....	9
3.1.1. Uzorci vina Pošip (<i>Vitis vinifera L.</i>).....	9
3.1.2. Kemikalije.....	11
3.1.3. Instrumenti i oprema.....	12
3.2. Metoda.....	12
3.2.1. Postupak.....	12
3.2.2. Kromatografski uvjeti.....	13
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	14
5. ZAKLJUČAK.....	27
6. LITERATURA.....	28

1. UVOD

Aroma vina rezultat je međusobnog djelovanja više stotina hlapivih kemijskih spojeva, a vinu daje prepoznatljivost i sortni karakter. Ukupno je identificirano preko 3000 različitih spojeva u grožđu, moštu i vinu. Spojevi arome vina potječu iz samog grožđa (primarna aroma), nastaju kao rezultat metabolizma kvasca tijekom alkoholne i jabučno-mliječne fermentacije (aroma fermentacije) te kao rezultat različitih fizikalno-kemijskih reakcija koje se odvijaju tijekom starenja vina (aroma starenja). Brojni faktori utječu na aromatske spojeve, kao što su agroklimatski uvjeti, sorta i zrelost grožđa, uvjeti fermentacije (pH, temperatura, soj kvasca), tehnološki postupci proizvodnje (maceracija, prešanje, prisutnost kisika, primjena enoloških sredstava), uvjeti dozrijevanja i starenja vina (hrastove bačve, inoks tankovi, temperatura, svjetlost, kisik) itd.

Tijekom starenja, aroma vina se značajno mijenja. U slučaju bijelih vina, senzorski najvažnija posljedica je gubitak svježih, voćnih i cvjetnih aroma te razvoj novih, kompleksnijih (npr. aroma po medu, orašastim plodovima itd.). Najvažnije kemijske promjene koje se odvijaju tijekom procesa starenja su reakcije hidrolize i oksidacije, pri čemu dolazi do smanjenja koncentracije acetatnih i etilnih estera, spojeva odgovornih za voćnu svježu aromu, te stvaranja novih spojeva kao posljedica oksidacije (razni aldehidi).

Cilj ovog rada bio je odrediti spojeve arome u vinima Pošip nakon 60 mjeseci starenja u bocama. Nadalje, analizirana vina su proizvedena različitim enološkim postupcima (prešanje u reduktivnim uvjetima, predfermentativna maceracija, različiti sojevi kvasca tijekom alkoholne fermentacije te dodatak antioksidansa pri punjenju vina u boce) te je, osim navedenog, cilj bio i utvrditi utjecaj primijenjenih postupaka na analizirane spojeve arome.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Aroma vina

Aroma vina rezultat je jedinstvene kombinacije brojnih hlapivih spojeva koji potječu iz grožđa ili nastaju kao sekundarni produkti tijekom alkoholne fermentacije i dozrijevanja vina (Lambrechts i sur., 2000; Swiegers i sur., 2005). Hlapivi spojevi u vinu, u pravilu, se dijele na tri glavne skupine ovisno o fazi nastanka. To su: primarna, sekundarna i tercijarna aroma. Primarne arome čine spojevi koji su prisutni u grožđu i koji u vino prelaze tijekom procesa vinifikacije (Bakker i Clarke, 2012). Skupini primarne arome pripadaju terpeni (cvjetna i voćna aroma), norizoprenoidi (slatka i voćna aroma), sortni tioli (aroma po grejpu, marakuji, šimširu), C6 spojevi i metokspirazini (vegetativna aroma) (Álvarez-Pérez i sur., 2012; Murat i sur., 2001; Polášková i sur., 2008; Tominaga i sur., 1998). Primarna aroma može također uključivati spojeve koji nastaju u predfermentacijskim fazama, kao što je proces ruljanja i muljanja grožđa. Pritom se najčešće radi o spojevima kao što su heksenali i sortni tioli, koji uglavnom ostaju nepromijenjeni kroz preostale faze vinifikacije (Bakker i Clarke, 2012).

Spojevi sekundarne arome nastaju prvenstveno u procesu alkoholne fermentacije kao rezultat metabolizma kvasaca (čija je glavna funkcija proizvodnja etilnog alkohola) i čine kvalitativno i kvantitativno najznačajniju skupinu hlapivih spojeva prisutnih u vinu. Glavni predstavnici ove skupine spojeva su: viši alkoholi (oštra, opora i kemijska aroma), esteri (voćna i cvjetna aroma), hlapive masne kiseline (miris po siru), karbonilni spojevi te hlapivi fenoli (Jackson, 2008).

Tercijarna aroma, odnosno aroma starenja formira se tijekom procesa dozrijevanja ili starenja (u bačvi ili u boci) (Bakker i Clarke, 2012). Formiranje spojeva arome odvija se oksidacijom već postojećih komponenti primarne ili sekundarne arome (oksidativna aroma) i/ili kemijskom/fizikalnom ekstrakcijom sastojaka iz drveta bačve (Jackson, 2008). Spojevi vezani uz aromu starenja su uglavnom derivati vanilina te vitispirani (aroma po kerozinu i tartufima), aldehidi, acetali, te dimetil sulfid, spoj koji pozitivno utječe na aromatske karakteristike bijelih vina čuvanih u boci (Silva Ferreira i Guedes de Pinho, 2004; Jackson, 2008).

2.2. Utjecaj tehnoloških postupaka na aromu vina

2.2.1. Prešanje

Poznato je da rane tehnološke operacije u proizvodnji bijelih vina značajno utječu na ekstrakciju spojeva iz pokožice grožđa u mošt, a o primijenjenim postupcima i ovisi njihova konačna koncentracija u vinu (Maggu i sur., 2007).

Konvencionalni postupak proizvodnje bijelog vina podrazumijeva direktno prešanje grožđa te alkoholnu fermentaciju mošta. Prilikom provedbe procesa prešanja, dio soka istječe iz grožđa bez primjene pritiska (samotok), nakon čega slijedi prešanje kojim se izdvaja ostatak mošta (Bakker, 2012). Kontakt pokožice s grožđem i intenzitet tlačenja koji se primjenjuje tijekom prešanja grožđa utječu na ekstrakciju spojeva sorte arome iz pokožice (Maggu i sur., 2007). Pritom je važno voditi računa da primijenjeni tlakovi kod prešanja ne prelaze vrijednosti kod kojih bi došlo do istjecanja fiziološke vode iz pokožice ili do lomljenja sjemenki, što može dovesti do povećane ekstrakcije polifenolnih spojeva, koji će zbog svojih gorkih i trpkih svojstava utjecati na neharmoničnost vina, a potencijalno rezultirati i posmeđivanjem vina (Bakker, 2012). Tijekom prešanja važno je ravnomjerno rasporediti masulj, postepeno povećavati pritisak te povremeno rastresati kominu. Zadržavanje masulja u preši bi trebalo biti čim kraće, kako bi se spriječile nepoželjne promjene na moštu. Potrebno je minimalizirati kontakt sa zrakom tijekom prešanja, da ne bi došlo do oksidacije sastojaka mošta i pojave smeđih pigmenata (Bakker, 2012).

2.2.2. Maceracija

Predfermentativni procesi određuju aromatične karakteristike bijelog vina (Ribéreau Gayon i sur., 2006). Utvrđeno je da alternativni postupci maceracije utječu na sveukupnu kvalitetu vina, a među ostalim i na sastav spojeva arome u vinu (Bavčar i sur., 2011b). Općenito, maceracija je proces namakanja pokožice i sjemenki grožđa u soku grožđa. Učinkovitost maceracije ovisi o temperaturi, vremenu trajanja i stupnju miješanja (Bakker, 2012). U pravilu, tijekom postupka maceracije dolazi do povećanja koncentracije slobodnih i glikozidno vezanih hlapivih spojeva u moštu i vinu, što je i očekivano obzirom da je većina glikozidnih spojeva smještena u pokožici bobice grožđa (Sánchez Palomo i sur., 2006; Selli i sur., 2003; Reynolds i sur., 1993). Maceracija također utječe na promjene u ukupnoj kiselosti te pH vrijednosti mošta i vina. Tijekom kontakta soka s pokožicom, dolazi do smanjenja ukupne kiselosti te povećanja pH

vrijednosti, a navedene promjene su najvjerojatnije vezane uz oslobađanje kalija te njegovog vezanja s vinskom kiselinom (Jakobović i sur., 2008).

Važno je spomenuti da veće koncentracije prekursora u moštu ne moraju uvijek rezultirati i višim koncentracijama hlapivih spojeva u vinu (Rodriguez-Bencomo i sur., 2008; Sánchez Palomo i sur., 2006).

2.3. Promjena arome vina tijekom starenja

Tijekom starenja vina dolazi do značajnih promjena arome vina, pri čemu proces oksidacije ima vrlo važnu ulogu. Osim utjecaja na spojeve arome, oksidacija utječe i na boju vina te uzrokuje nepoželjno posmeđivanje bijelih vina. Općenito se smatra da se starenje vina odvija u dvije faze. Prva faza, zvana dozrijevanje, odnosi se na promjene koje nastaju između alkoholne fermentacije i punjenja u boce. Iako dozrijevanje često traje od 6 mjeseci do 2 godine, može se provoditi i kroz duži vremenski period. Druga faza započinje punjenjem u boce i naziva se starenjem. Budući da se ova faza u osnovi odvija u odsutnosti kisika, često se naziva i reduktivno starenje (Jackson, 2008). Studije o starenju crnih vina prvenstveno se odnose na promjene boje, okusa i osjeta, a većina istraživanja vezanih uz bijela vina usmjerena je na promjene intenziteta i kompleksnosti mirisa. Gubitak arome, osobito kod mladih bijelih vina, često je povezan je sa smanjenjem koncentracije estera (Jackson, 2008).

Općenito, esteri sintetizirani tijekom fermentacije pridonose svježim, voćnim karakteristikama mladih bijelih vina. Pritom su najznačajniji acetatni esteri nastali esterifikacijom octene kiseline i viših alkohola, kao što su *f*-amil i *f*-butil acetat. Koncentracija acetatnih estera je nakon alkoholne fermentacije u suvišku, a s ciljem postizanja ravnoteže dolazi do njihove hidrolize u odgovarajuće kiseline i alkohole. Drugim riječima, intenzitet voćne arome povezane s acetatnim esterima s dužim vremenom starenja se smanjuje (Gonzalez Viñas i sur., 1996). Navedene promjene sporije su u vinima s nižom pH vrijednosti te onima skadištenim na nižim temperaturama (Marais i Pool, 1980). Osim navedenog, prisutnost antioksidanasa kao što su sumporov dioksid i razni fenolni spojevi (kafeinska i galna kiselina) također smanjuju brzinu hidrolize voćnih estera (Lambropoulos i Roussis, 2007).

Druga velika skupina estera su etilni esteri, a nastaju reakcijama etanola i dugolančanih zasićenih masnih kiselina. Koncentracija ovih estera varira tijekom starenja vina, a ovisno o

samom vinu i fazi starenja može doći do smanjenja, povećanja ili čak izostanka promjene koncentracije. Hidrolizu etilnih estera usporava visoki volumni udio etanola u vinu, ali moguća je u uvjetima niskog pH, visoke temperature i kod estera sa većom molekulskom masom. Esteri s kraćim ugljikovodičnim lancima, kao što su butanoat, heksanoat i oktanoat imaju izraženije voćne karakteristike. Porastom duljine ugljikovodičnog lanca, miris se mijenja, postaje sapunast i u konačnici nalik na mast (Jackson, 2008).

Treća, te ujedno koncentracijom najznačajnija skupina estera, sintetizira se sporo, neenzimatskim putem, a uključuje reakciju etanola i organskih kiselina kao što su vinska, jabučna, mliječna, limunska i jantarna kiselina. Brzina sinteze ovih estera raste s povećanjem volumnog udjela etanola, te pri nižim pH vrijednostima i višim temperaturama (Shinohara i Shimizu, 1981). Iako su koncentracijom najznačajnije, ove kiseline imaju ograničen utjecaj na miris vina. U ovoj skupini se posebna važnost pridaje sintezi dietil sukcinata. Dietil sukcinat, zajedno s metil sukcinatom značajno utječe na miris muškatih vina (Lamikanra i sur., 1996). Međutim, ostali spomenuti esteri imaju beznačajan utjecaj na sam miris vina, prvenstveno zbog niske hlapivosti i nesvojstvenog mirisa.

