

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Nutricionizam

Marina Blažević
6858/N

Određivanje hlapivih komponenti
pjenušavih, predikatnih i fortificiranih vina
plinskom kromatografijom
ZAVRŠNI RAD

Modul: Proizvodnja predikatnih, specijalnih i pjenušavih vina

Mentor: dr.sc. Leo Gracin, doc.

Zagreb, 2016.

DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Nutricionizam
Zavod za prehrambeno tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju i analitiku vina

ODREĐIVANJE HLAPIVIH KOMPONENTI PJENUŠAVIH, PREDIKATNIH I FORTIFICIRANIH VINA PLINSKOM KROMATOGRAFIJOM

Marina Blažević, 6858/N

Sažetak: Vina su bogata hlapivim komponentama koje su zaslužne za njihovu karakterističnu aromu i okus. Različite komponente različito utječu na arome vina te se u ovom radu provode analize visokohlapivih alkohola i estera u specijalnim, predikatnim i pjenušavim vinima. Analizirano je 16 različitih uzoraka vina koja uključuju porto i sherry slatka vina, predikatna vina, te različite vrste pjenušaca. Glavna metoda rada je plinska kromatografija s plamenoionizirajućem detektorom i s „Headspace“ automatskim uzorkivačem (HSS) koja nam daje profil hlapivih komponenti analiziranih vina. Provodi se i analiza FTIR spektroskopom koja daje klasične parametre vina i acetate. Rezultati dobiveni ovim analizama pokazuju da analizirana vina imaju veće količine diacetil sukcinata koji je indikator starenja te sukladno tome niske razine izoamil acetata koji se pojavljuje u mladim vina. Pronađene su i niske koncentracije voćnih estera koji nestaju starenjem vina. U porto i sherry vinima pronađene su karakteristične visoke koncentracije acetaldehida što doprinosi kompleksnosti njihove arome. U određenim šampanjcima i klasičnim vinima utvrđeno je provođenje malolaktične fermentacije.

Ključne riječi: hlapivi spojevi, aroma vina, plinska kromatografija

Rad sadrži: 32 stranica, 2 slika, 2 tablica, 17 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: dr. sc. Leo Gracin, doc.

Rad predan: rujan, 2016.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Undergraduate studies Nutrition
Department of Food Engineering
Laboratory for Technology and Analysis of Wine

DETERMINATION OF VOLATILE COMPOUNDS IN SPARKLING, ICE AND FORTIFIED WINES USING GAS CHROMATOGRAPHY

Marina Blažević, 6858/N

Abstract: Wines are rich in volatile compounds that are responsible for their characteristic aroma and flavor. Various components have different impacts on the flavour of wine. This work conducted analyzes of higher alcohols and esters in in special, predicate and sparkling wines. A total of 16 different wine samples that include port and sherry sweet wines, predicate wines and different types of sparkling wines is analysed. The main method of work is gas chromatography with Flame-Ionization Detector and the "Headspace" automatic sampler (HSS), which gives us a profile of the volatile components of the analyzed wine. Another conducted analysis is FTIR spectroscopy, which gives the classical parameters of wine and acetates. The results obtained from these analyses show that analyzed wines have higher amounts of diacetyl succinate which is an indicator of aging and consequently low levels of iso-amyl acetate, which occurs in young wines. In analysed samples there are found low concentration of fruit esters which dissapear with wine-aging. In the port and sherry wines were found characteristic high concentrations of acetaldehyde, which contributes to the complexity of their flavor. In certain champagnes and classic wines has been established the implementation of malolactic fermentation.

Keywords: (volatile compounds, wine aroma, gas chromatography)

Thesis contains: 32 pages, 2 figures, 2 tables, 17 references

Original in: Croatian

Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kaciceva 23, Zagreb

Mentor: dr.dc.Leo Gracin, doc.

Thesis delivered: september, 2016.

Sadržaj:

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1 Aroma	2
2.1.1 Hlapivi sastojci vina	3
2.2 Predikatna, specijalna i pjenušava vina	5
2.2.1 Fortificirana vina	5
2.2.2 Predikatna vina	6
2.2.3 Pjenušava vina.....	7
2.2.4 Appassimento metoda pripreve.....	9
2.3 Plinska kromatografija.....	10
2.3.1 Princip plinske kromatografije	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO	13
3.1 Materijali	13
3.1.1 Uzorci	13
3.1.2 Kemikalije i instrumenti.....	14
3.2 Postupak provođenja ispitivanja	14
3.2.1. Određivanje hlapivih sastojaka vina plinskom kromatografijom sa plameno- ionizacijskim detektorom uz „Headspace“ automatski uzorkivač	14
3.2.2. Određivanje sastava vina FTIR spektroskopom.....	16
4. REZULTATI I RASPRAVA	17
4.1. Rezultati	17
4.1.1 Rezultati dobiveni plinskom kromatografijom.....	17
4.1.2 Rezultati dobiveni FTIR spektroskopijom	20
4.2 Rasprava	24
5. ZAKLJUČAK	30
6. LITERATURA	31

1. UVOD

Hlapive komponente i ukupan kemijski sastav vina određuju kvalitetu vina i njegova organoleptička svojstva koja uključuju okus, miris i boju vina na temelju kojih se ostvaruju preferencije potrošača. Svako vino sadrži karakteristične spojeve prema kojima ih, uz ostale čimbenike, možemo klasificirati u različite skupine tj. stilove.

Raznolikost vina i njegovih karakteristika, arome i okusi koje ostvaruju uvjetovani su različitim čimbenicima počevši od raznih faktora vezanih za polaznu sirovinu (grožđe) preko uvjeta uzgoja i obrade grožđa (fermentacija, soj kvasca) do starenja i skladištenja konačnog produkta (vina) (Soares i sur., 2015).

Broj poznatih i istraženih hlapivih spojeva vina prelazi brojku 800 te i dalje raste jer su zadnjih nekoliko desetaka godina pokrenuta i provedena brojna istraživanja na temu karakterizacije kemijskog sastava hlapivih komponenti vina. Sve hlapive komponente ne utječu jednako na aromu vina, odnosno svaka komponenta ima individualan utjecaj na ukupnu aromu vina.

Svrha ovog rada je istražiti i okarakterizirati hlapive komponente desertnih i pjenušavih vina s naglaskom na lakohlapive estere i više alkohole te objasniti utjecaj različitih čimbenika na njihov sastav.

2. TEORIJSKI DIO

2.1 Aroma

Vrlo važna komponenta organoleptičke kvalitete vina je aroma vina. Ukupni sadržaj aromatskih komponenti iznosi 0.8 -1.2 g/L od ukupnih kemijskih spojeva koje većinom nastaju fermentacijom mošta. Polovinu te koncentracije čine spojevi poput octene kiseline, acetaldehida, propanola, etil-acetata, izobutanola, 2- i 3-metilbutanola čije su koncentracije nešto veće, dok drugu polovinu zauzima 600-800 različitih hlapivih komponenti niske koncentracije kao što su esteri, alkoholi, laktoni, terpeni i drugi - čija je izolacija teža upravo zbog njihove niske koncentracije u vinima. Kvaliteta i kvantiteta aromatskih spojeva nastalih fermentacijom mošta ovisit će o okolišnim uvjetima, postupku vinifikacije i aktivnosti kvasca. Zato je vrlo važno izabrati soj kvasca koji će stvarati najpoželjnije arome i okuse. *Sacharomyces cerevisiae* najčešće je korišten. (Regodon Mateos i sur., 2006). Fermentacijom mošta, uz pomoć kvasca, osim etanola, kao glavnog produkta fermentacije, nastaju i brojni drugi spojevi koji su bitni za senzorska svojstva vina, a to su ponajprije esteri i viši alkoholi. Oni igraju važnu ulogu u okusu vina koji varira ovisno o vrsti prisutnih spojeva i njihovim koncentracijama (Valero i sur., 2002). U profilu hlapivih spojeva vina dominiraju komponente nastale fermentacijom jer su te komponente prisutne u najvećim koncentracijama. Tijekom alkoholne fermentacije soka od grožđa nastaju brojni mirisni esteri od kojih se u najvećoj koncentraciji javljaju acetatni esteri te imaju važnu ulogu u ukupnoj aromi vina (Plata i sur., 2003).

