

# Utjecaj različitih tehnoloških postupaka maceracije na aromatski sastav crnog vina

---

Đebro, Matea

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

*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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:735228>

*Rights / Prava:* [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-09-14**



*Repository / Repozitorij:*

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



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

**Matea Đebro  
0058213051**

**Utjecaj različitih tehnoloških postupaka maceracije na  
aromatski sastav crnog vina**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet: Kemija i tehnologija vina**

**Mentor: doc. dr. sc. Marina Tomašević**

Zagreb, 2022.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

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

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Utjecaj različitih tehnoloških postupaka maceracije na aromatski sastav crnog vina

Matea Đebro, 0058213051

### Sažetak:

Cilj ovoga rada bio je utvrditi utjecaj tehnike miješanja masulja tijekom maceracije i fermentacije na aromu crnog vina Teran. Miješanje masulja tijekom maceracije/fermentacije provedeno je potapanjem klobuka te tehnikom *delestage*, a uzorci su izuzeti u pet različitih termina (3., 5. i 7. dan maceracije/fermentacije, nakon prešanja te nakon prvog pretoka). Spojevi arome analizirani su primjenom plinske kromatografije s masenom spektrometrijom uz prethodnu mikroekstrakciju na čvrstoj fazi (SPME-GC/MS). Istraživanjem je utvrđeno kako primjenom dvaju tehnoloških postupaka (*delestage* i potapanje) nastaju razlike u sastavu arome ispitivanoga vina: primjena tehnike *delestage* rezultirala je višim koncentracijama estera u vinu, dok je tehnika potapanja komine rezultirala višim koncentracijama viših alkohola.

Ovaj rad može pridonijeti poboljšanju znanja o važnosti odabira prave tehnike proizvodnje pri izradi crnih vina ovisno o mogućnostima i željama proizvođača.

**Ključne riječi:** vino, aroma, *delestage*, potapanje

**Rad sadrži:** 28 stranica, 15 slika, 0 tablica, 46 literaturnih navoda, 0 priloga

**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

**Pomoć pri izradi:** dr.sc. Katarina Lukić

**Datum obrane:** 18. srpnja, 2022.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate 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

**The effect of different maceration techniques on the aroma composition of red wine**

**Matea Đebro, 0058213051**

### **Abstract:**

The aim of this study was to evaluate the influence of the mixing treatments during maceration and fermentation of must on the aroma of red Teran wine. Mixing of must during maceration/fermentation was carried out by punching down and the *delestage* techniques, and samples were sampled at five different points (3rd, 5th and 7th day of maceration/fermentation, after pressing and after the first rack). Aroma compounds were analyzed using solid phase microextraction prior to gas chromatography with mass spectrometry (SPME-GC/MS). The research established that the application of two technological procedures (*delestage* and punching down) result in differences in the aroma composition of the tested wine: the application of the *delestage* technique resulted in higher ester concentrations in wine, while the punching down technique resulted in higher concentrations of higher alcohols.

This paper can contribute to improving knowledge about the importance of choosing the right production technique in the production of red wines depending on the capabilities and preferences of producers.

**Keywords:** wine, aroma, *delestage*, punching down

**Thesis contains:** 28 pages, 15 figures, 0 tables, 46 references, 0 supplements

**Original in:** Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form 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

**Technical support and assistance:** PhD Katarina Lukić

**Thesis defended:** July 18<sup>th</sup>, 2022

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b>	<b>2</b>
2.1. MACERACIJA I TEHNOLOŠKI POSTUPCI	2
2.1.1. Utjecaj vremena trajanja maceracije	3
2.1.2. Utjecaj postupka miješanja na uspješnost maceracije	4
2.2. AROMA VINA	7
2.3. SORTA TERAN	9
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b>	<b>11</b>
3.1. MATERIJAL	11
3.1.1. Uzorci vina	11
3.1.2. Instrumenti i pribor	11
3.1.3. Kemikalije	12
3.2. METODE	13
3.2.1. Određivanje spojeva arome primjenom mikroekstracije kromatografije s masenom detekcijom (SPME-GC/MS)	13
3.2.2. Prirema uzorka	13
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b>	<b>15</b>
<b>5. ZAKLJUČCI</b>	<b>25</b>
<b>6. POPIS LITERATURE</b>	<b>26</b>

## Popis oznaka, kratica i simbola

SPME	Solid Phase Microextraction (mikroekstrakcija na čvrstoj fazi)
GC	Plinska kromatografija
GC-MS	Plinska kromatografija sa maseno-selektivnim detektorom