Osim estera, tijekom starenja dolazi do značajnih promjena u koncentracijama terpena. To je posebno važno za aromu vina sorte Muškati i srodnih kultivara. Oksidacija terpena rezultira značajnim gubitkom sortnog karaktera u ovim vinima. Ukupna koncentracija monoterpenih alkohola se značajno smanjuje tijekom starenja. Pritom je posebno izraženo smanjenje koncentracija geraniola, linalola i citronelola. Općenito, smanjenje koncentracije terpena može rezultirati značajnim gubitkom cvjetnih karakteristika vina. Suprotno prethodno navedenim terpenima, tijekom starenja dolazi i do povećanja koncentracija pojedinih terpena i njihovih derivata, kao što su linalool oksid, nerol oksid, hotrienol i α -terpineol. Većina ovih derivata ima viši senzorski prag osjetljivosti od njihovih monoterpenih prekursora. Primjerice, senzorski pragovi osjetljivosti oksida linalola u rasponu su od 3000 do 5000 $\mu\text{g/L}$ u odnosu na 100 $\mu\text{g/L}$, što iznosi za sam linalol (Rapp, 1988). Derivati oksida terpena također imaju kvalitativno različite mirise. α -terpineol, ovisno o kojem se enantiomeru tog spoja radi, može nositi cvjetni miris nalik na jorgovan ili težak miris crnogorice (drven miris), dok je njegov prekursor linalol nositelj cvjetnih nota (Jackson, 2008). Također, smjese spojeva, odnosno njihova kombinacija može rezultirati različitim utjecajem na miris nego što bi pojedinačno utjecale. Heterociklički spojevi terpena s kisikom također se razvijaju tijekom starenja, ali njihov utjecaj na senzorske karakteristike vina još uvijek nije poznat.

Među ostalim skupina spojeva aroma, bitno je istaknuti norizoprenoide. Koncentracija β -damaskenona, kao i drugih produkata izoprenoidne degradacije, kao što su α - i β -jononi se smanjuje tijekom starenja. Nadalje, koncentracija ostalih predstavnika fermentacijske arome, kao što je 2-feniletanol, također se smanjuje tijekom starenja.

U konačnici, osim potpunog gubitka ili modifikacije spojeva primarne i fermentacijske arome, tijekom starenja može doći i do sinteze novih aromatskih spojeva. Neki od novonastalih spojeva, u pravilu, su rezultat oksidacije, a glavni predstavnik je acetaldehid spoj koji je sinonim za oksidirani miris bijelih vina (Escudero i sur., 2002). Nadalje, sinteza furfurala i heksanala također imaju važnu ulogu u razvoju oksidiranog mirisa vina, te njihov miris može odigrati značajnu ulogu u prikrivanju prirodnog mirisa vina. Osim oksidacije, izlaganje vina visokim temperaturama također može rezultirati sintezom novih spojeva arome (Silva Ferreira i sur., 2003). Razgradnja ugljikohidrata odvija se brzo tijekom zagrijavanja vina. Slične, kiselinom katalizirane reakcije dehidratacije također se odvijaju, ali su mnogo sporije na temperaturama vinskih podruma. Na primjer, koncentracija karameliziranog 2-furfurala značajno se povećava tijekom starenja. Senzorski utjecaj drugih produkata razgradnje, kao što su 2-acetilfuran, etil-2-furoat, 5-hidroksimetil-2-furaldehid, 2-formilpirol i levulinska kiselina, dosad nije istražen. Općenito, spojevi vezani uz aromu starenja su najčešće derivati vanilina te vitispirana, pri čemu se posebno ističe 1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftalen (TDN) koji je jedan od značajnijih predstavnika vitispirana, a nositelj je arome po kerozinu i tartufima. Njegova se koncentracija značajno povećava tijekom starenja vina, a dosad je istaknut kao značajan za aromu Riesling vina (Silva Ferreira i Guedes de Pinho, 2004).

Osim navedenog, tijekom starenja može doći i do povećanja koncentracije spojeva sa sumporom, koji nastaju uslijed reduktivnih uvjeta starenja. Najznačajniji predstavnik ove skupine je dimetil sulfid. Njegovo nakupljanje povremeno se povezuje s razvojem poželjne arome starenja. Spedding i Raut (1982) su utvrdili da dodatak 20 mg/L dimetil sulfida (vinima koja sadrže 8-15 mg/L dimetil sulfida) povećava ocjenu kvalitete vina. U slučajevima nižih koncentracija, ovaj spoj se povezuje s povećanom kompleksnošću okusa, te opisuje kao nositelj arome tartufa i crne masline (Segurel i sur., 2004). Viša koncentracija (40 mg/L) smatra se nepoželjnom jer negativno utječe na senzorske karakteristike vina. Ponekad, u uvjetima čuvanja vina pri temperaturama iznad 20 °C sinteza dimetil sulfida može biti značajno povećanja i u konačnici rezultirati prikrivanjem sortnog karaktera vina nakon samo nekoliko mjeseci (Rapp i Marais, 1993).

2.4. Upotreba antioksidansa u procesu starenja vina

2.4.1. Sumporov dioksid

Sumporov dioksid (SO_2) jedan je od najefikasnijih i najčešće upotrebljivanih kemijskih spojeva u proizvodnji vina. Otopine SO_2 mogu se koristiti prilikom sterilizacije opreme za proizvodnju vina. Nadalje, SO_2 posjeduje jaku antimikrobnu aktivnost, pa će, u slučaju dodavanja neposredno prije fermentacije, inhibirati rast autohtonih kvasaca i kontaminirajućih bakterija, osobito bakterija mliječne i octene kiseline. Fermentacijski kvasci *Saccharomyces cerevisiae* nisu posebno osjetljivi na dodatak SO_2 , čak ga i sami proizvode u manjim koncentracijama (Rankine i Pocock, 1969). Sumporov dioksid također smanjuje stupanj posmeđivanja fenolnih spojeva zato što djeluje kao antioksidans, suzbijajući kemijsku oksidaciju fenolnih spojeva, čime se učinkovito smanjuju reakcije posmeđivanja. Pritom SO_2 ulazi u reakcije s acetaldehidom, produktom oksidacije, i na taj način sprječavanja gubitak sorte arome, kao i glavnih predstavnika fermentacijske arome. Zapravo, reakcija s aldehidom uključuje sprječavanje stvaranja takozvanih kinona, koji nastaju u procesu oksidacije fenolnih spojeva, a što u konačnici rezultira promjenama senzorskih svojstava vina (Bakker i Clarke, 2012). Suprotno tome, može utjecati i na smanjenje pojedinih mirisa, kao što je slučaj reakcije između SO_2 i damaskenona koja rezultira smanjenjem utjecaja ovog spoja na voćni karakter nekih vina (Daniel i sur., 2004).

Uporaba SO_2 u proizvodnji vina ne bi smjela biti prekomjerna zbog mogućih neželjenih učinaka, a maksimalne doze su propisane i zakonskim regulativama. Poznato je da SO_2 ima negativne fiziološke učinke na osjetljive pojedince, tako da postoji WHO/FAO preporuka o maksimalnom dnevnom unosu iz svih izvora od 0,7 mg po kg tjelesne težine. Velike doze su toksične, no većina komercijalnih vina sadrži manje od 100 mg/L (Bakker i Clarke, 2012).

2.4.2. Glutation

Upravo zbog prethodno navedenih negativnih učinaka SO_2 na zdravlje pojedinca, sve je više nastojanja vinara i znanstvenika da se njegova upotreba što više smanji tijekom cijelog postupka proizvodnje vina. Pritom se, kao jedna od alternativa, često ističe reducirani glutacion (GSH). Općenito, GSH je tripeptid s antioksidacijskim svojstvima koji je prirodno prisutan u vinima u malim koncentracijama (Kritzinger i sur., 2013). Koncentracija GSH u vinu varira ovisno o sorti, agroklimatskim uvjetima (Cheynier i sur., 1989); o sojevima kvasaca korištenim za provedbu

alkoholne fermentacije i samoj tehnologiji proizvodnje vina (Kritzinger i sur., 2013). Važno je razlikovati GSH i ukupni glutacion, jer samo u reduciranom obliku glutacion djeluje kao antioksidans u vinu. Koncentracija ukupnog glutaciona jednaka je zbroju koncentracije GSH i dimernog glutaciona (GSSG) (Webber i sur., 2017).

Glutacion sprječava posmeđivanje, reagirajući s kinonom kaftarinske kiseline. Smatra se da je omjer između koncentracije kaftarinske kiseline i glutaciona jedan od važnijih parametara (Macheix i sur., 1991). GSH inhibira stvaranje tamnih polimera sprječavanjem polimerizacije kinona prisutnih u vinu, a nastalih uslijed oksidacije fenolnih spojeva. Sa svojom tiolnom skupinom kao nukleofilnim središtem bogatom elektronima, GSH zamjenjuje elektrofilni prsten kinona kaftarinske kiseline. Ova zamjena zapravo regenerira hidrokinonski oblik odgovarajućeg dijela kafeinske kiseline. Nastali spoj se naziva GRP (eng. *grape reaction product*) koji nije obojen i koji praktički nije podložan procesu oksidacije (Li i sur., 2008; Comuzzo i sur., 2013). Preporučena maksimalna koncentracija GSH koja se dodaje u mošt tijekom vinifikacije iznosi 20 mg/L (Webber, 2017).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijal

3.1.1. Uzorci vina Pošip (*Vitis vinifera L.*)

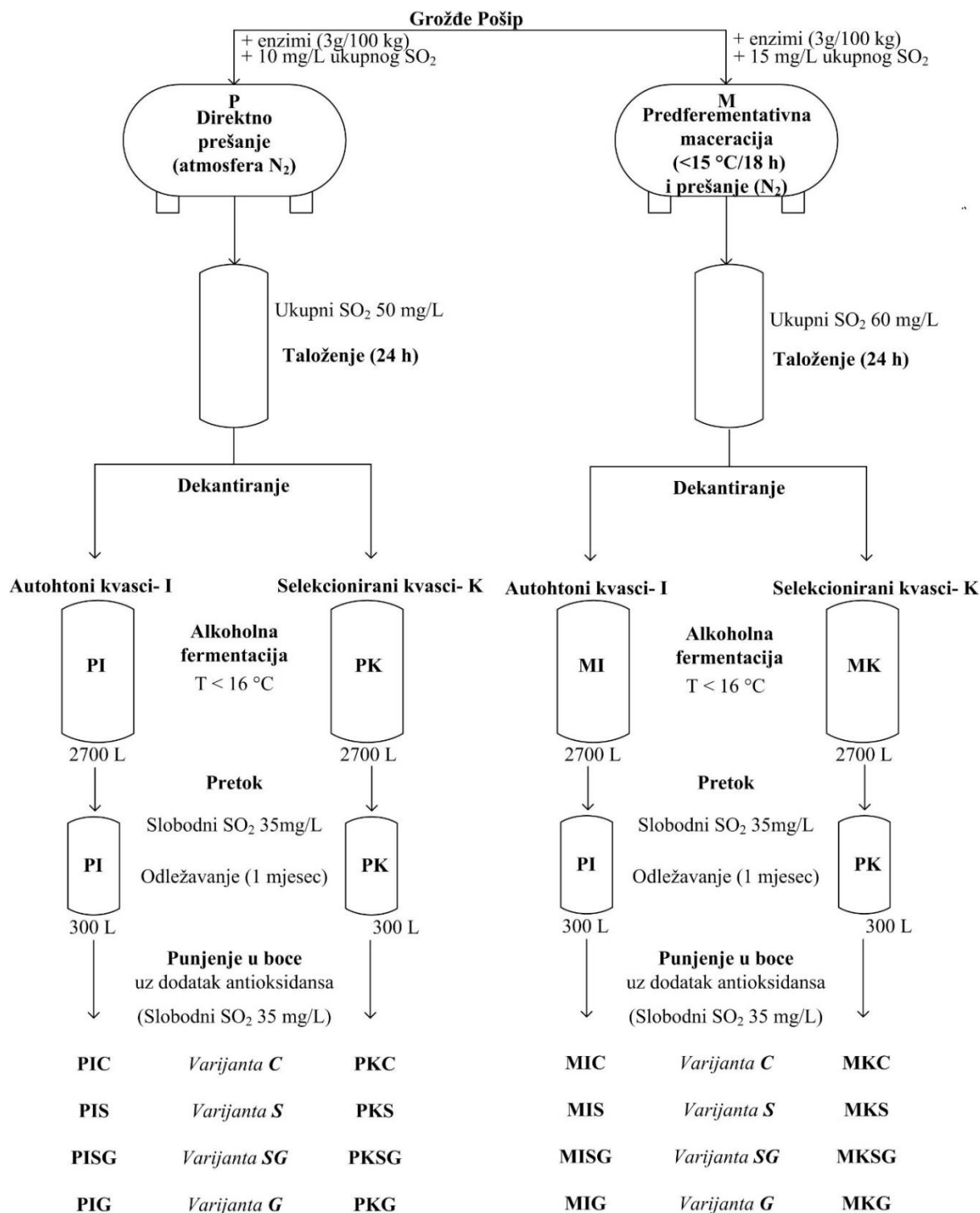
U svrhu istraživanja korišteno je vino sorte Pošip (*Vitis vinifera L.*), iz vinogorja Korčula, položaj Smokvica. Vino je proizvedeno tehnološkim procesom proizvodnje bijelih vina nakon berbe 2013. godine, uz određene razlike primijenjenih tehnoloških operacija.