Osnovni okus vina ovisi o više spojeva. Sorte grožđa definiraju značajnu razliku u sastavu aroma vina tih sorti, a njihov se sastav razlikuje u većem broju spojeva arome (Jakson i sur., 2002).

Podjela tvari arome

1. Primarna je aroma aroma polazne sirovine grožđa i potječe od tvari aroma iz neoštećenih stanica grožđa

2. Sekundarna aroma potječe od primarne obrade grožđa (ruljanje, muljanje), toplinskih reakcija u vinu i moštu, te enzimatskih i kemijskih reakcija
3. Tercijarna aroma potječe od tvari arome dobivenih fermentacijom alkohola ili jabučno-mliječnom fermentacijom – aroma fermentacije u kojoj nastaju najveće koncentracije hlapivih komponenti odgovornih za aromu vina
4. Kvarterna aroma potječe od tvari arome dobivenih starenjem vina (bouquet) (Rapp, 1990).

2.1.1 Hlapivi sastojci vina

Acetaldehid

Acetaldehid najzastupljeniji je aldehid u vinu čija je koncentracija najčešće 10-75 mg/L. Prekursor je acetata i etanola te je vrlo reaktivan - oksidativnog je karaktera te ulazi u reakcije s polifenolima i drugim spojevima te se kao takav većinom smatra nepoželjnim u većim koncentracijama osim u iznimkama sherry i porto vina. Kod vina u kojima su veće koncentracije nepoželjne fermentacija mošta vrši se sa sortom kvasca koja producira nisku koncentraciju acetaldehida. Osim toga, njegova koncentracija ovisi i o tehnološkim faktorima (pH, temperatura fermentacije, sastav mošta, aeracija, koncentracija SO₂) (Regodon Mateos i sur., 2006).

Acetaldehid može nastati i samooksidacijom o-difenola i etanola te ima funkciju u stabilizaciji boje crnog vina. Može reagirati i sa sumporovim dioksidom i sudjelovati u polimerizaciji antocijana te potencijalno može uzrokovati privremeni ustajali miris u novim bocama vina. Kod Fino sherry vina se smatra da većina aldehida potječe iz dišnog metabolizma kvasaca (Jackson, 2002).

Diacetil

Najvažnija ketonska komponenta u stvaranju arome vina. Pri niskim koncentracijama od 5 mg/L i manje može davati aromu maslaca, oraha ili tosta. Međutim, nešto iznad njegovog seznorskog praga diacetil može dati miris karamela što ovisi o njegovoj stabilnosti tokom starenja vina, prisutnosti sumporovog dioksida i drugih komponenta vina. Pri koncentracijama značajno iznad graničnih vrijednosti može stvarati i mliječni miomiris što je povezano sa

kvarenjem inducirano nekim sojevima bakterija mliječne kiseline. U prilično visokim koncentracijama diacetil se pojavljuje i u sherry vinima (Jackson, 2002).

Esteri

Od svih kemijskih spojeva u vinu esteri su najčešći te je poznato preko 160 različitih estera pronađenih u sastavu vina od kojih većinu proizvode kvasci. Od češćih i značajnijih za ukupnu aromu vina izdvajaju se acetatni i etil esteri. Voćni aspekti nekih od ovih estera su bitni u stvaranju bouqueta mladih vina. Ovisno o kemijskoj strukturi estera (nastaju esterifikacijom dvaju spojeva; jednog s alkoholnom i drugog s karboksilnom skupinom) određeni esteri mogu davati vinski miris ili voćnu aromu. Kod etil estera rast dužine lanca utječe na aromu koju daje vinu; kraći lanci imaju ugodnu voćnu aromu, nešto duži lanci daju miris po sapunu, a dugački lanci koji u svojoj strukturi sadrže 16 ili 18 ugljikova atoma daju aromu svinjske masti. S druge strane, prisutnost heksil-acetata i etil-oktanoata mogu se smatrati indikatorima kvalitete crnog vina (Jackson, 2002).

Etil acetat

Najistraženiji je ester dobiven esterifikacijom octene kiseline i etanola. Prosječna koncentracija etil acetata je 70 mg/L te u takvim i nižim koncentracijama može biti poželjan i pridonositi kompleksnosti arome vina, a u koncentracijama višim od 150-200 mg/L smatra se nepoželjnim (Regodon Mateos i sur., 2006). U višim koncentracijama najčešće uzrokuje nepoželjan miris na odstranjivač laka za nokte. Razvoj nepoželjne koncentracije etil acetata može biti kontaminacija grožđa, mošta ili vina bakterijama octene kiseline (Jackson, 2002).

Viši alkoholi

U više alkohole ubrajamo alkohole sa 2 ili više ugljikova atoma koji imaju veću molekulska masu i vrelište od etanola, a najčešći u vinima su: amilni alkoholi (mješavina 2-metilbutanola i 3-metilbutanola), izobutanol (2-metil-1-propanol), *n*-propanol, heksanol i 2-feniletanol. Većina viših alkohola koji se nalaze u vinu su nusproizvodi fermentacije kvasca. Heksanol se javlja u nešto značajnijim koncentracijama i može davati zeljasti miris vina (Jackson, 2002). Nastaju transaminacijom ili deaminacijom iz aminokiselina (ako su dostupne) te daljnjom dekarboksilacijom nastaju aldehidi čijom redukcijom nastanju alkoholi. Ukoliko nema aminokiselina kao prekursora, viši alkoholi nastaju iz ketonskih kiselina. Bitan je izbor soja, roda i vrste kvasca koji utječu na reakcije nastajanja viših alkohola (primjerice, *S. cerevisiae*

stvvara velike količine AK kao prekursora nastanka viših alkohola). U koncentracijama ispod 350 mg/L mogu biti poželjni, dok su veće koncentracije nepoželjne (Regodon Mateos i sur., 2006).

Većina ravnolančanih viših alkohola (u koje ubrajamo propanol, 2-metilpropanol, 2-metilbutanol, 3-metilbutanol) vinu daju snažan alkoholni miris. Pri niskim koncentracijama sudjeluju u kompleksnosti ukupne arome vina, dok su u većim koncentracijama znatno izraženiji i prevladavaju u aromi vina (nepoželjno u vinima) te, primjerice, u destiliranih pića (rakija, viski) daju karakterističnu aromu tim pićima. Iznimno, u porto slatkim vinima ta je karakteristična aroma viših alkohola poželjna i očekivana (Jackson, 2002).

Viši alkoholi imaju i indirektnu ulogu u razvoju arome starosti vina jer sudjeluju u reakcijama s organskim kiselinama i povećavaju broj nastalih estera u vinima (Jackson, 2002).

2.2 Predikatna, specijalna i pjenušava vina

2.2.1 Fortificirana vina

Sherry

Sherry vino desertno je vino proizvedeno u pokrajini Jerez u južnoj Španjolskoj u čijoj se proizvodnji koriste tri sorte grožđa: Palomino Fino, Pedro Ximenez i Moscatel. Palomino fino najčešće je u suhoj proizvodnji sherry, dok se ostala dva koriste u proizvodnji slatkih vina. Kod sorte Palomino Fino s obzirom na način tri različita procesa sazrijevanja razlikujemo Fino, Amontillado i Oloroso. Fino je karakterizirano dinamičkim biološkim starenjem vina uz dodavanje sloja kvasca koji se razvija na površini vina i tako ga štiti od oksidacije što rezultira blijedo žutim produktom sa oštrim i delikatnim okusom. Sadrži 15,5% etanola. Oloroso je tamne smeđe boje, punog ukusa i jačeg mirisa i sadrži 17% etanola što onemogućava rasta kvasaca za razliku od prethodnog vina, te time omogućuje direktan kontakt između vina i okolnog zraka. Amontillado je kompleksnog okusa i boje nešto između Olorosa i Fina, te stari biološki i oksidacijom. Ono je najcjenjenije vino iz grupe Palomino Fino.