## 1. UVOD

Maceracija je postupak postepenog izdvajanja sastojaka iz krutih dijelova grožđa (prvenstveno pokožice i sjemenki te rjeđe peteljkovine) u mošt. Prvenstveno se primjenjuje s ciljem ekstrakcije polifenolnih spojeva te tvari i prekursora arome, ali i polisaharida, mineralnih tvari te spojeva s dušikom. Navedeni spojevi značajno doprinose senzorskim karakteristikama te sveukupnoj kvaliteti vina. Općenito, senzorske karakteristike vina odnose se na njegovu boju, okus i miris, a na njih u velikoj mjeri utječu uvjeti provođenja postupka maceracije (temperatura, trajanje, način miješanja masulja i dr.). U proizvodnji crnih vina maceracija se provodi paralelno s alkoholnom fermentacijom, dok se u proizvodnji bijelih vina uglavnom primjenjuje u predfermentativnoj fazi, s puno kraćim vremenom trajanja.

S ciljem što veće ekstrakcije prethodno navedenih spojeva, tijekom procesa maceracije nužno je osigurati što veći kontakt krutih i tekućih dijelova masulja, a to se postiže miješanjem. Pritom postoje razne izvedbe miješanja, a najčešće korišteni postupci su potapanje klobuka, prepumpavanje (fr. *remontage*) te tzv. *delestage* postupak tijekom kojeg se fermentirajući mošt potpuno izdvaja iz tanka te kasnije prelijeva preko zaostale komine. Svaki od ovih postupaka imaju određene prednosti i nedostatke, a ovisno o željenim učincima se primjenjuju tijekom proizvodnje crnih vina.

Aroma vina jedan je od glavnih parametara kvalitete vina, a rezultat je različitih interakcija spojeva koji su nositelji okusa i mirisa vina. Aromu vina čine hlapljivi (terpeni, karbonilni spojevi, viši alkoholi, esteri, hlapljivi fenoli, spojevi sa sumporom, hlapljive kiseline) i nehlapljivi spojevi (šećeri, fenolni spojevi, mineralne komponente, organske kiseline). Koncentracija ovih spojeva u vinu ovisi o brojnim faktorima, kao što su sama sorta grožđa, klimatski uvjeti, procesi proizvodnje vina kao i uvjeti dozrijevanja i starenja vina.

Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj načina miješanja masulja na spojeve arome vina Teran. Pritom je ispitan utjecaj potapanja klobuka te *delestage* postupka na koncentraciju estera i viših alkohola. Spojevi arome vina analizirani su primjenom plinske kromatografije s masenom detekcijom (GC-MS).

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. MACERACIJA I TEHNOLOŠKI POSTUPCI

Maceracija je postupak ekstrakcije tvari iz pokožice i pulpe grožđa, a uobičajen je postupak u proizvodnji crnih vina. Pritom se primarno ekstrahiraju polifenolni spojevi, prvenstveno antocijani i tanini, koji su odgovorni za boju i strukturu vina. Osim njih, ekstrahiraju se i drugi spojevi kao što su tvari arome i njihovi prekursori, spojevi s dušikom, polisaharidi (pektini) te mineralni sastojci (Ribéreau-Gayon i sur., 2006). Bitno je ovaj postupak provoditi s oprezom, da se izbjegne ekstrakcija nepoželjnih spojeva koji narušavaju kvalitetu vina. Osim toga, postupak maceracije se provodi kroz dugi period te je nužno da grožđe bude zdravo i bez oštećenja, zbog čega se proces sortiranja grožđa provodi tijekom berbe i primarne prerade grožđa (Reynolds, 2021).

Prema Ribéreau-Gayon i sur. (2006), nekoliko mehanizama definira proces maceracije: (i) ekstrakcija i otapanje različitih tvari (ovise o samoj sorti i zrelosti grožđa te raznim operacijama koje se primjenjuju tijekom proizvodnje vina: intenzitet muljanja grožđa, sulfitiranje, etanol, više temperature te trajanje kontakta krutih i tekućih dijelova); (ii) difuzija ekstrahiranih tvari (ekstrakcija tvari se odvija u komini, pri čemu se prisutna tekuća faza vrlo brzo zasiti ekstrahiranim tvarima te je nužno provoditi miješanje tekuće i čvrste faze čime se osigurava pravilna ekstrakcija); (iii) refiksacija ekstrahiranih tvari na određene tvari u mediju: peteljkovinu, kominu, kvasce te (iv) modifikacija ekstrahiranih tvari (ova hipoteza još uvijek nije do kraja razjašnjena, ali utvrđeno je kako se antocijani mogu reducirati u bezbojne derivate te da etanol može cijepati tanin-antocijanin komplekse ekstrahirane iz grožđa). Koncentracija antocijana i tanina u vinu prvenstveno ovisi o njihovoj koncentraciji u samom grožđu. Zrelo grožđe je prvi uvjet za dobivanje bogatih i obojenih vina. Međutim, samo djelić fenolnog potencijala grožđa je prisutan u vinu - samo 20-30% fenolnih spojeva iz grožđa prenosi se na vino. Njihova koncentracija ne ovisi samo o ekstrakciji fenolnih spojeva, već i o korištenim metodama ekstrakcije (Ribéreau-Gayon i sur., 2006).