Postupak proizvodnje uključivao je muljanje i runjenje masulja, direktno prešanje u struji dušika (P) ili predfermentativnu maceraciju i prešanje (M), nakon čega je uslijedilo taloženje mošta i dekantiranje. Alkoholna fermentacija provedena je djelovanjem autohtonih (I) ili uz dodatak komercijalnih kvasaca (K). Četiri različite varijante proizvodnje vina su u konačnici provedene: (i) prešanje u reduktivnim uvjetima uz dušik kao inertni plin, uz dodatak enzima, sumporenje mošta sumporastom kiselinom, taloženje, spontanu alkoholnu fermentaciju djelovanjem autohtonih kvasaca te punjenje vina u boce u struji dušika i starenje; (ii) prešanje u reduktivnim uvjetima, dodatak enzima i sumporenje mošta kao i prethodni primjer, uz razliku provođenja alkoholne fermentacije komercijalnim kvascima; (iii) predfermentativna maceracija masulja (15 °C, 15 h), prešanje u reduktivnim uvjetima uz dušik kao inertni plin i uz dodatak enzima, sumporenje mošta. Nakon taloženja mošta provedena je spontana alkoholna fermentacija djelovanjem autohtonih kvasaca, punjenje vina u boce u struji dušika i dozrijevanje te (iv) četvrta procesna varijanta dobivena je istim postupcima kao i treća varijanta uz razliku provođenja alkoholne fermentacije komercijalnim kvascima.

Po završetku alkoholne fermentacije, vino je pretočeno te je provedena korekcija sumporovog dioksida (35 mg/L). Nakon mjesec dana odležavanja u tankovima, provedeno je punjenje u boce u struji dušika, uz dodatak antioksidansa. Pritom su četiri različite varijante punjenja uz dodatak antioksidansa provedene:

- punjenje u standardnim uvjetima (slobodni SO₂ 35 mg/L),
- punjenje vina u boce uz dodatak 15 mg/L SO₂ (slobodni SO₂ 50 mg/L),
- punjenje u boce uz dodatak 20 mg/L glutaciona (slobodni SO₂ 35 mg/L),
- punjenje uz dodatak 15 mg/L SO₂ i 20 mg/L glutaciona (slobodni SO₂ 50 mg/L).

Analiza uzoraka vina provedena je nakon 60 mjeseci starenja u bocama. Vina su šifrirana obzirom na provedene procesne varijante, što je detaljno prikazano u tablici 1, dok je shematski prikaz proizvodnje vina prikazan na slici 1.



Slika 1. Shematski prikaz proizvodnje vina Pošip u inoks tankovima (Tomašević i sur., 2017)

Tablica 1. Analizirani uzorci vina proizvedeni direktnim prešanjem grožđa u atmosferi dušika (P) i predfermentativnom maceracijom (M)

Uzorak vina	Alkoholna fermentacija	Punjenje u boce
PIC	Autohtoni kvasci - I	Standardni uvjeti – C
PIS	Autohtoni kvasci - I	Viši udio slobodnog SO ₂ - S
PISG	Autohtoni kvasci - I	Viši udio slobodnog SO ₂ uz dodatak glutaciona – SG
PIG	Autohtoni kvasci - I	Dodatak glutaciona – G
PKC	Selekcionirani kvasci - K	Standardni uvjeti – C
PKS	Selekcionirani kvasci - K	Viši udio slobodnog SO ₂ – S
PKSG	Selekcionirani kvasci - K	Viši udio slobodnog SO ₂ uz dodatak glutaciona - SG
PKG	Selekcionirani kvasci - K	Dodatak glutaciona - G
MIC	Autohtoni kvasci - I	Standardni uvjeti - C
MIS	Autohtoni kvasci - I	Viši udio slobodnog SO ₂ - S
MISG	Autohtoni kvasci - I	Viši udio slobodnog SO ₂ uz dodatak glutaciona - SG
MIG	Autohtoni kvasci - I	Dodatak glutaciona – G
MKC	Selekcionirani kvasci - K	Standardni uvjeti – C
MKS	Selekcionirani kvasci - K	Viši udio slobodnog SO ₂ – S
MKSG	Selekcionirani kvasci - K	Viši udio slobodnog SO ₂ uz dodatak glutaciona - SG
MKG	Selekcionirani kvasci - K	Dodatak glutaciona - G

3.1.2. Kemikalije

Za mikroekstrakciju na čvrstoj fazi i određivanje spojeva arome metodom plinske kromatografije s masenom detekcijom (SPME-GC/MS), upotrijebljene su sljedeće kemikalije:

- Natrijev klorid, p.a., Carlo Erba, Val de Reuil, Francuska
- *n*-amil alkohol (interni standard), Sigma Aldrich, St. Louis, SAD

3.1.3. Instrumenti i oprema

- Analitička vaga, Metler Toledo ($\pm 0,0001$ g), Greifensee, Švicarska
- Mikropipeta, 10-100 μ L, Eppendorf, Hauppauge, NY, SAD
- Plinski kromatograf (Agilent 6890 Network GC System) s masenim detektorom (Agilent 5973 Inert Mass Selective Detector), Agilent Technologies, Santa Clara, SAD.
- SPME držač 57330-U, Supelco, Bellefonte, SAD
- SPME vlakno 100 μ m PDMS, 23 Ga, Manual holder, Supelco, Bellefonte, SAD.
- Termoblok s magnetskom miješalicom, Pierce, Reacti-ThermTM, Heating/Stirring module, No. 18971, Rockford, SAD

3.2. Metoda

Određivanje spojeva arome provedeno je metodom SPME-GC/MS, tj. plinskom kromatografijom s masenom detekcijom uz prethodnu mikroekstrakciju na čvrstoj fazi (Tomašević i sur., 2017).

3.2.1. Postupak

U odmjernu tikvicu od 50 mL otpipetirati dio uzorka vina, pomoću mikropipete dodati interni standard, *n*-amil alkohol u koncentraciji 20 mg/L, te nadopuniti tikvicu uzorkom do oznake. U vialu od 20 mL odvagati 2 g natrijevog klorida u svrhu povećanja ionske jakosti. Nakon toga staviti magnet, te otpipetirati 10 mL pripremljenog uzorka s internim standardom. Nakon toga vialu zatvoriti te staviti u termoblok s magnetskom miješalicom. Adsorpciju na SPME vlakno provesti kroz 30 minuta pri temperaturi od 40 °C uz konstantno miješanje. Nakon 30 min vlakno prenijeti u injektor plinskog kromatografa gdje se vrši desorpcija kroz 5 minuta. Za svaki uzorak provesti dvije paralelne analize.

3.2.2. Kromatografski uvjeti

Tablica 2. Kromatografski uvjeti za određivanje spojeva arome u vinu

Kolona	BP20 (SGE Analytical Science, Victoria, Australia) 50 m x 220 μ m, 0,25 μ m		
Mobilna faza	Helij 5,0		
Protok (mL/min)	1,2		
Način injektiranja	<i>Splitless</i>		
Temperatura injektora (°C)	250		
Temperatura detektora (°C)	280		
Elektronska ionizacija (eV)	70		
Temperaturni program	Dinamika (°C/min)	Temperatura (°C)	Zadržavanje (min)
		40	5
	3	200	0
	30	240	1
Detekcija/identifikacija	Maseni detektor (MSD)		
Način rada detektora	<i>Scan</i> način snimanja spektra (35-350 <i>m/z</i>)		

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu određeni su spojevi arome vina sorte Pošip nakon 60 mjeseci starenja u bocama. Ukupno je analizirano 16 uzoraka vina Pošip, proizvedenih različitim tehnološkim procesima. Spojevi arome analizirani su SPME-GC/MS metodom. U navedenim uzorcima je identificirano i kvantificirano 12 spojeva arome: 5 etilnih estera (etil butirat, etil heksanoat, etil oktanoat, etil dekanoat, dietil sukcinat), 2 acetatna estera (etil acetat i *l*-amil acetat), 4 viša alkohola (*l*-amil alkohol, 1-heksanol, *cis*-3-heksen-1-ol i 2-fenil etanol) te vitispiran TDN. Na slikama od 2 do 16 su prikazane koncentracije navedenih spojeva arome u analiziranim uzorcima vina.

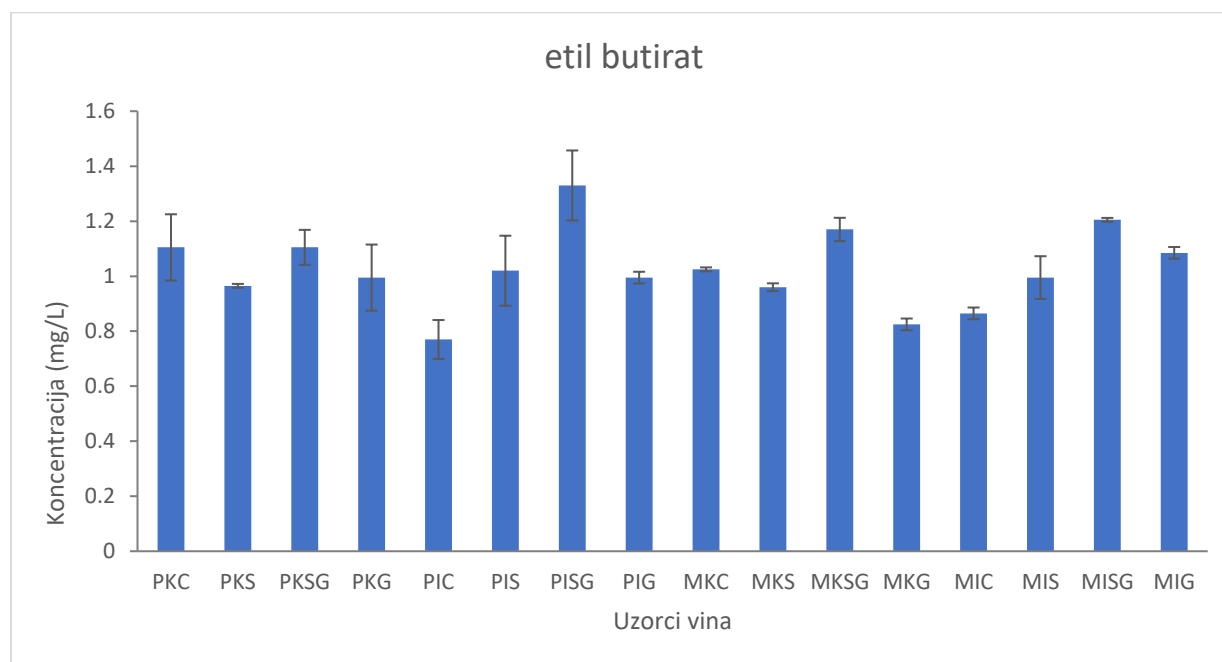
Analizirani uzorci vina razlikuju se po tehnološkom postupku proizvodnje, što je i naznačeno u nazivu svakog pojedinog uzorka, a u tablici 3 su navedene šifre pojedinih varijanti.