Posebnost sherry vina je dinamično starenje – vino je pohranjeno u drvenim hrastovim bačvama podijeljeno u nekoliko razina. Najniža razina sadrži najstarije vino, a najviša najmlađe. Ova tehnika zove se „Criaderas i Solera“ i uključuje mnoge pretoke vina različitih godišta (uz njihovo miješanje) što omogućuje proizvodnju dosljedne i ujednačene arome sherrya (Marcq and Schieberle, 2015).

Porto

Porto je desertno vino koje se proizvodi u portugalskom gradu Porto, po kojem je dobilo ime, u dolini rijeke Douro se nalaze vinogradi. Ono je jače alkoholno piće čiji udio etanola može biti 18-22%. Proizvodi se specifičnim postupkom u kojemu se fermentacija prekida u trenutku kada masulj sadrži manje od 10% etanola te mu se dodaje destilat vina (vinjak) koji sadrži oko 70% etanola. Tim dodatkom povećava se udio etanola što onemogućava rast i funkciju kvasaca u takvom vinu (za inaktivaciju kvasaca udio etanola mora biti iznad 16%). Zbog zaustavljanja fermentacije, velik dio šećera neće fermentirati te u vinu ostaje značajan udio šećera. Vino je pretežito crne boje, no može se proizvesti i bijeli porto. Razlikujemo arhivski (vintage) porto koji sazrijeva u bocama dvije godine nakon berbe i vrlo se malo proizvodi (2% od ukupno proizvedenih porto vina), dok postoji i vrsta porta koja sazrijeva u drvenim bačvama do nekoliko godina prije flaširanja (drveni porto) te se većinska proizvodnja porta odvija upravo tim putem i tu ubrajamo sva porto vina koja ne spadaju u skupinu vintage porta (npr. Bijeli porto, Rubinski porto, Zlatni porto).

Većinom se u proizvodnji porta kombinira više vina proizvedenih na različitim vinogradima i to po principu kombiniranja vina dodavanjem jednoga kao osnovu, jednoga za bouquet, jednoga za stil itd. te je u cilju napraviti dobro vino kao sinergističku cjelinu koja je bolja nego njegove komponente pojedinačno.

2.2.2 Predikatna vina

Predikatna vina su najčešće slatka vina i ona su slađa što duže grožđe ostaje na trsu. Dobivena su od sasvim zrelog, manjim ili većim dijelom prosušenog grožđa, branog nakon uobičajenog roka berbe. Moraju biti proizvedena samo od preporučenih sorti grožđa za

pojedino vinogorje, moraju izgledom, mirisom i okusom biti tipična, a moraju udovoljiti i drugim odredbama važećih zakona. Vrlo su cijenjena, smatraju se među najkvalitetnijima i odgovaraju oznaci visokokvalitetnih vina jer se proizvode u izuzetnim godinama i u posebnim uvjetima dozrijevanja, načina berbe i prerade, te daju posebnu kakvoću. Možemo ih razlikovati na temelju uvjeta berbe i prema tome ih svrstati u predikatna vina: kasne berbe, izborne berbe, izborne berbe bobica, izborne berbe prosušenih bobica i berbe grožđa nakon što je temperatura u prethodnih nekoliko dana bila manja od -7°C (ledeno vino).

2.2.3 Pjenušava vina

Pjenušava vina su specijalna vina sa određenom količinom ugljikovog dioksida koje pri otvaranju boce stvara pjenu. Ugljični dioksid može nastati alkoholnom fermentacijom te takva vina svrstavamo u prirodna vina, ili se dodaje iz čeličnih boca pa takva vina svrstavamo u gazirana. Prirodna pjenušava vina imaju karakterističan rezak i osvježavajući okus, dok je kod gaziranih vina okus oštar i pali grlo. Često se pojam pjenušca miješa sa šampanjcem; svaki je šampanjac pjenušavo vino (dobiveno iz pokrajine Champagne u Francuskoj po kojemu je dobio ime), ali pjenušava vina osim šampanjaca uključuju i mnoge druge. Osnovna karakteristika proizvodnje pjenušavih vina sastoji se u tome što se gotovom vinu dodaje određena količina šećera i vinski kvasac, pa se izaziva naknadno vrenje u cilju stvaranja, ugljičnog dioksida koji ostaje u vinu (Anonymous, 2014).

Šampanjac

Pokrajina Champagne u Francuskoj odlikuje se umjerenom kontinentalnom klimom i suhim rastresitim tлом gdje se proizvodi grožđe odlične kvalitete. Za proizvodnju šampanjca koristi se više sorti grožđa – crni pinot se najčešće koristi u kombinaciji sa pinot meunier, chardonnay i drugima. Vodi se računa da mošt sadrži 18-20% šećera kako bi se dobilo vino udjela 11-12% etanola i oko 8 g/L kiseline jer šampanjac mora biti umjerene jačine i s nešto više kiseline. Prva frakcija mošta najbolje je kvalitete te se samo ona koristi za proizvodnju šampanjca dok se ostale frakcije koriste za proizvodnju običnog vina. Mošt vrije pri temperaturi oko 18°C . Zbog snižene temperature vrenja dolazi do boljeg profila vina s obzirom na alkohol, hlapive kiseline i ostale arome. Karakteristično za šampanjac je

provođenje naknadnog vrenja radi postizanja određene količine ugljičnog dioksida (vino treba imati toliko ugljičnog dioksida da tlak u bocama bude 5 - 5,5 bara jer veći tlak dovodi do pucanja boca, a niži do lošije kvalitete šampanjca) te se u tom cilju osnovnom vinu dodaje odgovarajuća količina šećera i selekcioniranog vinskog kvasca. Dakle, s obzirom na sposobnost stvaranja ugljičnog dioksida u vinu i željeni pritisak koji se želi postići u boci, izračunava se i određuje potrebna količina šećera, te se bira kvasac koji mora imati određene poželjne karakteristike. Naknadna fermentacija može trajati 5-6 mjeseci i obavlja se u tunelima stabilne niske temperature tokom cijele godine (12°C) što je osnovni uvjet dobivanja kvalitetnog šampanjca jer se na taj način stvoreni ugljični dioksid više rastvara i bolje vezuje. Boce se postavljaju u horizontalan položaj, tako da mjehurići u boci dođu na sredinu boce, čime se sprječava njihov izlazak pokraj čepa. Boca se za vrijeme trajanja vrenja 2-3 puta protrese da ne bi došlo do prijevremenog zaustavljanja vrenja dok ima još neprevrelog šećera. Nakon završetka vina boce se hladi radi bržeg taloženja i bistrenja vina (Anonymous, 2014).

Možemo ih klasificirati prema udjelu šećera u vinima na:

Ekstra brut – sadrži manje od 6 g/L neprevrelih šećera ili, u nekim slučajevima, kvasci fermentiraju sve šećere pa ih vino uopće ne sadrži.

Brut – sadrži manje od 12 g/L neprevrelih šećera. Najpopularnije kod pjenušavih vina jer daju suh okus sa naznakama slatkoće. Fermentacija se prekida u trenutku kada ostaje sitna količina šećera u vinu.

Ekstra dry (suho) – sadrži 12-17 g/L neprevrelih šećera.

Sec - sadrži između 17 i 32 g/L neprevrelih šećera.

Demi sec – sadrži 32-50 g/L neprevrelih šećera koje daje slatko pjenušavo vino.

Doux - sadrži 50 ili više grama neprevrelih šećera koje daju izrazitu slatkoću vinu.