Osim navedenog, dva se kemijska čimbenika smatraju odgovornima za ekstrakciju sastojaka pokožice tijekom procesa maceracije: alkohol etanol i sumporov dioksid. Etanol nastaje

tijekom alkoholne fermentacije kao produkt metabolizma kvasaca i ima dvostruki učinak na ekstrakciju: (i) djeluje kao antiseptik ubijajući mikroorganizme u pokožici, pulpi i sjemenkama te (ii) kao otapalo. Kao otapalo, doprinosi otapanju brojnih spojeva, kako polarnih (fenolni spojevi) (Ribereau-Gayon i sur., 2006) tako i lipofilnih (određene arome i prekursure). Također, slabi voštanu kutikulu sjemenki čineći je lakše dostupnom ekstrahiranju (Reynolds, 2021). Pri proizvodnji crnih vina od prezrelog grožđa, kada je alkoholna fermentacija pri kraju, visoke razine alkohola mogu dovesti do prekomjerne ekstrakcije određenih spojeva i povećane prisutnosti manje poželjnih spojeva koji utječu na senzorske karakteristike (Reynolds, 2021). Sumporov dioksid svojim antiseptičkim djelovanjem slabi stanice pokožice i pulpe. To rezultira većom ekstrakcijom spojeva iz čvrstih dijelova bobice (Feuillat, 1998).

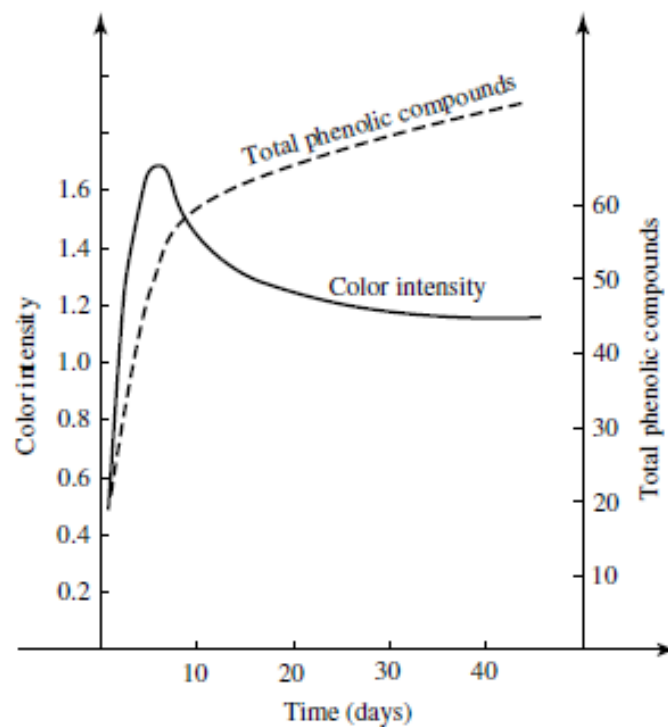
Za kvalitetu crnog vina od značaja su vrijeme trajanja maceracije, temperatura pri kojoj se provodi kao i način i trajanje miješanja mošta. Svi ovi faktori su obično kontrolirani (Clarke i Baker, 2004) te je potreban određeni oprez pri regulaciji kako ne bi došlo do ekstrakcije nepoželjnih spojeva i aroma. Od značaja je i ukloniti strana tijela ili nezdrave bobice iz mošta kako ne bi utjecali na finalnu kvalitetu proizvoda (Reynolds, 2021).

### 2.1.1. Utjecaj vremena trajanja maceracije

Ekstrakcija i otapanje fenolnih spojeva iz krutih dijelova u mošt ovisi o trajanju maceracije, ali odnos između koncentracije fenolnih spojeva i duljine trajanja nije proporcionalan. Utvrđeno je kako se intenzitet obojenja smanjuje nakon prvih 8-10 dana maceracije. Na Slici 1 prikazan je odnos trajanja maceracije i koncentracije fenolnih spojeva te intenziteta boje, a vidljivo je kako intenzitet boje doseže maksimum osmi dan maceracije nakon čega se smanjuje. Nasuprot boji, koncentracija polifenolnih spojeva se konstantno povećava, s tim da je taj rast najizraženiji tijekom prvih dana maceracije, poslije se usporava. Ova razlika rezultat je ekstrakcije tanina koji su prisutni u 10 puta većoj koncentraciji u usporedbi s antocijanima (Ribereau-Gayon i sur., 2006).