Tablica 3. Pojašnjenje kratica u nazivu pojedinih uzoraka vina

Oznaka	Opis
P	Direktno prešanje u struji dušika
M	Predfermentativna maceracija
K	Komercijalni kvasci
I	Autohtoni kvasci
C	Standardna koncentracija SO ₂
S	Viši udio SO ₂
G	Dodatak glutaciona
SG	Viši udio SO ₂ i dodatak glutaciona

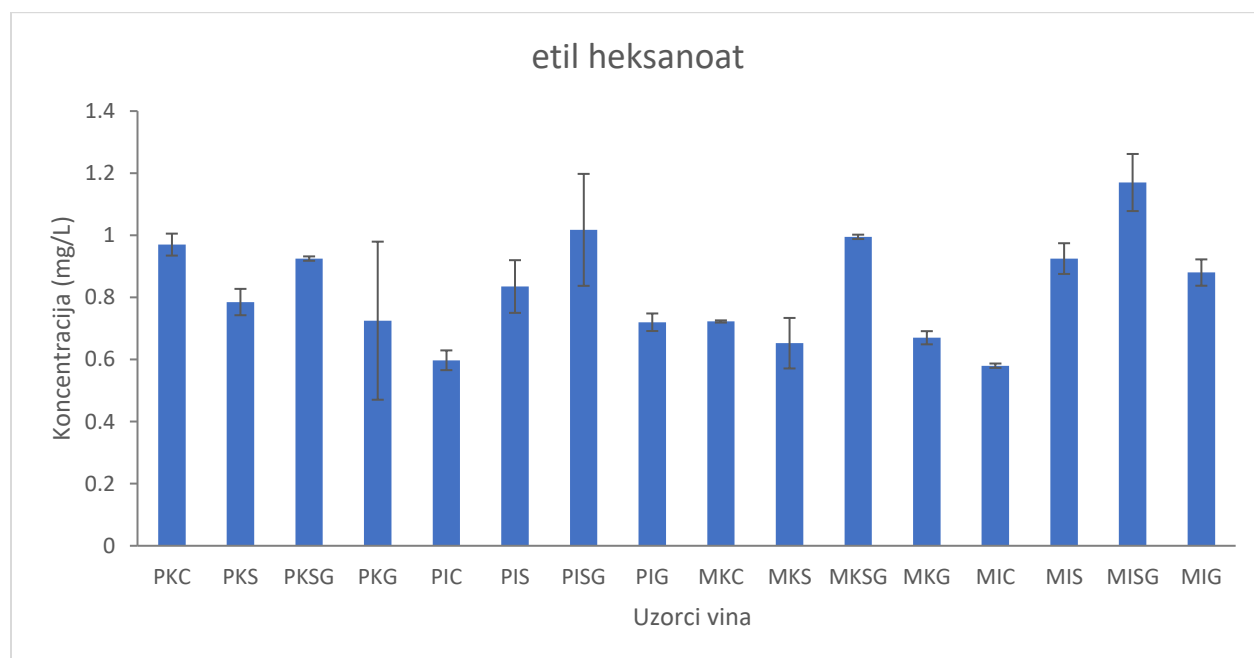
Primjer: kratica PISG označava vino proizvedeno direktnim prešanjem u struji dušika, fermentacijom djelovanjem autohtonih kvasaca, te uz viši udio SO₂ i dodatak glutaciona

Na slici 2. prikazana je koncentracija etil butirata u analiziranim uzorcima vina Pošip. Najveća koncentracija ovog spoja, u iznosu od 1,33 mg/L, određena je u uzorku PISG, dok je najmanja koncentracija od 0,77 mg/L određena u uzorku PIC. S obzirom na primijenjene varijante tijekom proizvodnje vina, najznačajnije razlike utvrđene su obzirom na dodatak antioksidansa. Pritom je kombinacija glutaciona i višeg udjela SO₂ rezultirala višim koncentracijama etil butirata u usporedbi s drugim varijantama punjenja, što najvjerojatnije proizlazi iz sinergističkog djelovanja glutaciona i SO₂, koje pridonosi većem zaštitnom efektu nego samo povišena koncentracija SO₂ (Webber i sur., 2014). S druge strane, utjecaj predfermentativne maceracije kao i kvasaca nije izražen, obzirom da nema vidljivih razlika u koncentracijama etil butirata u uzorcima proizvedenim navedenim varijantama. Etil butirat je nositelj slatke, voćne arome te arome po koštuničavom voću kao što su jabuka i breskva (Swiegers i sur., 2005). Općenito, etilni esteri s kraćim ugljikovodičnim lancima, kao što su etil butanoat, heksanoat i oktanoat, imaju izraženije voćne karakteristike. Porastom duljine ugljikovodičnog lanca, miris se mijenja, postaje sapunast i konačno nalik na mast (Marais i Houtman, 1979).



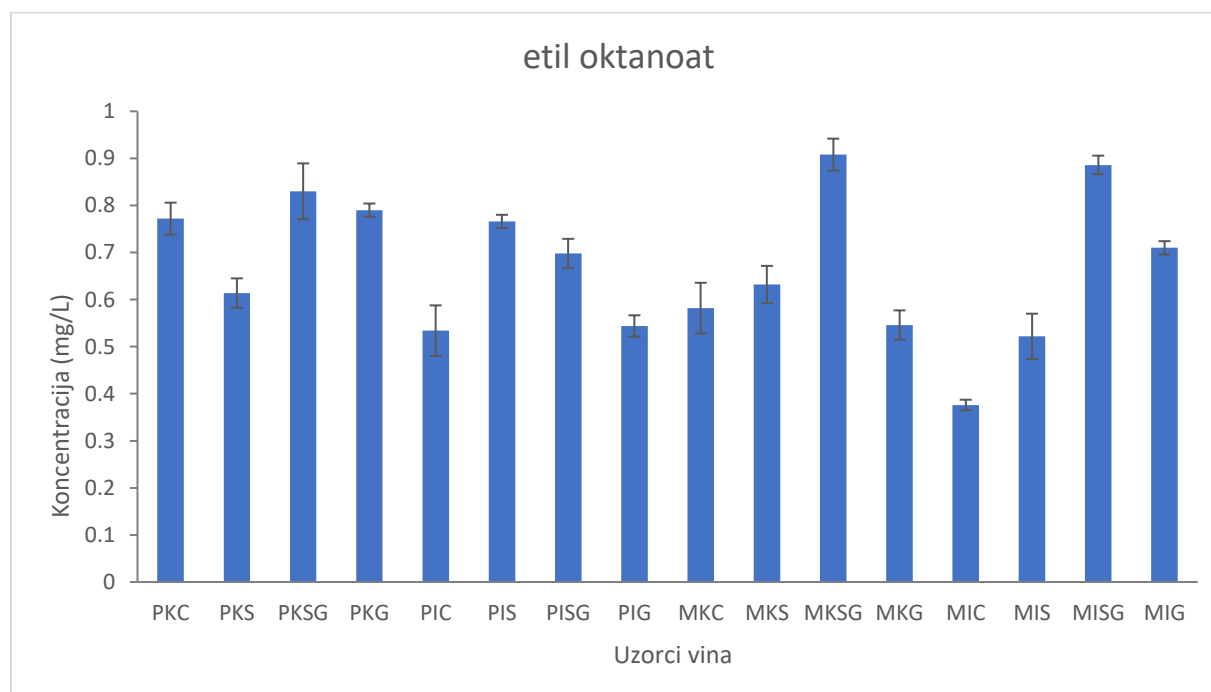
Slika 2. Koncentracija (mg/L) etil butirata u analiziranim uzorcima

Koncentracija etil heksanoata prikazana je na slici 3. Najviša koncentracija ovog spoja utvrđena je u uzorku MISG (1,17 mg/L), a najniža u uzorku MIC (0,58 mg/L). Sličan trend, kao i u slučaju etil butirata, se može utvrditi obzirom na primijenjene varijante proizvodnje. Naime, dodatak antioksidansa pri punjenju i u slučaju etil heksanoata je rezultirao očiglednim razlikama u koncentracijama ovog spoja. Pritom je kombinacija glutaciona i višeg udjela SO₂ rezultirala i njegovim najvišim koncentracijama. Nadalje, alkoholna fermentacija autohtonim kvascima rezultirala je blago povišenim koncentracijama etil heksanoata, što odgovara prethodnim istraživanjima (Álvarez-Pérez i sur., 2012; Liu i sur., 2016), gdje su više koncentracije etil heksanoata određena u vinima proizvedenim djelovanjem autohtonih kvasaca. Predfermentativna maceracija nije rezultirala vidljivim razlikama u koncentraciji etil heksanoata. Senzorski prag osjetljivosti etil heksanoata iznosi 0,08 mg/L (Lambrechts i Pretorius, 2000), što implicira da je ovaj spoj bitan za aromu analiziranih vina, obzirom da su sve utvrđene koncentracije više od te vrijednosti.



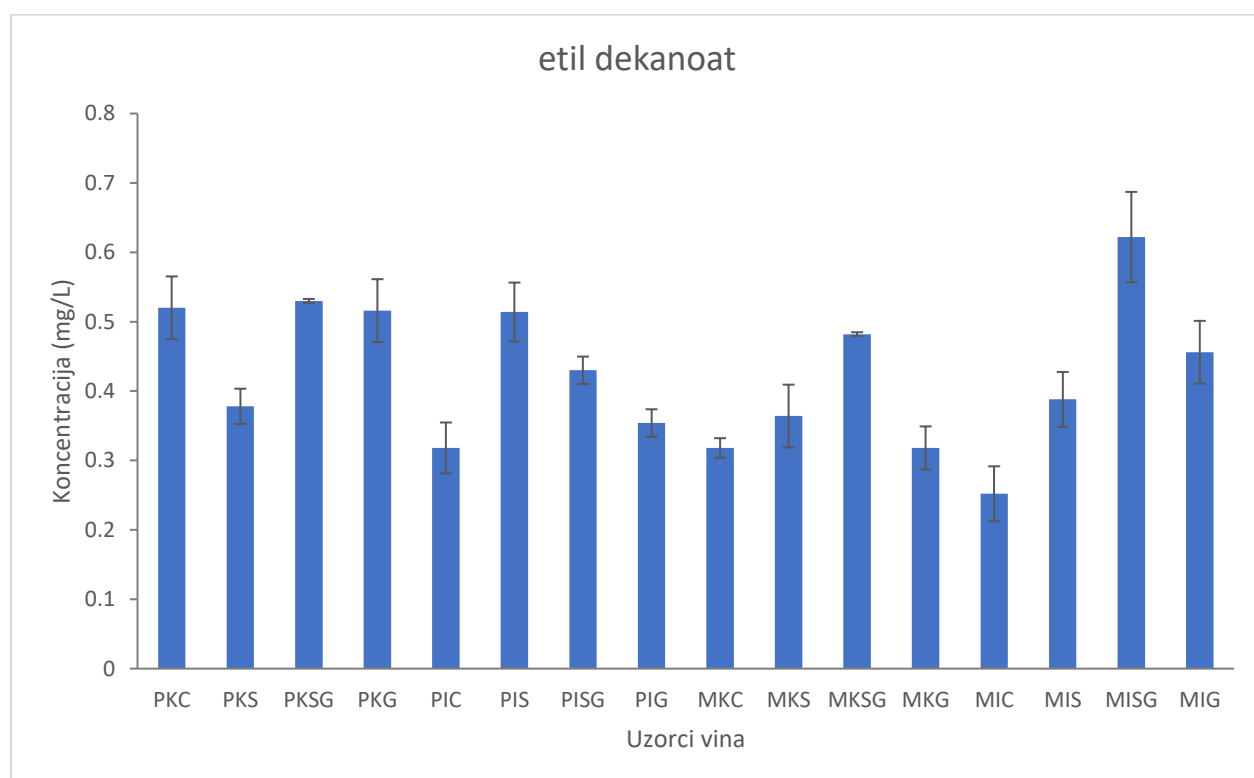
Slika 3. Koncentracija (mg/L) etil heksanoata u analiziranim uzorcima

Senzorski prag osjetljivosti etil oktanoata iznosi 0,5 mg/L (Lambrecht i Pretorius, 2000), a njegove koncentracije u analiziranim uzorcima vina Pošip su prikazane na slici 4. U većini analiziranih uzoraka, osim u uzorcima PIC, PIG, MIC i MIS, utvrđen je u koncentracijama iznad prethodno navedenog senzorskog praga osjetljivosti, što implicira da i ovaj ester ima bitnu ulogu u sveukupnoj aromi vina Pošip nakon 60 mjeseci starenja u bocama. Najviša koncentracija etil oktanoata od 0,91 mg/L određena je u MKSG uzorku, dok je najmanja koncentracija iznosila 0,38 mg/L te je određena u uzorku vina MIC. U gotovo svim uzorcima, osim onih proizvedenih direktnim prešanjem i alkoholnom fermentacijom autohtonim kvascima, utvrđen je sličan trend kao i u prethodnim slučajevima: dodatak glutaciona i SO₂ rezultirao je najvišim koncentracijama ovog spoja. Kao i prethodno, utjecaj predfermentativne maceracije i soja kvasaca nije posebno istaknut, iako je alkoholna fermentacija komercijalnim kvascima rezultirala blago povišenim koncentracijama u usporedbi s fermentacijom autohtonim kvascima. U prethodnom istraživanju (Tomašević i sur., 2017) najefektivnijom kombinacijom za očuvanje koncentracije etil oktanoata pokazala se alkoholna fermentacija autohtonim kvascima te dodatak glutaciona i SO₂ pri punjenju u boce.