Prosecco

Prosecco je talijanski pjenušac proizveden u sjevernoj Italiji na terasastim brežuljcima između Conegliano i Valdobbiadene regije sjeverno od Venecije. Ime je dobio po sorti grožđa od koje se proizvodi. Ova vrsta pjenušavih vina proizvodi se *charmat* metodom koja se razlikuje od tradicionalne metode po tome što se sekundarna fermentacija provodi u čeličnim tankovima

pod pritiskom, a ne u bocama kao kod šampanjca. Za razliku od mineralnih i oksidativnih aroma koje srećemo u šampanjcu, u proizvodnji Prosecca primarni je cilj sačuvati njegove voćne arome i sortne karakteristike. Okarakteriziran je aromama citrusa, zelene jabuke, breskve, kajsije i drugih s notama aroma cvijeća koje mu daje posebnu nježnost. Može biti blago ili normalno gaziran, ovisno o pritisku u boci koji kod normalno gaziranog vina može biti do 3,5 bara, a kod blago gaziranih vina 1-2,5 bara. Ovisno o stilu Prosecca njegov udio šećera varira i može biti od 15 g/L do visokih 35g/L šećera. Da bi se iskusio vrhunac svježine ovog vina najbolje ga je piti tri godine nakon berbe, iako najkvalitetnija vina ove vrste postižu se sa sedam godina starosti.

Cava

Cava je specijalno španjolsko bijelo ili roze pjenušavo vino koje se najviše proizvodi u Kataloniji. U njegovoj proizvodnji koristi se više vinskih sorti: Macabeo, Parellada, Xarello i Chardonnay su najčešća. Proizvodi se *charmat* metodom kao i pjenušac Prosecco, odnosno provodi se sekundarna fermentacija u čeličnim tankovima pod pritiskom zajedno sa kvascima i šećerima. Kada se šećer uz pomoć kvasaca konvertira u alkohol i ugljični dioksid, kvasci se filtriraju i uklanjaju, a vino flašira.

2.2.4. Appassimento metoda priprave

Campofiorini vino međunarodno je poznato kao preteča novih venecijanskih vina proizvedenih sa *Appassimento* metodom priprave, a ista metoda koristi se i u proizvodnji Amaronea. Grožđe se pusti da dozrijeva što duže u vinogradima kako bi što bolje razvilo prirodne karakteristike te se stavlja na plastične sanduke i slaže u specijalizirane sobe gdje se suše, što može trajati nekoliko dana ili nekoliko mjeseci ovisno o razini dozrijevanja tokom uzgoja. Nastoji se simulirati prirodno okruženje s puno okolnog zraka i različitim sobnim temperaturama. Kontrolira se razina vlage koja se održava između 60 i 70% što sprječava rast plijesni. U tom trenutku obrade, grožđe postaje bogatije i obilnije fenolima te se mijenja ukupna aroma vina. Kako voda isparava, postaju i slađi zbog povećanog udjela šećera. Daljnjim metaboliziranjem kiselina iz grožđa dobiva se skladno vino. Ovaj proces smanjuje ukupno iskorištenje zbog gubitka vlage tijekom *Appassimento* proces proizvodnje, ali pomaže

u održavanju dosljednosti vina iz godine u godinu s izraženijom aromom. Dobivena su vina kvalitetnija, vino ima veći sadržaj alkohola, jače izraženu boju vina, više ekstrakata, pročišćenih tanina i novih aroma, no sama količina vina koja se dobije je manja nego kada bi proizvodnja išla tradicionalnim metodama. Campofiorini dobiva se iz više vinskih sorti: 70% Corvina, 25% Rondinella i 5% Molinara, te ima atraktivnu aromu višnje maraske i daje ugodan miris klinčića i vanilije. Amarone vino (Amarone della Valpolicella) također se dobiva iz više vinskih sorti: Corvina (60-80%), Rondinella (20-30%) i Molinara (5-10%) (Anonymous, 2016).

2.3 Plinska kromatografija

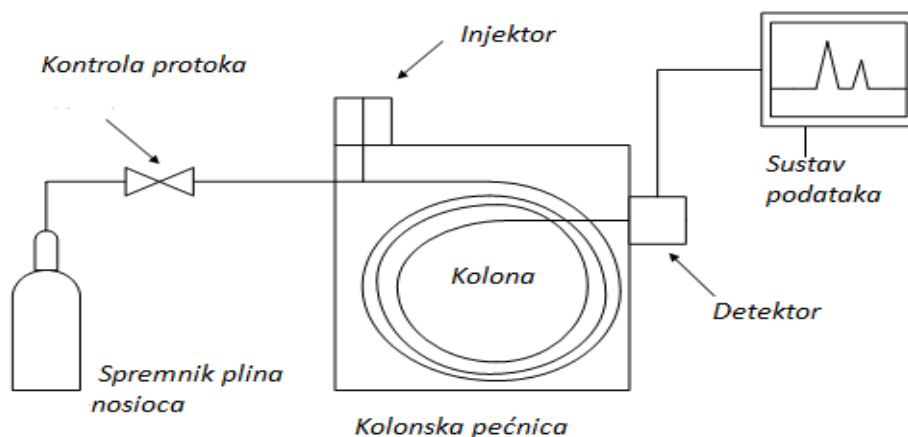
Plinska kromatografija nastaje na prijedlog A.J.P. Martin i R.L.M. Synge. 1941. godine kada su u svome radu o tekućinskoj kromatografiji predložili zamjenu tekuće mobilne faze plinskom uz argument da bi se u plinu bolje raspršivale čestice nego u tekućini što bi dovelo do bržeg vremena separacije i bolje učinkovitosti kolone.

Analiza hlapivih komponenta plinskom kromatografijom je vrlo značajno oruđe koje omogućuje klasifikaciju vina, kontrolu kvalitete te razumijevanje senzorskih karakteristika vina. Plinski kromatogram sa plameno-ionizacijskim detektorom iz ekstrakta vina može dati kvantitativne podatke o formiranju spojeva u različitim fazama proizvodnje vina i kroz različite kemijske putove što potencijalno mogu konstituirati pametan način za kontrolu proces proizvodnje (Ortega i sur., 2001).

2.3.1 Princip plinske kromatografije

Plinska kromatografija je jedna od kromatografskih metoda koja se koristi za odjeljivanje, kvantitativnu analizu i izolaciju komponenata smjese. Pogodna je za analizu hlapljivih ($M_r < 500$), ne suviše polarnih te termički stabilnih spojeva.

Plinski kromatogram sastoji se od putujuće mobilne faze, injektora, kolone sa stacionarnom fazom, detektora i sustava za snimanje podataka.



Slika 1. Shema plinskog kromatografa (Anonymus, 2005)

Injektirani uzorak evaporizira na vrhu kromatografske kolone i biva nošen plinovitom mobilnom fazom kroz kromatografsku kolonu koja je ispunjena stacionarnom fazom. Ukoliko je stacionarna faza tekućina, sastojci uzorka će se razdvajati na osnovu razlika u topljivosti, a ukoliko je krutina, razdvajat će se na osnovu razlika u adsorpciji. Na koloni se sastojci uzorka raspodjeljuju ovisno o svojim kemijskim i fizikalnim svojstvima te ih mobilna faza iznosi sa kolone i prenosi do detektora. U detektoru svaka komponenta izaziva određenu aktivnost koja se registrira. Odziv detektora se na pisaču bilježi kao kromatogram koji sadrži po jednu krivulju eluiranja za svaki sastojak smjese.

Plin nosač ili mobilna faza služi za prijenos uzorka kroz kolonu. Koriste se inertni plinovi koji nisu reaktivni i ne stupaju u reakcije s uzorkom, najčešće dušik, helij, argon ili vodik. Čuvaju se u spremnicima koji uređaj opskrbljuju plinom pri određenom tlaku. Analiza počinje unosom male količine uzorka (tekućeg ili plinovitog) u injektor koji rasplina uzorak i miješa ga s MF na početku kolone postavljene u termostirani prostor. Kako bi se sav plin rasplinuo, temperatura u injektorskom ulazu mora biti viša od najviše temperature vrelišta sastojaka iz uzorka. Na kraju kolone mobilna faza s odijeljenim analitom prolazi kroz deketor koji konvertira detektirane promjene (brz odziv na male promjene koncentracije sastojaka) u električni signal koji se ispisuje kao kromatogram.