Osim toga, različiti organi grožđa (pokožice, sjemenke i stabljike) sadrže specifične fenolne spojeve. Njihova ekstrakcija varira ovisno o različitim uvjetima. Prvo se ekstrahiraju antocijani iz pokožice; etanol nije potreban za njihovo raspuštanje. Ekstrakcija tanina iz pokožice počinje ubrzo nakon toga, a povećanje etanola tijekom fermentacije to olakšava.

Za ekstrakciju tanina iz sjemenke potrebna je relativno duga maceracija, pri čemu je prisutnost etanola potrebna za uklanjanje lipida (Ribéreau-Gayon i sur., 2006).



**Slika 1.** Intenzitet obojenja i koncentracija fenolnih spojeva tijekom 40 dana maceracije (Ribéreau-Gayon i sur., 1970)

Vinar odlučuje koliku maceraciju treba vino. Općenito, dulje maceracije će dovesti do tamnijeg, više fenolnog vina, koje zahtijeva dulje dozrijevanje prije nego što bude spremno za piće. U većini slučajeva maceracija traje između 14 i 28 dana uz temperaturu između 15 °C i 35 °C. Za mlada crna vina koja su namijenjena skorijoj konzumaciji provodi se kraća maceracija, a za starija i ona namijenjena odležavanju nešto dulja (Clarke i Baker, 2004). Maceracija u proizvodnji crnih vina se počinje odvijati prije početka alkoholne fermentacije, te se nastavlja tijekom cijele ili dijela fermentacije. U nekim slučajevima maceracija crnih vina provodi se i nakon alkoholne fermentacije (Clarke i Baker, 2004).

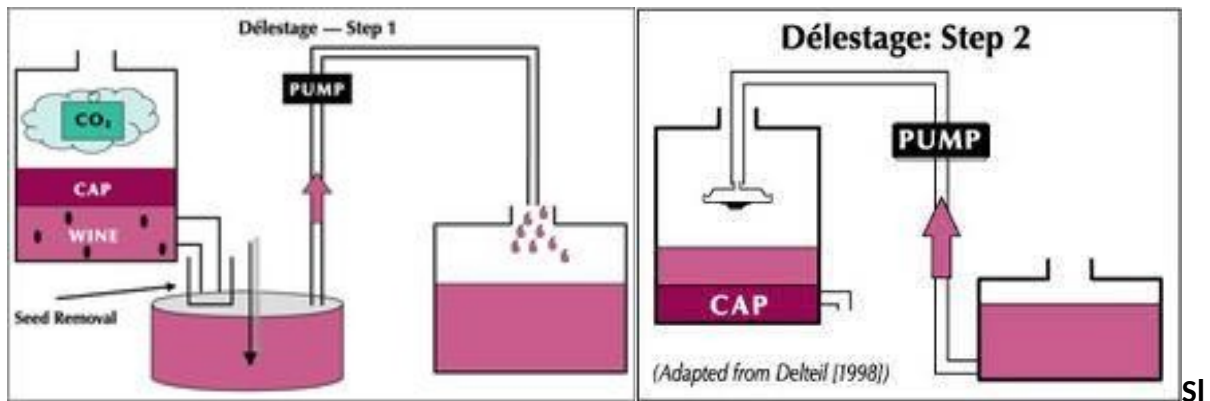
### 2.1.2. Utjecaj postupka miješanja na uspješnost maceracije

Kruti sastojci mošta (pokožice grožđa, sjemenke itd.) bi bez miješanja plutali na vrhu posude zbog ugljikovog dioksida proizvedenog tijekom fermentacije i tvorili bi debeli površinski sloj u literaturi poznat kao klobuk. Nastanak takve tvorevine očit je problem jer bi ekstrakcija

korisnih i poželjnih tvari bila umanjena. Također, prisutan je i izrazito visok rizik od mikroorganizama kvarenja koji se razmnožavaju i u klobuku. Toplina oslobođena tijekom alkoholne fermentacije posebno doprinosi razvoju nepoželjnih mikroorganizama. Stoga je od iznimne važnosti klobuk dovesti u kontakt sa groždanim sokom (Reynolds, 2021). Neke od tehnika, kojima se to postiže, su poprilično jednostavne dok druge zahtijevaju sofisticiranu opremu za fermentaciju, no sve se provode s istim ciljem (Reynolds, 2021).