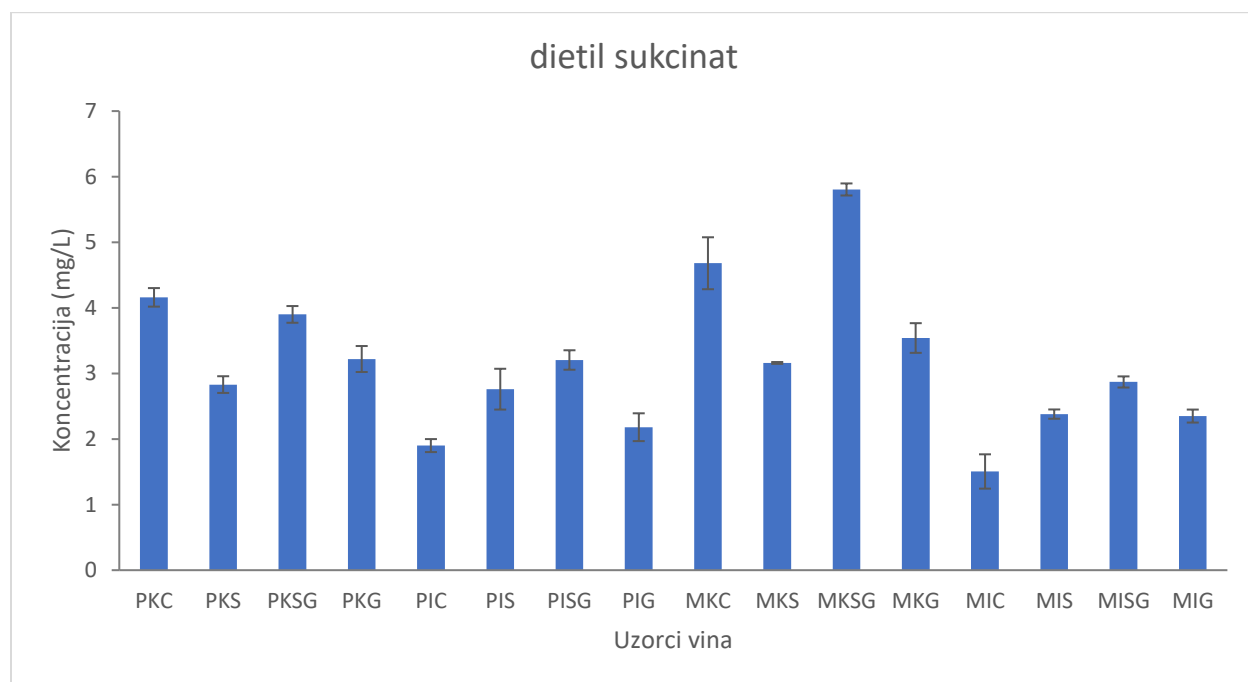
Slika 4. Koncentracija (mg/L) etil oktanoata u analiziranim uzorcima

Na slici 5. prikazane su koncentracije etil dekanooata u analiziranim uzorcima. Senzorski prag osjetljivosti ovog spoja iznosi 0,5 mg/L (Lambrechts i Pretorius, 2000). Iz dobivenih rezultata vidljivo je kako koncentracije etil dekanooata u većini analiziranim uzoraka ne prelaze ovaj senzorski prag. Drugim riječima, utjecaj ovog spoja na aromu vina Pošip nakon 60 mjeseci starenja u bocama je zanemariv. Utjecaj dodatka antioksidansa na koncentraciju etil dekanooata se razlikuje od prethodno opisanih estera: varijanta punjenja u boce uz kombinaciju glutaciona i SO₂ je samo u slučaju maceriranih vina rezultirala najvišim koncentracijama ovog spoja, što je sukladno i prethodnom istraživanju (Tomašević i sur., 2017).



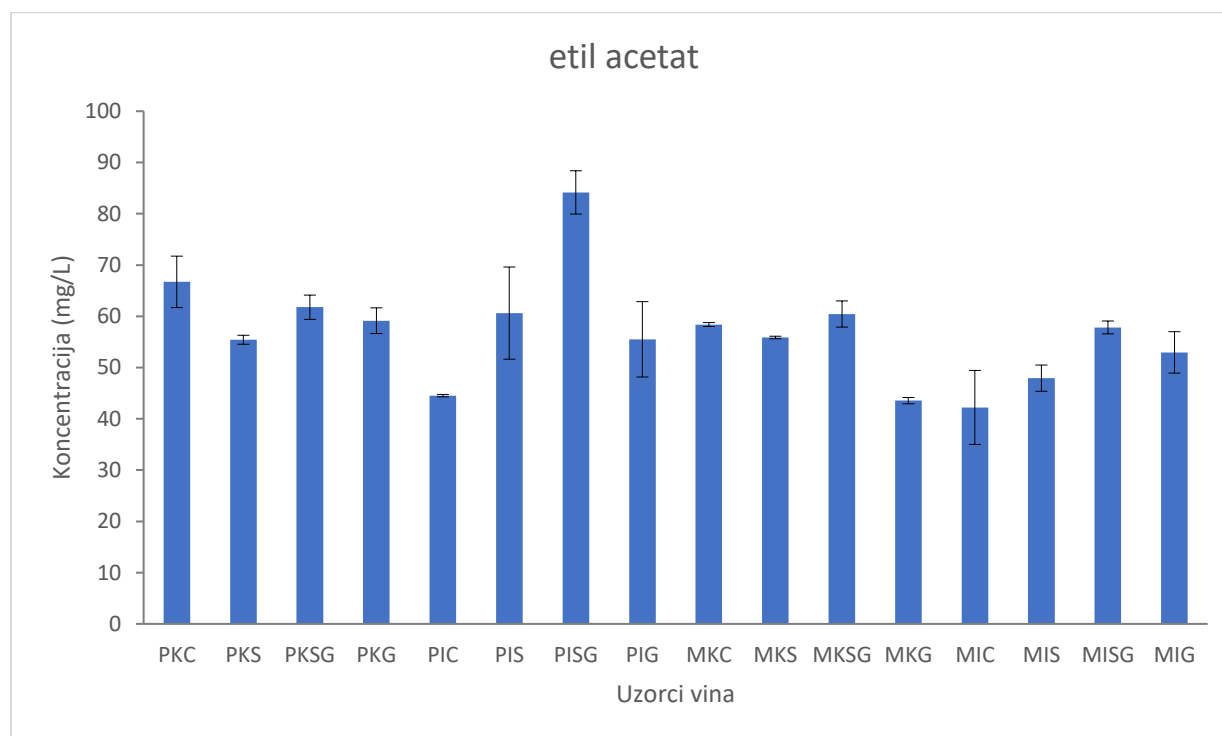
Slika 5. Koncentracija (mg/L) etil dekanooata u analiziranim uzorcima

Koncentracije dietil sukcinata prikazanog na slici 6, čija aroma se opisuje kao voćna, voštana, cvjetna te blago pljesniva (Burdock, 2010) variraju u analiziranim uzorcima. Najveća koncentracija, u vrijednosti 5,81 mg/L, utvrđena je u uzorku MKSG dok je najniža (1,51 mg/L) određena u uzorku MIC. Općenito, dietil sukcinat u značajnijim koncentracijama nastaje tijekom procesa starenja, kao produkt reakcija esterifikacije pri čemu se ističu kvasci kao ključan faktor za njegovo formiranje (Alves i sur., 2005). U ovom istraživanju, dva trenda se posebno ističu: kombinacija glutaciona i SO₂ te alkoholna fermentacija komercijalnim kvascima; koji su rezultirali višim koncentracijama ovog spoja, dok primjena predfermentativne maceracije nije rezultirala vidljivim razlikama u koncentraciji ovog spoja. Dobiveni rezultati u skladu su s prethodnim istraživanjem (Weber i sur., 2014) gdje je utvrđeno kako je dodatak glutaciona rezultirao višim koncentracijama ovog spoja. Nadalje, također je utvrđeno povećanje njegove koncentracije tijekom procesa starenja vina Pošip i Sauvignon blanc (Tomašević i sur., 2017; Makhotkina i Kilmartin, 2012).



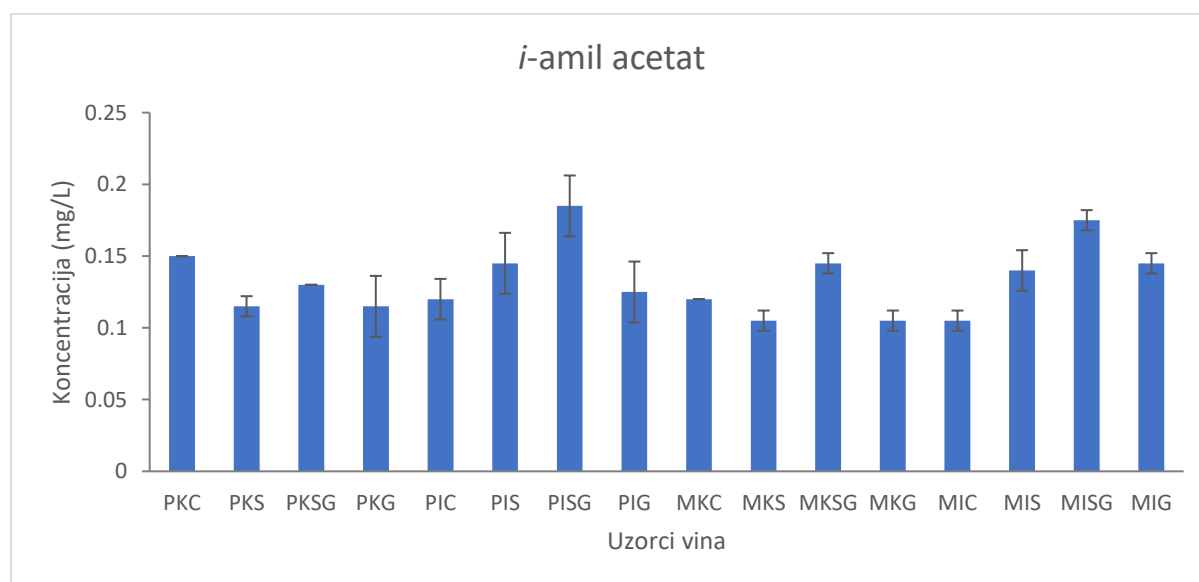
Slika 6. Koncentracija (mg/L) dietil sukcinata u analiziranim uzorcima

Na slici 7 prikazane su koncentracije etil acetata određene u analiziranim vinima. Općenito, aroma etil acetata se opisuje kao oštra, po laku za nokte i ljepilu uz senzorski prag osjetljivosti 160-180 mg/L (Ribéreau-Gayon i sur., 2006). Unatoč tome što ovaj spoj karakterizira vrlo visok senzorski prag osjetljivosti, uvijek je i prisutan u vrlo visokim koncentracijama, znatno višim od ostalih estera u vinu. Više koncentracije etil acetata često se povezuju sa kontaminacijom mošta ili vina bakterijama octene kiseline (Jackson, 2008). S obzirom da je u analiziranim uzorcima ovaj spoj kvantificiran u koncentracijama u rasponu od 42,23 mg/L (uzorak MIC) do 84,17 mg/L (uzorak PISG), jasno je kako ne utječe negativno, već doprinosi sveukupnoj kompleksnosti arome vina Pošip. Blago više koncentracije utvrđene su u direktno prešanim vinima, dok je i u ovom slučaju kombinacija glutaciona i SO₂ pri punjenju rezultirala višim koncentracijama etil acetata (osim u slučaju direktno prešanih vina fermentiranih komercijalnim kvascima - PK varijante). Dosadašnjim istraživanjem također je utvrđeno kako predfermentativna maceracija ne pridonosi višim koncentracijama etil acetata (Peinado i sur., 2004; Tomašević i sur. 2017; Radeka i sur., 2012).