Kolone koje se koriste u plinskoj kromatografiji mogu biti punjene ili kapilarne. Kapilarne kolone, koje se češće koriste, proizvode se od pročišćenog silikatnog stakla, te su unutarnjeg promjera oko 250 μm . Bolje su od punjenih jer provode bolje odjeljivanje, potrebno je manje uzorka, a dobije se više pikova i analiza je brža. Kolone su cijevi izrađene od različitih

materijala koje su punjene čvrstim nosačem ili punilom na koji je nanesen tanki sloj stacionarne faze, te tako služe kao njeni nosači.

Također, različite vrste detektora koriste se u plinskoj kromatografiji. U ovom radu korišten je plinski kromatograf sa plameno-ionizacijskim detektorom (engl. Flame Ionization Detector, FID) koji ima, ujedno, i najširu uporabu u odnosu na ostale detektore. Uzorak se, nakon izlaska iz kolone, miješa sa smjesom zraka i vodika i zapali pri čemu dolazi do kemijske razgradnje uzorka. Tako nastaju ioni i elektroni koji se nakupljaju na elektrodi i stvaraju električni signal. Izvedba i rukovanje je jednostavno, detektor je primjenjiv za brojne organske spojeve zahvaljujući velikoj osjetljivosti i odzivu, ali uništava uzorak.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1 Materijali

3.1.1 Uzorci

Hlapivi spojevi određivani su u 16 različitih vina:

1. Lustau Fino Jarana, Solera Reserva
2. Lustau Rare Amontillado Escuadrilla, Solera Reserva
3. Porto Fonseca Siroco
4. Pineau Des Charentes, Maxime Trijol
5. Osborne, Fine Tawny
6. Tokaji, Aszu, 3 Puttonyos
7. Zelenac Kutjevo, Krauthaker
8. Alexandro, Pedro Ximenez
9. Prosecco Valdobbiadene Millesimato
10. Prosecco D.O.C. Villa Sandi
11. Prosecco Valdobbiadene col de L'utia
12. Freixenet (Vintage Reserva 2013)
13. Champagne Lallement-Pelletier
14. Moet & Chandon Grand Vintage Brut 2006
15. Masi Costasera Campofiorini 2012
16. Masi Costasera Amarone Classico 2011

3.1.2 Kemikalije i instrumenti

Kemikalije:

- n-amil alkohol (98%, KEMIKA), interni standard
- n-amil acetat (>98%, MERCK), interni standard
- etanol (96%, Gram-Mol, pro analysis)
- destilirana voda (fakultetska)

Instrumenti i pomoćni pribor:

-Plinski kromatograf s plameno-ionizacijskim detektorom (GC-FID), Hewlett-Packard HP 5890

-„Headspace“ automatski uzorkivač (HSS), Hewlett-Packard 7694

-Mikropipeta, 100 μ L, Eppendorf

-HSS bočice, čepovi za HSS bočice

-Laboratorijsko posuđe

3.2 Postupak provođenja ispitivanja

3.2.1. Određivanje hlapivih sastojaka vina plinskom kromatografijom sa plameno-ionizacijskim detektorom uz „Headspace“ automatski uzorkivač

Priprema uzorka za analizu

20 mL određenog vina se otpipetira u odmjernu tikvicu od 50 mL. Potom se doda destilirane vode malo ispod oznake, a nakon toga, mikropipetom interni standard (u volumenu izračunatom za pripremljenu otopinu; n-amil alkohol: 53,78 mg/L, n-amil acetat: 3,954 mg/L)

i nadopuni destiliranom vodom do oznake. U HSS bočicu, odnosno vialu, doda se 5 mL prethodno pripremljenog uzorka vina za analizu. Viale se zatvaraju silikonskim čepovima predviđenim za HSS bočice te stavljaju na određeno mjesto na „Headspace“ automatskom uzorkivaču. Uzorak se zagrijava na 80°C kako bi se postiglo isparavanje hlapivih komponenti, koje se potom prebacuju u injektor plinskog kromatografa gdje se provodi analiza.

Uvjeti rada HSS-GC:

Temperatura pećnice: 80°C

Vrijeme uravnoteženja: 10 min

Vrijeme injektiranja: 0,2 min

Protok plina nosača: 7,85 mL/min

Pritisak u bočici: 7 Psi

Plin nosač: N₂ (dušik)

Volumen uzorka: 5 mL

Uvjeti rada plinskog kromatografa:

Temperatura injektora: 220°C

Temperatura detektora: 250°C

Plin nosač: N₂ (dušik)

Temperaturni program: 38°C, 4 min -> 170°C; 20°C/min -> 190°C; 40°C/min, 4 min

Brzina plina nosača: 16 Psi

Splitless: 3 min

Kolona: RTX-624 (J&W): 30 min; i.d. = 0.32 mm; 1.8 µm

Kvantifikacija hlapivih spojeva

Kvantifikacija hlapivih spojeva arome provedena je računalnom analizom podataka dobivenih programom HP- chem pomoću metode internog standarda na temelju prethodno napravljenih kalibracija željenih spojeva arome.

Spojevi su identificirani na temelju položaja pika pojedinog spoja na vremenskoj osi, tj. njihovih retencijskih vremena. Retencijsko vrijeme predstavlja vrijeme zadržavanja spoja na

koloni, odnosno vrijeme od trenutka injektiranja pa sve do pojave signala na detektoru (pobuda).

3.2.2. Određivanje sastava vina FTIR spektroskopom

FTIR (Fourier transform infrared) spektroskop radi na principu infracrvenog ozračivanja ispitivanog materijala, čime mu se molekule pobude u više vibracijsko stanje. Valna duljina svjetla koju apsorbira pojedina molekula je razlika energije stanja mirovanja i energije pobuđenog vibracijskog stanja. Analiza jednog uzorka traje 30 sekundi, a za analizu je potrebno 20 mL uzorka. Uzorci su prije analize degazirani i profiltrirani. Određivani su parametri: alkohol, ukupna kiselost, hlapiva kiselost, pH, reducirani šećeri, ukupni ekstrakt, jabučna kiselina, te mliječna kiselina.



Slika 2. FTIR spektrometar, Bacchus , Microdom, Francuska (Skoog, 2007)

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1.Rezultati

4.1.1 Rezultati dobiveni plinskom kromatografijom

➔ Koncentracije hlapljivih spojeva u različitim tipovima vina [mg/L]

Tablica 1. Rezultati dobiveni kemijskom analizom uzoraka plinskom kromatografijom

	Lustau Fino Jarana, Solera Reserva	Lustau Rare Amotillado Escuadrilla; Solera Reserva	Porto Fonseca Siroco	Pineau Des Chartenes; Maxime Trijol	Osborne, Fine Tawny	Tokaji, Aszu, 3 Puttonyos
Acetaldehid	77	72	25	18	28	54
Propanol	31,4	31,4	39,9	27,3	44,4	22,8
Diacetil	-	1,2	0,4	0,4	1,8	0,5
etil-acetat	15,8	130,8	65,3	14,3	40,7	108,1
i-butanol	43,1	36,6	70,1	167,8	75,5	23,0
i-amil alkohol	208	192	268	355	262	151
etil laktat	40,3	149,9	49,5	16,7	68,9	55
i-amil acetat	0,11	0,3	0,18	0,12	0,3	0,27
1-heksanol	0,5	0,8	2,4	2,3	3,5	1,17
etil heksanoat	0,03	0,02	0,1	0,03	0,05	0,05
Feniletanol	13	6,7	12	11	19,9	41,7
etil-oktanoat	0,07	0,2	0,25	0,07	0,07	0,1
dietil sukcinat	24	5	51	7,6	14	16,5
2-feniletilacetat	0,7	1,5	1,1	0,85	0,6	0,3
etil dekanat	0,02	-	0,04	-	-	-