Jedna od najkorištenijih metoda je tzv. prepumpavanje (engl. *pumping over*), u kojoj se sok ispod klobuka pumpom prepumpava preko njega. Stara je gotovo kao i sama maceracija, a zbog duljine trajanja i potrebnog broja ponavljanja vinari su ju modernizirali. Danas se često obavlja poluautomatski svakih nekoliko sati, a ukupan utrošak vremena diktira veličina posude za fermentaciju, temperatura i sl. (Reynolds, 2021).

*Delestage* ili pod engl. nazivom „*Rack and return*“ druga je tehnika koja se često koristi za vrijeme maceracije i fermentacije crnoga grožđa u kojoj se fermentirani mošt oksigenira (Zoecklein i sur., 2009). „*Rack and return*“ u doslovnom prijevodu znači „Pretoči i vrati“ jer se u praksi cijeli volumen mošta iz tanka istače u drugi tank gdje stoji jedan sat (Bušelić Likar, 2012). Prvi *delestage* provodi se za vrijeme tzv. burne alkoholne fermentacije. Tada pada koncentracija šećera, raste temperatura te se oslobađa ugljikov dioksid. Za ovaj postupak su potrebne tri posude: prva u kojoj se odvija fermentacija, druga koja služi kao među-korak u kojoj se istače i ozračuje fermentirajući mošt te treća posuda u kojoj se mošt ostavlja na fermentaciji bez komine. Od velike je važnosti ocijediti posljednju frakciju mošta koja se nalazi neposredno ispod klobuka jer je najzasićenija taninima koji će se nakon oksigenacije vezati za polimere i postati mekši. Mošt u fermentaciji, a bez komine, vraća se u prvu posudu s kominom u svrhu nastavka maceracije i fermentacije. Na slici 2. je slikovito prikazan *delestage* postupak. Mošt potapa cijeli klobuk, koji se s dna posude pod utjecajem CO<sub>2</sub> diže prema vrhu. Pri tomu dolazi do ekstrakcije antocijana i voćnih estera, a ekstrakcija oštrih tanina svedena je na minimum.



**ika 2.** Shematski prikaz prvog (lijevo) i drugoga (desno) koraka *delestage* tehnike (Zoecklein i sur., 2009).

Vina tretirana ovom tehnikom su mekša, voćnih nota, sa manje izraženom trpkocóm, stabilnije boje te pogodnija za dulje odležavanje (Bušelić Likar, 2012). Postupak se do kraja fermentacije ponavlja jedan do dva puta dnevno (Zoecklein i sur., 2009.)

Potapanje klobuka (engl. *punching down*) iznimno je stara tehnika koja se može pronaći i na ilustracijama iz drevnog Egipta. Ova se tehnika najčešće obavlja ručno, korištenjem inoks potapalice (Slika 3) čija je uloga razbiti klobuk i potopiti ga u vino što omogućava bolju ekstrakciju svih sastojaka. Učestala je praksa klobuk potapati 2 do 3 puta dnevno kroz period obrade ovisno o želji proizvođača za količinom ekstrahiranih tvari, karakteristikama i kvaliteti grožđa kao i tipu vina koji se želi proizvesti. Efikasnost tehnike ovisi o učestalosti i duljini primjene -što su dulje pokožica grožđa i sok u dodiru to će intenzitet boje te koncentracija tanina biti izraženija (Reynolds, 2022).

Suvremeni vinari ovu su tehniku dodatno modernizirali razvojem velikog broja različitih uređaja i posuda za fermentaciju u svrhu pojednostavljenja i automatizacije cijelog postupka (Reynolds, 2021) pa se tako cijeli proces može odvijati u strojno pomoću pumpe za polijevanje.



**Slika 3.** Potapanje crnoga grožđa inoks potpalicom sa ciljem povećanja kontakta pokožice grožđa sa groždanim sokom (Reynolds, 2022).

Termovinifikacija ili vruća maceracija naziv je za tehnološki postupak zagrijavanja masulja pri temperaturi od 60 do 90 °C kroz vremenski period od 10 do 120 minuta. Potom se masulj hladi na temperaturu od oko 60 °C, cijedi, preša te se dobiveni mošt fermentira zasebno. Zagrijavanjem masulja kvasci sadržani na grožđu su visokim temperaturama inaktivirani, stoga je potrebno dodati selekcionirane kvasce kako bi se provela alkoholna fermentacija. Ovim procesom postiže se 100%-tna ekstrakcija antocijana iz pokožice. Zbog niske razine taninskih spojeva, vina prerađena na ovaj način nisu pogodna za dulje dozrijevanje te brzo gube aromu (Herjavec, 2019). Sklona su oksidacijskim promjenama jer se zagrijavanjem grožđa uništavaju oksidaze čime se smanjuju naknadni oksidacijski procesi u vinu (Herjavec, 2019; Ribéreau-Gayon i sur., 2006). Zagrijavanjem grožđa uništavaju se i prirodno prisutni pektolitički enzimi čime je otežano spontano bistrenje ovih vina. Dodatak komercijalnih pektolitičkih enzima djelomično je rješenje toga problema (Ribéreau-Gayon i sur., 2006).