Slika 7. Koncentracija (mg/L) etil acetata u analiziranim uzorcima

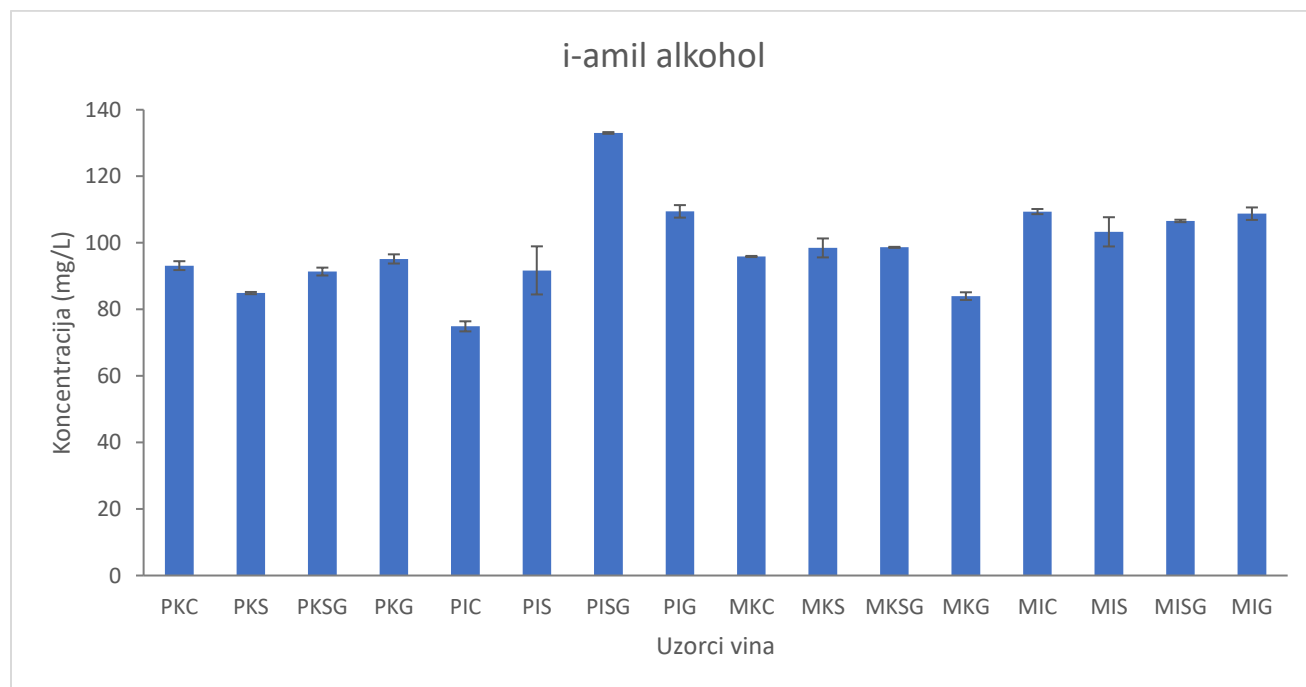
Zadnji predstavnik estera, kvantificiran u vinima Pošip, je *i*-amil acetat, a dobiveni rezultati su prikazani na slici 8. Pritom je određen u koncentracijama u rasponu od 0,11 mg/L do 0,19 mg/L. Kao i u većini dosadašnjih spojeva, više koncentracije ovog spoja utvrđene su uzorcima u koje su prilikom punjenja dodani glutation i SO₂. Osim navedenog, alkoholna fermentacija autohtonim kvascima rezultirala je blago višim koncentracijama *i*-amil acetata, premda su te razlike znatno manje u usporedbi s onima utvrđenim za dodatak antioksidansa. Postupak predfermentativne maceracije nije rezultirao vidljivim razlikama u koncentraciji ovog spoja. Dosadašnja istraživanja potvrđuju pozitivan utjecaj maceracije na koncentraciju *i*-amil acetata, pri čemu su značajno više koncentracije utvrđene u maceriranim vinima naspram onih proizvedenih direktnim prešanjem (Cejudo-Bastante i sur., 2011; Lukić i sur., 2015) stoga su dobiveni rezultati suprotni očekivanim. Potencijalno objašnjenje bi moglo biti da je u tim uzorcima tijekom starenja došlo i do značajnijeg smanjenja spojeva arome te su u konačnici koncentracije vrlo slične kao onima u direktno prešanim vinima. Općenito se smatra da je *i*-amil acetat jedini ester koji svojim karakteristikama može značajno utjecati na aromu vina, ponekad i u prevelikoj mjeri (Ferreira i sur., 2000). Senzorski prag osjetljivosti *i*-amil acetata je 0,26 mg/L, a nositelj je poželjnih nota po banani i kruški (Lambrechts i Pretorius, 2000). Obzirom na navedeno i koncentracije u analiziranim vinima, jasno je kako ovaj spoj nema bitan utjecaj na aromu vina Pošip nakon 60 mjeseci starenja.



Slika 8. Koncentracija (mg/L) *i*-amil acetata u analiziranim uzorcima

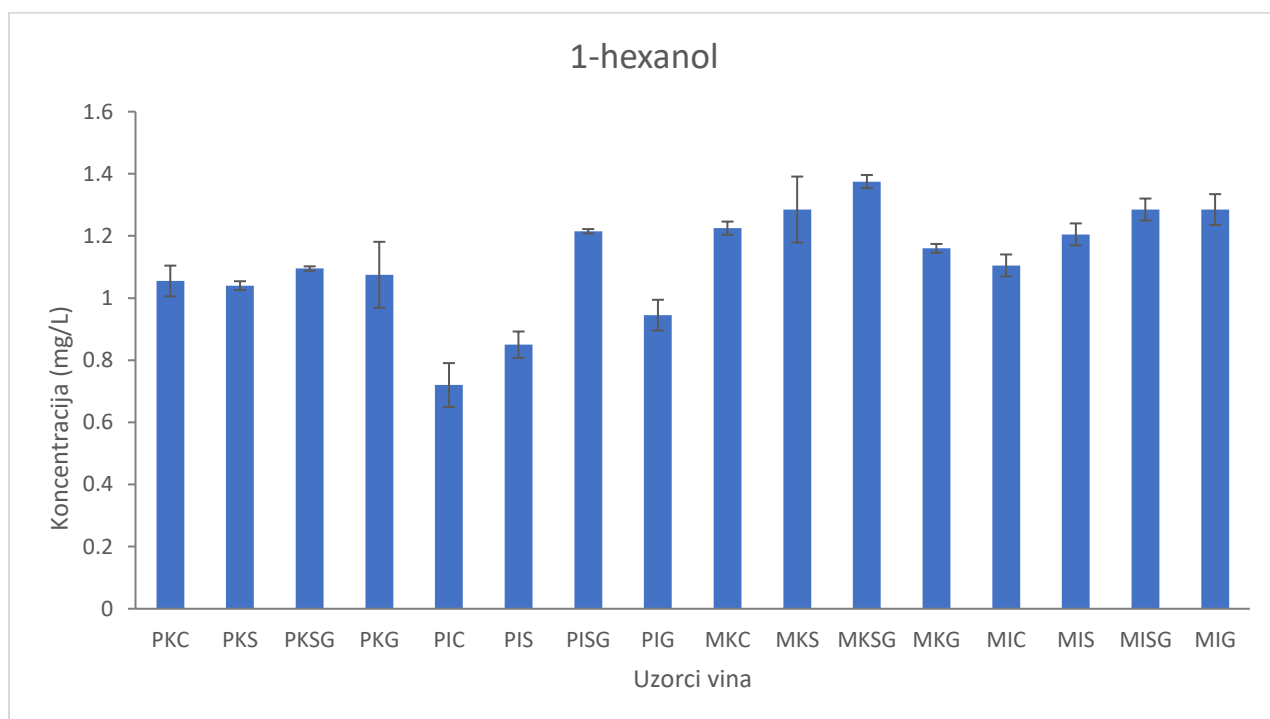
Osim estera, najznačajniji predstavnici fermentacijske arome su i viši alkoholi. Općenito, najznačajniji predstavnici ove skupine spojeva su amilni alkohol (2-metil-1-butanol), *i*-butanol (2-metil-1-propanol), *i*-amil alkohol (3-metil-1-butanol), 1-propanol (n-propanol), 2-feniletanol te 2-etil-1-heksanol (Jackson, 2008). U analiziranim uzorcima identificirani i kvantificirani su *i*-amil alkohol, 2-feniletanol, 1-heksanol i *cis*-3-heksen-1-ol.

Od navedenih spojeva, najzastupljeniji je *i*-amil alkohol (slika 12), te čini preko 50 % svih viših alkohola (Grba, 2010). Koncentracija *i*-amil alkohola u vinu u rasponu je od 110 do 234 mg/L (Radovanović, 1986), a u analiziranim uzorcima određen je u rasponu od 74,9 mg/L u uzorku PIC do 133,03 mg/L u uzorku MKSG. Općenito, aroma viših alkohola je uglavnom karakterizirana kao oštra, opora i kemijska. Međutim, pri koncentracijama do 300 mg/L doprinose kompleksnosti arome, dok koncentracije veće od 400 mg/L negativno utječu na aromu vina (Jackson, 2008). Postupak predfermentativne maceracije rezultirao je blago višim koncentracijama ovog spoja što je očekivano obzirom na već provedena slična istraživanja (Bavčar i sur., 2011a; Cejudo-Bastante i sur., 2011), kao i alkoholna fermentacija autohtonim kvascima (slika 12). Dodatak antioksidansa nije rezultirao ujednačenim rezultatima što je utvrđeno i dosadašnjim istraživanjem (Lambropoulos i Roussis, 2007).