Tablica 1. Nastavak

	Zelenac Kutjevo, Krauthaker	Alexandro, Pedro Ximenez	Prosecco Valdobbiadene Millesimato	Prosecco D.O.C. Villa Sandi	Prosecco Valdobbiadene col de L'utia
Acetaldehid	17	19	13	21	6
Propanol	22,3	3,7	26,5	51,0	25,8
Diacetil	-	-	-	-	-
etil-acetat	97,2	40,0	45,9	32,4	25,6
i-butanol	18,8	0,1	11,5	20,0	20,9
i-amil alkohol	93	15	116	149	150
etil laktat	22,8	17	25,9	53,3	23,8
i-amil acetat	0,16	0,23	2,56	1,6	2,0
1-heksanol	0,5	0,3	0,9	1,1	1,0
etil heksanoat	0,1	0,02	0,4	0,56	0,84
Feniletanol	9	7	13	33	32
etil-oktanoat	0,2	-	0,6	0,5	0,66
dietil sukcinat	10	15	3,5	8	6
2- feniletilacetat	0,7	0,5	0,3	0,4	0,2
etil dekanat	0,02	-	0,25	0,13	0,1

Tablica 1. Nastavak

	Freixenet, Vintage Reserva 2013	Champagne Lallement- Pelletier	Moet & Chandon Grand Vintage Brut 2006	Masi Costasera Classico Campofiorini	Masi Costasera Amarone Classico
Acetaldehid	19	20	10	9	24
Propanol	31,5	50,3	48,7	43,2	46,2
Diacetil	-	-	-	3,5	3,4
etil-acetat	28	45,2	33,7	77,3	141,8
i-butanol	9,7	21,7	20,3	40,3	37,3
i-amil alkohol	148	141	143	227	230
etil laktat	89	570,6	390,7	231,3	188,1
i-amil acetat	0,25	0,11	0,14	1,1	2,0
1-heksanol	1,2	0,6	0,6	1,2	2,3
etil heksanoat	1,05	0,6	0,74	0,3	0,45
Feniletanol	14,7	17,8	34	19	18
etil-oktanoat	0,9	0,7	0,6	0,4	0,5
dietil sukcinat	6	12	9	15	22
2- feniletilacetat	-	-	0,2	-	0,4
etil dekanoat	0,12	0,09	0,06	0,13	0,14

U tablicama su navedeni rezultati dobiveni plinskom kromatografijom koji daju profil hlapivih spojeva ispitivanih vina.

4.1.2 Rezultati dobiveni FTIR spektroskopijom

Tablica 2. Rezultati dobiveni kemijskom analizom uzoraka FTIR spektroskopijom

	Lustau Fino Jarana Solera Reserva	Lustau Rare Amontillado Escuadrilla Solera Reserva	Porto Fonseca Siroco	Pineau des Charentes Maxime Trijol
Alkohol [%]	15,6	19,2	20,5	16,8
Ukupna kiselost [g/L kao vinska]	5,1	7,1	5,1	5,7
Hlapiva kiselost [g/L kao octena]	0,43	0,67	0,29	0,2
pH [pH]	3,08	3,09	3,27	3,46
Reducirani šećeri [g/L]	4,8	7,7	39	137
Ukupni ekstrakt [g/L]	15,9	24,5	67,4	228
Jabučna kiselina [g/L]	0	0,5	2,3	1,6
Mliječna kiselina [g/L]	0,3	1	0,3	0,4
Acetat [mg/L]	0	98	109	203

Tablica 2. Nastavak

	Osborne Fine Tawny	Tokaji ASZU 3 Puttonyos	Zelenac Kutjevo Krauthaker	Alexandro Pedro Ximenez
Alkohol [%]	19,7	12,6	14,5	15
Ukupna kiselost [g/L kao vinska]	4,6	10,3	5,8	4,7
Hlapiva kiselost [g/L kao octena]	0,26	0,45	0,83	0
pH [pH]	3,59	3,27	3,9	4,79
Reducirani šećeri [g/L]	94	80	81	250
Ukupni ekstrakt [g/L]	163	157	133	520
Jabučna kiselina [g/L]	0,4	3,5	4,2	0
Mliječna kiselina [g/L]	0,5	0,3	0	0
Acetat [mg/L]	156	324	225	191

Tablica 2. Nastavak

	Prosecco Valdobbiadene Millesimato	Prosecco D.O.C. Villa Sandi	Prosecco Valdobbiadene col de L'utia	Freixenet Vintage Reserva 2013
Alkohol [%]	11,2	11,0	11,1	12,3
Ukupna kiselost [g/L kao vinska]	6,5	5,7	5,1	6,6
Hlapiva kiselost [g/L kao octena]	0,29	0,4	0,28	0,38
pH [pH]	3,25	3,28	3,19	3,04
Reducirani šećeri [g/L]	16,4	16,9	13,7	3,6
Jabučna kiselina [g/L]	3,6	3,1	2,3	1,9
Mliječna kiselina [g/L]	0	0,4	0,3	0,4

Tablica 2. Nastavak

	Champagne Lallement-Pelletier	Moet & Chandon Grand Vintage Brut 2006	Masi Costasera Campofiorini	Masi Costasera Amarone classico
Alkohol [%]	12,3	12,9	13,1	15,2
Ukupna kiselost [g/L kao vinska]	9,5	6,5	5,9	6,2
Hlapiva kiselost [g/L kao octena]	0,48	0,39	0,66	0,48
pH [pH]	3,03	3,27	3,51	3,52
Reducirani šećeri [g/L]	13,5	7,7	3,8	11,0
Jabučna kiselina [g/L]	0	0	0,3	0,5
Mliječna kiselina [g/L]	3,9	3,0	2,2	1,5
Slobodni SO ₂ [mg/L]			34	20
Ukupni SO ₂ [mg/L]		51	165	135

Rezultati dobiveni FTIR spektrometrom prikazuju kemijski sastav ispitivanih vina.

4.2 Rasprava

Acetaldehid

Acetaldehid daje miris na prezrelu jabuku te je povezan s manom vina koja se definira kao oksidiranost. U većini vina njegove visoke koncentracije nisu poželjne, osim u iznimkama Porto i Sherry vina kod kojih je poželjna oksidirana nota. (Regodon Mateos i sur., 2006). Rezultati ovog istraživanja pokazuju najveće koncentracije acetaldehida pronađene u sherry vinima Lustau Fino Jarana (Solera Reserva) i Lustau Rare Amontillado Escuadrilla (Solera Reserva). Veliku koncentraciju acetaldehida pronalazimo i u vinu Tokaji Aszu 3 Puttonyos, dok su najmanje koncentracije pronađene u vinu Prosecco Valdobbiadene col de L'utia, što je kod pjenušavih vina očekivano.

Diacetil

U analiziranim uzorcima diacetil pronalazimo u malim količinama, dok ga kod većine pjenušavih vina, predikatnog vina i nekih sherry vina niti nema. Ukoliko je prisutan u koncentracijama od 5-7 mg/L, njegov utjecaj na aromu vina se smatra nepoželjnim, dok je pri koncentracijama od 1-4 mg/L može biti poželjan, što ovisi i o željenom stilu i vrsti vina (Davis i sur., 1986).

Sve pronađene koncentracije u analiziranim vinima su niže od 5 mg/L vina, te niske koncentracije pronađene u porto i sherry vinima doprinose ukupnoj aromi tih vina.

Najveće koncentracije ipak pronalazimo u vinima Masi Costasera Classico Campofiorini i Masi Costasera Amarone Classico (oko 3.5 mg/L u oba vina) što se može povezati sa provođenjem malolaktične fermentacije u ovim vinima (rezultati dobiveni FT-IR spektroskopijom sugeriraju da se provodi MLF) jer postupkom prevođenja jabučne u mliječnu kiselinu kao nusprodukt dobivano i diacetil kojeg u toj reakciji proizvode kvasci.