Maceracija pri niskim temperaturama, hladna maceracija ili kriomaceracija u vinskoj industriji koristi se za poboljšanje boje i arome vina te njezina primjena postaje sve popularnija posljednjih godina u razvijenim vinskim regijama. Primjenjuje se 4-10 dana prije alkoholne fermentacije pri temperaturama 5-15 °C. Za razliku od alkoholne ekstrakcije, ovaj postupak podrazumijeva vodenu ekstrakciju komponenti boje i polifenola iz bobice grožđa (Cai i sur, 2014). Cilj ovoga postupka je odgađanje početka alkoholne fermentacije održavanjem niske temperature i adekvatne koncentracije SO<sub>2</sub> te odgađanje inokulacije aktivnog kvasca (Ribéreau-Gayon i sur., 2006). Najčešće primjenjivan oblik ovog tehnološkog

procesa je snižavanje temperature na 5°C uvođenjem tekućega CO<sub>2</sub> ili suhoga leda uz održavanje iste temperature kroz 5-15 dana. Zagrijavanjem mošta na sobnu temperaturu započinje fermentacija. Stabilizacijom mošta sa velikim količinama SO<sub>2</sub> nakon maceracije postiže se jača obojenost onih vina koja inače nemaju to obilježje (Ribéreau-Gayon i sur., 2006).

## 2.2. AROMA VINA

Tvari arome su izrazito bitne u definiranju kvalitete i karaktera vina, kao i razlikovanju više različitih vina (Komes i sur., 2015). Aromu vina čine spojevi koji potječu iz samoga grožđa, zatim oni koji nastaju metabolizmom kvasaca i bakterija tijekom alkoholne i jabučno-mliječne fermentacije te spojevi koji nastaju tijekom odležavanja i starenja vina. Prema fazama nastajanja aroma se klasificira kao primarna, sekundarna, aroma fermentacije te aroma starenja (Clarke i Baker, 2004).

Primarnu aromu vina čine hlapljivi spojevi koji potječu iz grožđa, a nosioci su sortne arome kao i prekursora arome. Sekundarna aroma razvija se tijekom obrade grožđa tijekom procesa runjenja, muljanja i prešanja, a kao posljedica kemijskih i enzimatsko-biokemijskih reakcije, a zajedno sa primarnom aromom čini tzv. sortnu aromu grožđa. Glavni predstavnici sortne arome su: monoterpeni (cvjetna i voćna aroma), norizoprenoidi (slatka i voćna aroma), C<sub>6</sub>-alkoholi (vegetativna i aroma po svježe pokošenoj travi), metokspirazini (vegetativna, aroma po travi te zelenom papru) te sortni tioli (aroma po grejpu, guavi, marakuji) (Álvarez-Pérez i sur., 2012; Polášková i sur., 2008; Murat i sur., 2001; Tominaga i sur., 1998, 2000). Koncentracija spojeva sortne arome ovisi o samoj sorti i zdravstvenom stanju grožđa, geoklimatskim uvjetima te zrelosti grožđa (Ribéreau-Gayon i sur., 2006). Na njihovu koncentraciju u vinu, pored navedenog, utječe i tehnološki proces prerade i njege vina. Od enoloških postupaka, bitno je istaknuti maceraciju i prešanje. Duže vrijeme maceracije, kao i primjena viših tlakova pri procesu prešanja rezultiraju i većom koncentracijom spojeva sortne arome kao i njihovih prekursora u moštu.