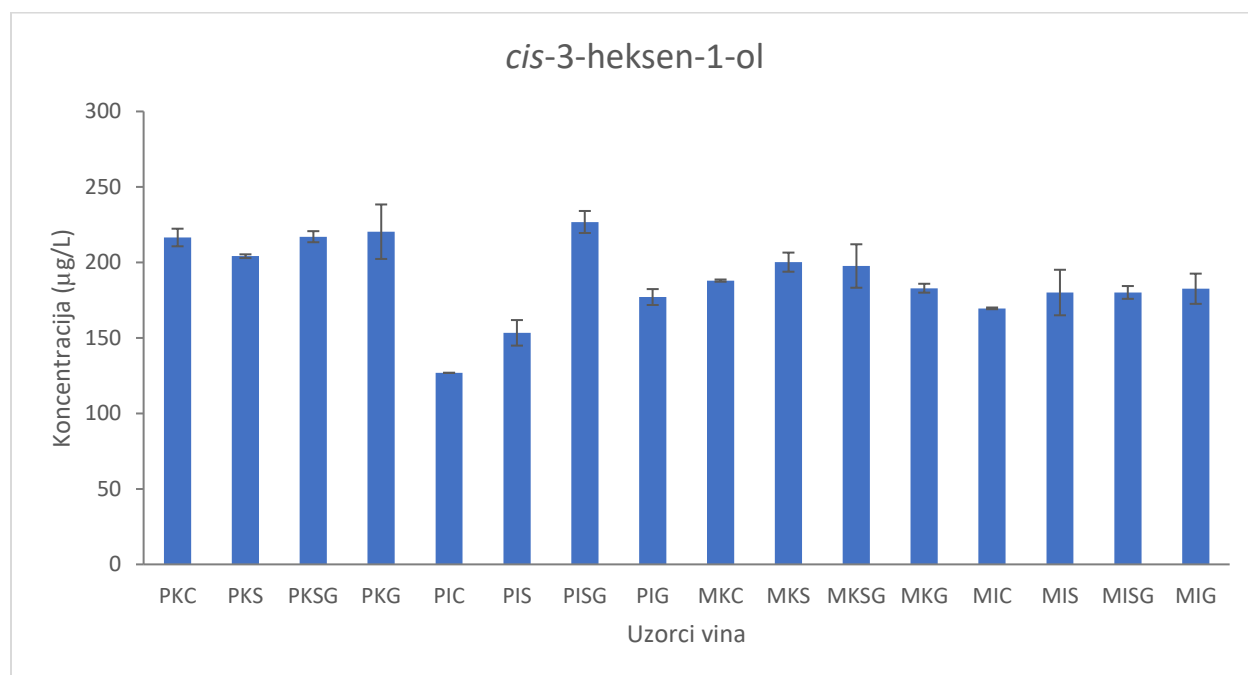
Slika 9. Koncentracija (mg/L) *i*-amil alkohola u analiziranim uzorcima

Koncentracija 1-heksanola (slika 13) u vinima se kreće od 0,3 do 12 mg/L, dok senzorski prag osjetljivosti 1-heksanola iznosi 1,1 mg/L (Peinado i sur., 2004). U analiziranim uzorcima koncentracija 1-heksanola u rasponu je od 0,72 (PIC) do 1,375 mg/L (MKSG). Nešto niža koncentraciju ovog spoja utvrđena je u uzorcima proizvedenim direktnim prešanjem, kod kojih se fermentacija odvijala djelovanjem autohtonih kvasaca (PI), izuzev uzorka u koji su dodani glutation i SO₂. Slijedeći primjer prošlog istraživanja (Tomašević i sur., 2017), možemo zaključiti da dodatak antioksidansa u ovom slučaju nije značajnije utjecao na koncentracije 1-heksanola u uzorcima vina Pošip. Prema Pedru Santosu i sur. (2010) 1-heksanol i *cis*-3-heksen-1-ol daju biljnu aromu vinima.



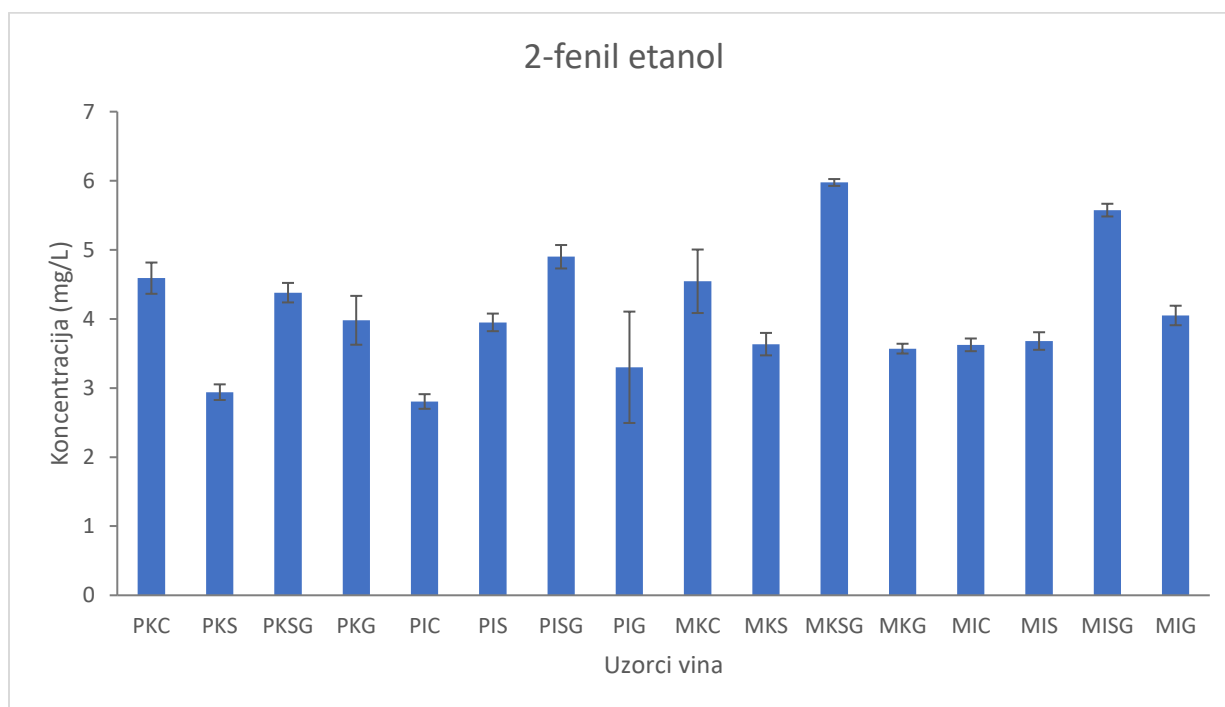
Slika 10. Koncentracija (mg/L) 1-heksanola u analiziranim uzorcima

Raspon koncentracije *cis*-3-heksen-1-ola (slika 14) u analiziranim uzorcima u rasponu je od 126,87 µg/L (PIC) do 226,79 µg/L (PISG), što je znatno ispod praga osjetljivosti, koji iznosi 400 µg/L (Escudero i sur., 2007). C6 alkoholi ujedno su i komponente primarne arome (ako vezani uz C6 aldehide, koji potječu direktno iz grožđa) te su najčešće voćnog i cvjetnog karaktera. Bez obzira na vrlo niske koncentracije navedenog spoja u uzorcima (znatno ispod praga osjetljivosti), blago povišene koncentracije *cis*-3-heksen-1-ola utvrđene su u uzorcima proizvedenim direktnim prešanjem u struji dušika uz alkoholnu fermentaciju komercijalnim kvascima (vina PK).



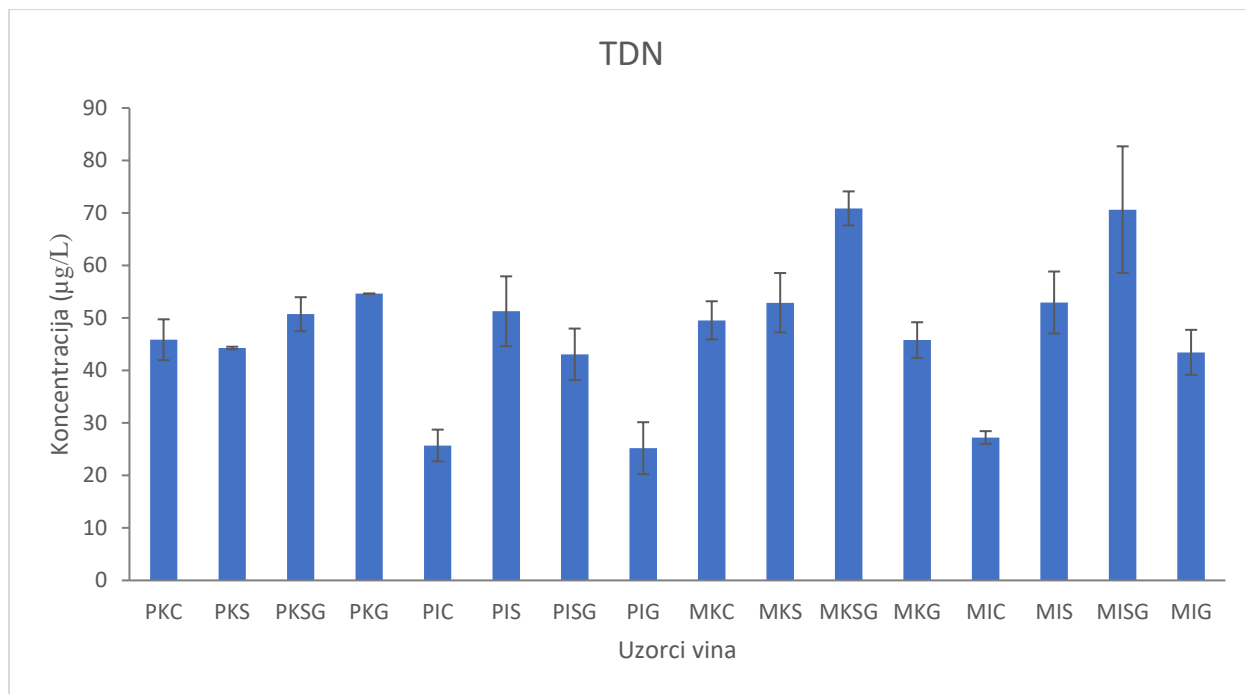
Slika 11. Koncentracija (µg/L) *cis*-3-heksen-1-ola u analiziranim uzorcima

2-feniletanol je nositelj mirisa po ruži (Lambrechts i Pretorius, 2000), a rezultati dobiveni analizom vina Pošip prikazani su na slici 15. Vidljivo je kako je najveća koncentracija utvrđena u uzorcima proizvedenim predfermentativnom maceracijom uz dodatak glutaciona te viši udio SO₂ (MISG i MKSG). Dobiveni rezultati u skladu su s prethodnim istraživanjima gdje je također utvrđeno kako postupak predfermentativne maceracije pozitivno utječe na koncentraciju ovog alkohola (Bavčar i sur., 2011b; Selli i sur., 2006). Koncentracija 2-feniletanola, u analiziranim uzorcima, je znatno ispod senzorskog praga osjetljivosti, koji iznosi 14 mg/L (Peinado i sur., 2004) što implicira da ovaj spoj nema značajan utjecaj na aromu vina Pošip nakon 60 mjeseci starenja u bocama.



Slika 12. Koncentracija (mg/L) 2-fenil etanola u analiziranim uzorcima

Spojevi vezani uz aromu starenja su uglavnom derivati vanilina te vitispirani, a pritom je jedan od značajnijih tzv. Rizlingov acetal, 1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftalen (TDN), čija se koncentracija značajno povećava tijekom starenja vina (Silva Ferreira i Guedes de Pinho, 2004). Poznato je da TDN doprinosi "benzinskim" aromama starih vina. Senzorski prag određen za detekciju mirisa TDN-a iznosi 2 µg/L (Sacks i sur., 2012). U ispitivanim uzorcima vina, koncentracije TDN-a znatno prelaze prag detekcije, a prikazane na slici 16. Najveća koncentracija utvrđena je u uzorcima proizvedenim predfermentativnom maceracijom uz kombinaciju glutationa i veću koncentraciju SO₂; MKSG (70,87 µg/L) i MISG (70,64 µg/L). Budući da je poznato kako je prekursor TDN-a vezana na šećere i prisutna u bobici grožđa, pozitivan utjecaj predfermentativne maceracije bi trebao biti očekivan, no s obzirom da TDN nastaje kao produkt oksidacijskih procesa, kod varijante punjenja uz dodatka kombinacije antioksidansa SG, trebao bi biti najmanji prirast navedenog spoja, suprotno dobivenim rezultatima (Winterhalter, 1991).



Slika 13. Koncentracija (µg/L) TDN-a u analiziranim uzorcima

5. ZAKLJUČAK

U vinima Pošip, nakon 60 mjeseci starenja u bocama, identificirano i kvantificirano je 12 spojeva arome, a pripadaju skupinama etilnih i acetatnih estera, viših alkohola te vitispirana.

Primijenjeni enološki postupci (predfermentativna maceracija, soja kvasca i dodatak antioksidansa) imali su različit utjecaj na koncentracije analiziranih spojeva:

- Predfermentativna maceracija rezultirala je blago višim koncentracijama γ -amil alkohola i TDN-a.
- Alkoholna fermentacija autohtonim kvascima rezultirala je blago višim koncentracijama etil heksanoata i γ -amil alkohola, dok je fermentacija komercijalnim kvascima rezultirala višim koncentracijama etil oktanoata, dietil sukcinata i C6 alkohola.
- Dodatak antioksidansa pri punjenju vina u boce imao je najveći utjecaj na koncentracije analiziranih spojeva. Pritom se kombinacija glutaciona i sumporovog dioksida ističe kao najbolja obzirom da su u tim vinima utvrđene najviše koncentracije većine analiziranih spojeva. Drugim riječima, navedena kombinacija imala je najbolji zaštitni efekt.
- Iako je utvrđen blagi utjecaj predfermentativne maceracije i soja kvasaca, te razlike su zanemarive naspram onih utvrđenih za dodatak antioksidansa.