Viši alkoholi

U više alkohole ubrajamo 1-propanol, izobutanol, izoamil alkohol, 1-heksanol i feniletanol. U ispitivanim uzorcima najveće koncentracije ukupnih viših alkohola pronađene su u Pineau Des Charentes Maxime Trijol (oko 565 mg/L), a prate ga Porto Fonseca Siroco (oko 390 mg/L) i Osborne Fine Tawny (oko 400 mg/L). Ukupni viši alkoholi smatraju se poželjnima u koncentracijama do 350 mg/L te u tim koncentracijama povećavaju voćne i cvjetne note i ukupnu kompleksnost arome, no iznimno kod porto vina su očekivane nešto veće koncentracije zbog dodatka vinjaka ili destilata vinu tokom proizvodnje - što je dokazano i u navedenim analiziranim uzorcima. (Jackson, 2002 i De-la-Fuente-Blanco i sur., 2016). Ipak, prevelike koncentracije mogu biti nepoželjne i u porto vinu, te je francusko vino Pineau Des Charentes upitne kvalitete.

U ostalih vina koncentracije viših alkohola ne prelaze granicu od 300 mg/L te pozitivno doprinose ukupnoj aromi vina.

Kod sherry vina Lustau Fino Jarana i Lustau Rare Amontillado Escuadrilla koncentracije viših alkohola su oko 300 mg/L. Kod Prosecco vina također pronalazimo relativno visoke koncentracije viših alkohola koje su u prosjeku 220 mg/L. Kod vina dobivenih *Appassimento* metodom proizvodnje, Masi Costasera Campofiorini i Masi Costasera Amarone Classico, te su koncentracije oko 330 mg/L pa se mogu očekivati poželjni utjecaji na aromu Campofiorini vina kao i kod Amarone vina, gdje se i očekuje nešto veća koncentracija.

Najniže koncentracije pronađene su u vinu Zelenac Kutjevo Krauthaker, dok je kod vina Alexandro Pedro Ximenez vrlo vjerojatno došlo do pogreške pri detekciji uređaja jer sadržaj viših alkohola iznosi 26 mg/L što je izuzetno niska koncentracija te zaključujemo da je došlo do pogreške.

Esteri

Etil acetat

Koncentracije etil acetata u analiziranim uzorcima variraju od vrlo niskih do vrlo visokih. Najveće koncentracije pronalazimo u vinima Masi Costasera Amarone Classico (oko 140 mg/L) i Lustau Rare Amontillado Escuadrilla (sherry; oko 130 mg/L), ali u koncentracijama koje se još uvijek ne smatraju nužno nepoželjnima, u ovisnosti o ostalim komponentama.

U koncentracijama višim od 150 mg/L njihova prisutnost ukazuje na povišenu hlapivost, daju miris na aceton i octenu kiselinu, te mogu ukazivati na kontaminaciju bakterijama octene kiseline, ali u nižim koncentracijama pridonose ukupnoj aromi vina (J.A. Regodon Mateos i sur., 2006 i Jackson, 2002).

Nešto više koncentracije pronađene i u predikatnom vinu Zelenac Kutjevo Krauthaker (oko 90 mg/L), dok su najniže koncentracije pronađene u Pineau Des Chartenes; Maxime Trijol i u Lustau Fino Jarana, ali i dalje pridonose aromi vina (oko 15 mg/L).

Voćni esteri

Etil heksanoat, etil oktanoat, etil dekanoat i izoamil acetat esteri su koji pripadaju skupini spojeva uvijek prisutnih u vinu te doprinose aromi vina i daju mu voćni miris.

Izoamil-acetat karakterističan je za mlada vina, kojih u navedenom istraživanju nema, te nije ni čudno što je pronađen jedino u nižim koncentracijama (najviše koncentracije u Prosecco Valdobbiadene Millesimato, oko 2,5 mg/L) što je bilo očekivano budući da se starenjem vina gube voćni esteri (Jackson, 2008).

Etil heksanoat, i etil oktanoat također su pronađeni pri niskim koncentracijama u gotovo svim vinima. Etil heksanoat u fortificiranim vinima pronađen je u koncentracijama nižim od praga osjetljivosti (manje od 0,5 mg/L), dok je u pjenušavim vinima većinom pronađen u višim koncentracijama. Najveće koncentracije etil heksanoata pronađene su u vinu Freixenet (Vintage Reserva 2013) i iznosi 1 mg/L. Etil heksanoat je, kao i izoamil acetat, prisutan u višim koncentracijama u mlađim vinima, te nam ukazuje da u ispitivanim uzorcima nema mladih vina.

U svim ostalim analiziranim uzorcima koncentracije ovih estera niže su od 1 mg/L, što nije iznenađujuće, jer su pragovi osjetljivosti za etil heksanoat 0,5 mg/L, a za etil oktanoat 0,08 mg/L (Peinado i sur., 2004), te u koncentracijama višim od navedenih pragova osjetljivosti imaju povoljan utjecaj na njihove arome.

Koncentracije ispod praga osjetljivosti za etil oktanoat pronađene su u vinima Lustau Fino Jarana i Pineau Des Chartenes i iznose 0,07 mg/L. U ostalim vinima, oni pozitivno utječu na

aromu vina te se mogu smatrati i indikatorom kvalitete vina (Jackson, 2002). Etil oktanoat ne pronalazimo jedino u vinu Alexandro Pedro Ximenez.

Koncentracije etil dekanooata ne prelaze prag osjetljivost koji je 0,5 mg/L (Peinado i sur., 2004). Najviše koncentracije pronađene su u vinu Masi Costasera Amarone Classico, i to 0,14 mg/L, dok se u nekim uzorcima ni ne pojavljuje. Ovakvi rezultati su očekivani, budući da se starenjem gube voćni esteri (Jackson, 2008).

Ostali esteri

Od ostalih estera treba istaknuti diacetil sukcinat (prag osjetljivosti 1,2 mg/L) i etil laktat (prag osjetljivosti 150 mg/L) koji imaju mali utjecaj na miris vina, ali su bitni kao indikatori starosti vina (Peinado i sur., 2004).

Vidljive su izrazito visoke koncentracije iznad praga osjetljivosti u analiziranim vinima. Posebice visoke koncentracije etil laktata pojavljuju se u pjenušavim vina Champagne Lallement-Pelletier i Moet & Chandon (Grand Vintage Brut 2006) koje prelaze 300 mg/L. Koncentracije dietil sukcinata također prelaze pragove osjetljivosti i kod vina Masi Costasera Amarone Classico i Masi Costasera Classico Campofiorini te postižu koncentracije veće od 10 mg/L što ukazuje na starost ovih vina i na činjenicu da je provedena malolaktična fermentacija (tablica s podacima dobivenih FT-IR analizom).

Kod Prosecco vina te su koncentracije nešto niže nego kod ostalih, pa možemo zaključiti da vina nisu izrazito stara s obzirom na ostale, ali i dalje ih uvrštavamo u stara vina.

Kod porto i sherry vina koncentracije etil laktata su nešto niže i većinom ispod praga osjetljivosti dok su koncentracije dietil sukcinata izrazito visoke; najviša koncentracija je uočena u vinu Porto Fonseca Sirocco kod kojeg ona iznosi oko 50 mg/L što, također, upućuje na veliku starost ovih vina.

Osim kao indikator starosti, etil laktat povezan je s provođenjem malolaktične fermentacije. Malolaktična fermentacija odvija se radi prevođenja jabučne u mliječnu kiselinu što se odražava pogodno na aromu i okus vina. Mliječna kiselina esterifikacijom sa etanolom sporom reakcijom dalje stvara etil laktat

Uvid u kemijski sastav ispitivanih vina dobiven FT-IR spektrometrom

Iz rezultata dobivenih FTIR spektroskopijom vidljivo je da udjeli mliječne kiseline i jabučne kiseline variraju od uzorka do uzorka na temelju čega možemo zaključiti u kojim vinima je provedena malolaktična fermentacija, a u kojima ne. U pjenušcima Champagne Lallement-Pelletier i Moët & Chandon odrađena je malolaktična fermentacija što zaključujemo na temelju dobivene koncentracije navedenih kiselina - jabučnu kiselinu ne pronalazimo dok su koncentracije mliječne kiseline 3,9 g/L i 3 g/L što su ujedno i najviše pronađene koncentracije od svih analiziranim vinima. Slični rezultati očitavaju se i u vinima proizvođača Masi Costasera (Campofiorini, Amarone) pa možemo reći da je i tu provedena malolaktična fermentacija. U ostalim vinima koncentracije jabučne kiseline većinom su veće ili podjednake koncentracijama mliječne kiseline pa zaključujemo da se MLF ne provodi.