Aroma fermentacije nastaje tijekom alkoholne i jabučno-mliječne fermentacije, pri čemu dolazi do ekstrakcije spojeva iz krutih dijelova mošta, cijepanja prekursora primarne arome te sinteze mnogobrojnih hlapivih spojeva djelovanjem metabolizma kvasaca (Swiegers i sur., 2006). Hlapivi spojevi, nastali kao produkt metabolizma kvasaca i bakterija, uključuju: više



alkohole (cvjetna i aroma po marcipanu), srednje- i dugolančane masne kiseline (slatka i aroma po siru), estere (voćna i cvjetna aroma) i aldehide (voćna te aroma po maslacu i orašastim plodovima) (Delfini i sur., 2001; Lambrechts i Pretorius, 2000). Koncentracija hlapivih spojeva nastalih za vrijeme alkoholne fermentacije ovisi o brojnim faktorima, kao što su udio dušika u moštu, temperatura fermentacije i soj kvasca koji provodi fermentaciju (Lambrechts i Pretorius, 2000; Sweigers i sur., 2006). Najznačajniji predstavnici ove arome u vinu su esteri. Nositelji su voćne note te karakterističnog „otiska prsta“ svakog pojedinog vina (Frangipane i Santis, 2010). Tijekom fermentacije u velikoj mjeri nastaju acetatni esteri viših alkohola (npr. etil acetat) (Wang i sur., 2002) i etil esteri ravnolančanih masnih kiselina (npr. etil heksanoat, etil oktanoat, etil dekanoat) (Lambrechts i Pretorius, 2000). Osim estera, bitno je istaknuti i više alkohole koji su kvantitativno najznačajniji predstavnici fermentacijske arome. U optimalnim koncentracijama u vinu (ispod  $300 \text{ mg L}^{-1}$ ) pozitivno utječu na aromu vina dajući joj voćne karakteristike, dok su u višim koncentracijama (iznad  $400 \text{ mg L}^{-1}$ ) nositelji snažnog i oštrog mirisa vina (Nykänen, 1986). 1-butanol, *i*-amil alkohol, 2-fenil etanol neki su od predstavnika viših alkohola u vinu (Sweigers i sur., 2006).

Aroma starenja oblikuje se tijekom dozrijevanja i skladištenja. Glavni utjecaj na aromu starenja imaju enzimatske i fizikalne reakcije vina u drvu ili u boci (Clarke i Baker, 2004). Općenito se smatra da starenjem vina dolazi do gubitka karakterističnih aroma nastalih za vrijeme primarne obrade i fermentacije, te formiranja novih spojeva karakterističnih za aromu starenja ili do pojave negativnih aroma koje nastaju kvarenjem vina, pri čemu najvažniju ulogu ima proces oksidacije (Escudero i sur., 2002).

Organoleptička svojstva crnih sorti vina u velikoj su mjeri povezana s polifenolnim i hlapivim spojevima (Alvarez i sur., 2005), a boja u mladim crnim vinima povezana je s koncentracijom antocijana i indeksom ionizacije (Boulton, 2001). Tijekom maceracije mošta raste udio aromatskih spojeva zbog njihove ekstrakcije iz pokožice grožđa kao što tijekom alkoholne fermentacije, prouzrokovanog radom kvasaca, raste udio hlapivih sastavnica u vinu (Petrooulos, 2014). Neke aromatske sastavnice direktno potječu iz grožđa dok se neke formiraju tijekom fermentacije i starenja (Rapp, 1998).

Temperatura, vrijeme i intenzitet maceracije imaju utjecaj na svojstva vina koje će nastati. Tijekom procesa vinifikacije, odabirom odgovarajuće tehnike i uvjeta, mogu se ekstrahirati velike količine boje i tanina koji će dati doprinos strukturi vina kao i stabilnosti njegove boje bez da ono postane gorko i oporo (Alvarez i sur., 2005). Također, mnogi predfermentativni

tehnološki postupci koji uključuju dodatak određenih sojeva kvasaca, enzima, hrastovih strugotina kao i bistrenje vina daju doprinos koncentraciji aromatskih spojeva (Zoecklin i sur., 1998).

Prema istraživanju Petropulos i sur. (2014) trajanje postupka maceracije najviše je utjecalo na koncentraciju spojeva arome ispitivanog crnog vina (među njima viših alkohola, estera i masnih kiselina), a prisutnost hrastovih strugotina dodatno je pospješila njihovo formiranje.

### **2.3. SORTA TERAN**

Sorta Teran podrijetlom je vjerojatno iz Italije. Na području Republike Hrvatske raširena je u Istri i Slovenskom primorju. Prisutna je u gotovo svim istarskim vinogorjima, a posebno je karakterističan za područje Motovuna. Pretpostavka je da je tomu tako zbog posebnog položaja pod utjecajem mediteranske i kontinentalne klime (Fazinić i Milat, 1994).

U vrijeme Austro-Ugarske Monarhije Teran crni bio je najraširenija istarska sorta i vrlo cijenjeno vino, posebice u Trstu. Danas je treća najzastupljenija istarska sorta. Smatra se da je za širenje površine uzgoja zadužena njegova autohtonost i posebnost kao i visoka kvaliteta dobivenih vina kakva se postiže posljednjih godina (Maletić i sur., 2015). Teran danas na području Istre zauzima površinu od 233,98 ha sa 982.986 trsova (Vinogradarski registar, 2021).