6. LITERATURA

Álvarez-Pérez, J. M., Campo, E., San-Juan F., Coque, J. J. R., Ferreira, V., Hernández-Orte, P. (2012) Sensory and chemical characterisation of the aroma of Prieto Picudo rosé wines: The differential role of autochthonous yeast strains on aroma profiles. *Food Chemistry* **133**: 284 - 292.

Alves, R., Nascimento, A., Nogueira, J. (2005) Characterization of the aroma profile of Madeira wine by sorptive extraction techniques. *Analytica Chimica Acta* **546**: 11 - 21.

Bakker, J., Clarke, R. J. (2012) Wine flavour chemistry. 2. Izd. Blackwell Publishing, 132-179.

Bavčar, D., Baša Česnik, H., Čuš, F., Košmerl, T. (2011a) The influence of skin contact during alcoholic fermentation on the aroma composition of Ribolla Gialla and Malvasia Istriana *Vitis vinifera* (L.) grape wines. *International Journal of Food Science and Technology* **46**: 1801-1808.

Bavčar, D., Baša Česnik, H., Čuš, F., Vanzo, A., Gašperlin, L., Košmerl, T. (2011b) Impact of Alternative Skin Contact Procedures on the Aroma Composition of White Wine. *South African Journal for Enology and Viticulture* **32**: 190-203.

Burdock, G.A. (2010) Fenaroli`s handbook of flavor ingredients. 6. izd. New York. CRC Press, 419.

Cejudo-Bastante, M. J., Castro-Vázquez, L., Hermosín-Gutiérrez, I., Pérez-Coello, M. S. (2011) Combined effects of prefermentative skin maceration and oxygen addition of must on color-related phenolics, volatile composition, and sensory characteristics of Airén white wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **59**: 12171-12182.

Cheynier, V., Souquet, J. M., Moutounet, M. (1989) Glutathione content and glutathione to hydroxycinnamic acid ratio in *Vitis vinifera* grapes and must. *American Journal of Enology and Viticulture* **40**: 320–324.

Comuzzo, P. i Zironi, R. (2013). Biotechnological strategies for controlling wine oxidation. *Food Engineering Reviews* **5**: 217–229.

Daniel, M. A., Elsey, G. M., Capone, D. L., Perkins, M. V., Sefton, M. A. (2004) Fate of damascenone in wine: The role of SO₂. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**: 8127–8131.

Escudero, A., Asensio, E., Cacho, J., Ferreira, V. (2002) Sensory and chemical changes of young white wines stored under oxygen: An assessment of the role played by aldehydes and some other important odorants. *Food Chemistry* **77**: 325–331.

Escudero, A., Campo, E., Farina, L., Cacho, J., Ferreira, V. (2007) Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**: 4501-4510.

Ferreira, V., Lopez, R., Cacho, J. F. (2000) Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **80**: 1659–1667.

Gonzalez Viñas, M. A., Pérez-Coello, M. S., Salvador, M. D., Cabezudo, M. D., Martín Alvarez, P. J. (1996) Changes in the GC volatiles of young Airen wines during bottle storage. *Food Chemistry* **56**: 399–403.

Grba, S. (2010) Kvasci u biotehnološkoj proizvodnji, Plejada, Zagreb

Jackson, R.S. (2008) Wine Science: Principles and Applications, 3. Izd., Academic Press, California, 178-504.

Jakobović, S., Jakobović, M., Zima, D. (2008) Impact of grape pomace maceration on the quality of rhine riesling wine. *Agronomski Glasnik* **71**: 63 – 72.

Kritzinger, E. C., Bauer, F. F., du Toit, W. J. (2013) Role of glutathione in winemaking. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **61**: 269–277

Lambrechts, M. G., Pretorius, I. S. (2000) Yeast and its importance to wine aroma - a review. *South African Journal for Enology and Viticulture* **21**: 97–129

Lambropoulos, I., Roussis, I. G. (2007) Inhibition of the decrease of volatile esters and terpenes during storage of a white wine and a model wine medium by caffeic acid and gallic acid. *Food Research International* **40**: 176–181.

Lamikanra, O., Grimm, C. C., Inyang, I. D. (1996) Formation and occurrence of flavor components in Noble muscadine wine. *Food Chemistry* **56**: 373–376.

Li, H., Guo, A. i Wang, H. (2008). Mechanisms of oxidative browning of wine. *Food Chemistry* **108**: 1–13.

- Liu, N., Qin, Y., Song, Y.-Y., Tao, Y.-S., Sun, Y., Liu, Y.-L. (2016) Aroma Composition and Sensory Quality of Cabernet Sauvignon Wines Fermented by Indigenous *Saccharomyces cerevisiae* Strains in the Eastern Base of the Helan Mountain, China. *International Journal of Food Properties* **19**: 2417-2431.
- Lukić, I., Jedrejčić, N., Kovačević Ganić, K., Staver, M., Peršurić, Đ. (2015) Phenolic and Aroma Composition of White Wines Produced by Prolonged Maceration and Maturation in Wooden Barrels. *Food Technology and Biotechnology* **53**: 407-418.
- Macheix, J.J., Sapis, J.C., Fleuriet, A. (1991) Phenolic compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grapes and wines. *Food Science and Nutrition* **30**: 441–486.
- Maggu, M., Winz, R., Kilmartin, P.A., Trought, M.C.T., Nicolau, L. (2007) Effect of Skin Contact and Pressure on the Composition of *Sauvignon Blanc* Must. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**: 10281–10288.
- Makhotkina, O., Kilmartin, P. A. (2012) Hydrolysis and formation of volatile esters in New Zealand Sauvignon blanc wine. *Food Chemistry* **135**: 486-493.
- Marais, J., Houtman, A. C. (1979) Quantitative gas chromatographic determination of specific esters and higher alcohols in wine using freon extraction. *American Journal of Enology and Viticulture* **30**: 250-252.
- Marais, J., Pool, H. J. (1980) Effect of storage time and temperature on the volatile composition and quality of dry white table wines. *Vitis* **19**: 151–164.
- Murat, M.-L., Tominaga, T., Dubourdieu, D. (2001) Assessing the aromatic potential of Cabernet Sauvignon and Merlot musts used to produce rose wine by assaying the cysteinylated precursor of 3-mercaptohexan-1-ol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**: 5412-5417.
- Peinado, R. A., Moreno, J., Bueno, J. E., Moreno, J. A., Mauricio, J. C. (2004) Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to pre-fermentative cryomaceration. *Food Chemistry* **84**: 585-590.
- Polášková, P., Herszage, J., Ebeler, S. E. (2008) Wine flavor: chemistry in a glass. *Chemical Society Review* **37**: 2478-2489.

- Radeka, S., Lukić, I., Peršurić, Đ. (2012) Influence of Different Maceration Treatments on the Aroma Profile of Rosé and Red Wines from Croatian Aromatic cv. Muškat ruža porečki (*Vitis vinifera* L.). *Food Technology and Biotechnology* **50**: 442-453.
- Radovanović, V. (1986) Tehnologija vina, 2. izd., Iro, Beograd.
- Rankine, B.C., Pocock, K.F. (1969) Influence of yeast strain on binding of SO₂ in wines and its formation during fermentation. *Journal of Science Food and Agriculture* **20**: 104–109.
- Rapp, A. (1988) Wine aroma substances from gas chromatographic analysis. U: Wine Analysis Linskens H. F., Jackson J. F., ur., Springer-Verlag, Berlin, str. 29–66.
- Rapp, A., Marais, J. (1993) The shelf life of wine: Changes in aroma substances during storage and ageing of white wines. U: Shelf Life Studies of Foods and Beverages, Charakanbous G., ur, 891–921. Elsevier, Amsterdam.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdiou, D., Donèche, B., Lonvaud, A. (2006) Handbook of enology, the microbiology of wine and vinifications, John Wiley & Sons.
- Reynolds, A. G., Wardle, D. A., Dever, M. (1993) Terpene response to pressing, harvest date, and skin contact in *Vitis vinifera*. *Horticultural Science* **28**: 920-924.
- Rodriguez-Bencomo, J. J., Méndez-Siverio, J. J., Pérez-Trujillo, J. P., Cacho, J. (2008) Effect of skin contact on bound aroma and free volatiles of Listán blanco wine. *Food Chemistry* **110**: 214-225.
- Sacks, G. L., Gates, M.J., Ferry, F.X., Lavin, E.H., Kurtz, A.J., Acree, T.E. (2012) Sensory threshold of 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN) and concentrations in young Riesling and non-Riesling wines. *Journal of agricultural and food chemistry* **60**: 2998-3004.
- Sánchez Palomo, E., Pérez-Coello, M., Díaz-Maroto, M., Viñas, M. G., Cabezudo, M. (2006) Contribution of free and glycosidically-bound volatile compounds to the aroma of muscat "a petit grains" wines and effect of skin contact. *Food Chemistry* **95**: 279-289.
- Segurel, M. A., Razungles, A. J., Riou, C., Salles, M., Baumes, R. L. (2004) Contribution of dimethyl sulfide to the aroma of Syrah and Grenache noir wines and estimation of its potential in grapes of these varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**: 7084–7093.

- Selli, S., Cabaroglu, T., Canbas, A., Erten, H., Nurgel, C. (2003) Effect of skin contact on the aroma composition of the musts of *Vitis vinifera* L. cv. Muscat of Bornova and Narince grown in Turkey. *Food Chemistry* **81**: 341-347.
- Selli, S., Canbas, A., Cabaroglu, T., Erten, H., Günata, Z. (2006) Aroma components of cv. Muscat of Bornova wines and influence of skin contact treatment. *Food Chemistry* **94**: 319-326.
- Shinohara, T., Shimizu, J. (1981) Formation of ethyl esters of main organic acids during aging of wine and indications of aging. *Nippon Nôgeikagaku Kaishi* **55**: 679-687.
- Silva Ferreira, A. C., Guedes De Pinho, P. (2004) Nor-isoprenoids profile during port wine ageing— influence of some technological parameters. *Analítica Chimica Acta* **513**: 169-176.
- Silva Ferreira, A. C., Hogg, T., Guedes de Pinho, P. (2003) Identification of key odorants related to the typical aroma of oxidation-spoiled white wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**: 1377-2381.
- Spedding, D. J., Raut, P. (1982) The influence of dimethyl sulphide and carbon disulphide in the bouquet of wines. *Vitis* **21**: 240-246.
- Swiegers, J., Bartowsky, E., Henschke, P., Pretorius, I. (2005) Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **11**: 139-173.
- Tomašević, M., Gracin, L., Čurko, N., Kovačević Ganić, K. (2017) Impact of pre-fermentative maceration and yeast strain along with glutathione and SO₂ additions on the aroma of *Vitis vinifera* L. Pošip wine and its evaluation during bottle aging. *LWT - Food Science and Technology*, **81**: 67-76.
- Tominaga, T., Murat, M.-L., Dubourdieu, D. (1998) Development of a Method for Analyzing the Volatile Thiols Involved in the Characteristic Aroma of Wines Made from *Vitis vinifera* L. Cv. *Sauvignon Blanc*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46**: 1044-1048.
- Webber, V., Dutra, S. V., Spinelli, F. R., Carnieli, G. J., Cardozo, A., Vanderlinde, R. (2017). Effect of glutathione during bottle storage of sparkling wine. *Food Chemistry* **216**: 254-259.
- Webber, V., Dutra, S. V., Spinelli, F. R., Marcon, Â. R., Carnieli, G. J., Vanderlinde, R. (2014) Effect of glutathione addition in sparkling wine. *Food Chemistry* **159**: 391-398.

Winterhalter, P. (1991) 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN) formation in wine. 1. Studies on the hydrolysis of 2,6,10,10-tetramethyl-1-oxaspiro [4.5] dec-6-ene-2, 8diol rationalizing the origin of TDN and related C13 norisoprenoids in Riesling wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **39**: 1825-1829.

Izjava o izvornosti

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



Amanda Dorner