Kod vina Alexandro Pedro Ximenez rezultati pokazuju da nema niti jabučne niti mliječne kiseline što nam govori o upitnoj kvaliteti ovog vina jer su jabučna i mliječna kiselina sastavni dio svakog grožđa tj. vina.

Iz udjela alkohola dobivenih FT-IR metodom analize možemo zaključiti kod kojih vina se tokom proizvodnje prekidala fermentacija. Fermentacija se prekida u trenutku kada je udio alkohola veći od 16% (dodatkom vinjaka ili destilata) jer se tako uništavaju kvasci koji u tim uvjetima ne mogu preživjeti.

Sva vina sadrže udio alkohola veći od 10%. Analizirani sherry Lustau Fino Jarana sadrži 15,6% alkohola što je u skladu sa propisima te u tim uvjetima kvasci preživljavaju i obavljaju svoju funkciju zaštite ovog vina od oksidacije. Lustau Rare Amontillado Escuadrilla, Porto Fonseca Sirocco, Pineau des Charentes i Osborne Fine Tawny prelaze udio alkohola od 16% što sugerira da je u ovih vina fermentacija u određenom trenutku prekinuta što je i očekivano kod navedenih vina. Najveći udio alkohola je u Porto Fonseca Sirocco vinu i iznosi 20,5%.

Iz podataka o reduciranim šećerima analiziranih vina zanimljiv je podatak o vrlo visokom udjelu šećera pronađen u vinu Alexandro Pedro Ximenez koji iznosi 250 g/L što je daleko najveća koncentracija u odnosu na ostale analizirane uzorke. Visok udio šećera karakterističan

je za ovo vino i daje mu izrazit okus slatkoće. Visoka koncentracija dobivena je i u vinu Pineau des Charentes (137 g/L reduciranih šećera), a slijede ga Osborne Fine Tawny (94 g/L), Zelenac Kutjevo Krauthaker (81 g/L) i Tokaji Aszu 3 Puttonyos (80 mg/L).

U imenu vina Tokaji Aszu 3 Puttonyos, 3 Puttonyos je oznaka za tradicionalnu mjeru koja označava omjer dobivenog vina ili mošta iz „plemenitih trulih“ bobica karakteristično za proizvodnju spomenutog vina. Oznake mogu biti od 3-6 i odgovaraju koncentracijama od 60, 90, 120 i 150 g/L šećera (Ildyko, 2011). Prema tome, očekivane koncentracije za ovo vino trebale bi biti oko 60 g/L reduciranih šećera, a dobiveni podaci pokazuju da je izmjerena koncentracija od 80 g/L šećera, što je i dalje u skladu s propisima za oznaku 3 Puttonyos jer ne premašuje koncentraciju od 90 g/L koja bi odgovarala oznaci 4 Puttonyos.

Pri izvođenju eksperimenta moglo je doći do sitnih pogrešaka kod pripravljanja uzoraka, pipetiranja, kvantitativnog prenošenja uzorka, itd., što ne bi trebalo imati veće utjecaje na rezultate. No, do većih pogrešaka moglo je doći pri detekciji uređaja jer su, primjerice, u vinu Alexandro Pedro Ximenez vidljive vrlo niske koncentracije viših alkohola što nije uobičajeno za to vino.

5. ZAKLJUČAK

Na osnovi dobivenih rezultata može se zaključiti:

1. Dokazana je veća prisutnost acetaldehida u porto i sherry vinima, dok su nešto niže koncentracije pronađene u pjenušcima što se poklapa sa literaturom.
2. Sukladno s literaturom, pronađene su vrlo visoke koncentracije viših alkohola u porto vinima, dok su nešto niže koncentracije pronađene u pjenušcima.
3. Izoamil acetat u ispitivanim uzorcima pronađen je u malim koncentracijama jer su njegove veće koncentracije očekivane u mladim vina kojih u ispitivanim uzorcima ne pronalazimo. Starenjem vina gube se voćni esteri te su očekivane niske koncentracije istih u pjenušavim i slatkim vina.
4. Pronađene su vrlo visoke koncentracije diacetil sukcinata kao indikatora starosti vina u analiziranim uzorcima što ukazuje na njihovu izrazitu starost i poklapa se sa prethodnim saznanjima i rezultatima.
5. Utvrđeno je provođenje malolaktične fermentacije u pjenušcima Champagne Lallement-Pelletier i Moët & Chandon Grand Vintage Brut 2006, te vinima Masi Costasera Campofiorini 2012 i Masi Costasera Amarone Classico 2011.
6. Sukladno s literaturom, utvrđeno je zaustavljanje fermentacije kod porto vina Porto Fonseca Siroco, Pineau Des Chartenes i Osborne Fine Tawny te kod sherry vina Lustau Rare Amontillado Escuadrilla dobivenim podacima za udio alkohola veći od 16%.

6. LITERATURA

Anonymous (2005), Plinska kromatografija, <http://www.wikiwand.com/hr/Kromatografija>
Pristupljeno kolovoz, 2016

Anonymous (2014), Tehnologija proizvodnje pjenušca, <http://vinogradarstvo.hr>
Pristupljeno kolovoz, 2016.

Anonymous (2016), Wine making styles, <https://www.colaneriwines.com>
Pristupljeno kolovoz, 2016.

Davis, C.R., Wibowo, D., Lee, T.H., Fleet, G.H. (1986) Growth and metabolism of lactic acid bacteria during fermentation and conservation of some Australian wines. *Food Technol. Aust.* **38**, 35– 40.

De-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M-P., Ferreira V. (2016) On the effects of higher alcohols on red wine aroma, *Food Chem.*

Ildyko M. (2011) Botrytized Wines (Chapter 6), *Adv Food Nutr Res*, 147-206.

Jackson R.S. (2002) *Wine Tasting: A Professional Handbook*, Elsevier Ltd., San Diego

Jackson, R.S. (2008) *Chemical Constituents of Grapes and Wine. U: Wine Science: Principles and Applications*, 3 izd., Academic Press, San Diego, 270-406.

Marcq P., Schieberle P. (2015) Characterization of the Key Aroma Compounds in a Commercial Amontillado Sherry Wine by Means of the Sensomics Approach, *J. Agric. Food. Chem.* **63**, 4761–4770

Ortega C., López R., Cacho J., Ferreira V. (2001) Fast analysis of important wine volatile compounds Development and validation of a new method based on gas chromatographic–flame ionisation detection analysis of dichloromethane microextracts, *J. Chromatog. A* **923**, 205–214.

- 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. Chem.* **84**, 585–590.
- Plata C., Millan C., Mauricio J.C., Ortega J.M. (2003) Formation of ethyl acetate and isoamyl acetate by various species of wine yeasts, *Food. Microbiol.* **20**, 217–224.
- Rapp, A. (1990) Natural flavours of wine: Correlation between instrumental analysis and Sensory perception. *Fres. J. Analyt. Chem.* **337**, 777-785.
- Regodon Mateos J.A., Perez-Nevaldo F., Ramirez Fernandez M. (2006) Influence of *Saccharomyces cerevisiae* yeast strain on the major volatile compounds of wine, *Enzyme Microb. Technol.* **40**, 151–157.
- Skoog, D.A., West, D.M., Crouch, S.R. (2007) Principles of Instrumental Analysis, 6. izd., Thomson, Kanada.
- Soares R.D., Welke J.E., Nicolli K.P., Zanús M., Manfroi V., Zini C.A. (2015) Monitoring the evolution of volatile compounds using gas chromatography during the stages of production of Moscatel sparkling wine, *Food Chem.* **123**, 291-304.
- Valero E, Moyano L., Millan M.C., Medina M., Ortega J.M. (2002) Higher alcohols and esters production by *Saccharomyces cerevisiae*. Influence of the initial oxygenation of the grape must, *Food Chem.* **78**, 57–61.