Prema Maletić i sur. (2014) sorta vina Teran morfološki, fiziološki i gospodarski razlikuje dva klona- Teran i Refošk. Vrlo izražena morfološka razlika između Terana i Refošk jest dlakavost unutarnje strane lista Terana, dok je list Refoška gladak. List i plod sorte Teran prikazani su na Slici 4.

S vegetacijom počinje srednje rano, a dozrijeva kasno (u IV. razdoblju). Jako je bujna sorta, dugih internodija (naziv za bezlisni dio stabljike između dva nodija ili čvora koja nose list/listove) na mladici. Relativno je otporna na vanjske utjecaje jer ne pokazuje izraženu osjetljivost na gljivične bolesti te obično ne stradava od smrzavanja (Maletić i sur., 2014). Vino dobiveno od sorte Teran prepoznatljivo je po intenzivno rubin crvenoj boji (tzv. boji zečje krvi) te vrlo značajnom sortnoj aromi. Aromu opisuje izraženost, finoća i prepoznatljivost sa zamjetnim voćnim karakterom kojim dominira miris maline i papra. Visok sadržaj kiselina i tanina daju mu „zaobljenost“ te okus koji se opisuje kao jak, pun i robustan (Fazinić i Milat, 1994).



**Slika 4.**List i plod sorte Teran (Maletić i sur., 2015).

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. MATERIJAL

##### 3.1.1. Uzorci vina

U istraživanju vina korišteno je 5 uzoraka vina sorte Teran iz 2021 .godine. Grožđe je ubrano u fazi tehnološke zrelosti krajem rujna 2021. godine. Odmah po dopremanju grožđa u vinariju provedeno je runjenje i muljanje te je dobiveni masulj prebačen u inoks tankove. Prerađenom grožđu dodan je vinobran (kalijev metabisulfit) u koncentraciji od 40 mg/L ukupnog SO<sub>2</sub>.

Nakon toga provedena je spontana alkoholna fermentacija i maceracija uz dvije procesne varijante miješanja masulja:

- (i) potapanje komine primjenom inoks potapalice kojom se postiže razbijanje klobuka i njegovo potapanje u vino
- (ii) (ii) tzv. *delestage* tehnika kojom se cijela količina fermentirajućeg mošta izdvoji iz tanka u drugi tank gdje se zadržava kroz jedan sat; nakon sat vremena, fermentirajući mošt se vraća u tank i prelijeva preko zaostale komine.

Navedeni postupci ponavljani su dva puta dnevno do završetka alkoholne fermentacije.

Uzorci za kemijske analize su izuzeti u nekoliko točaka:

- (i) nakon 3 dana maceracije/fermentacije
- (ii) nakon 5 dana maceracije/fermentacije
- (iii) nakon 7 dana maceracije/fermentacije
- (iv) nakon prešanja (25. dan od početka maceracije/fermentacije)
- (v) nakon prvog pretoka (28. dan od početka maceracije/fermentacije)

Nakon izuzimanja, uzorci su zamrznuti i takvi dopremljeni u laboratorij gdje su čuvani na temperaturi -20 °C prije analize.

### 3.1.2. Instrumenti i pribor

Za određivanje hlapivih tvari vina, korišteni su sljedeći instrumenti i pribor:

- o Analitička vaga, Metler Toledo ( $\pm 0,0001$  g), Columbus, OH, SAD,
- o Plinski kromatograf (GC), Agilent Technologies 6890 Network GC System, Santa Clara, CA, SAD,
- o Maseni spektrometar, Agilent Technologies 5973 *Inert* Mass Selective Detector, Santa Clara, CA, SAD,
- o SPME vlakno: 100  $\mu$ m PDMS, 23 Ga, Supelco, Bellefonte, PA, SAD,
- o Termoblok s magnetskom miješalicom, Pierce, Reacti-Therm, Heating/Stirring module, No. 18971, Rockford, IL, SAD
- o Magnet,
- o Mikropipete, 10-100  $\mu$ L, 100-1000  $\mu$ L, Eppendorf, Hauppauge, NY, SAD,
- o HSS bočice, 20 mL, Restek, Bellefonte, PA, SAD,
- o Silikonski čepovi za HSS bočice, Düren, Njemačka,
- o Graduirana pipeta od 10 mL

### 3.1.3. Kemikalije

- o Natrijev klorid- „Carlo Erba“, čistoće > 99,5 %, Vale de Reuil, Francuska,
- o n-amil alkohol- „Kemika“, (interni standard), St. Louis, SAD,
- o Etanol- HPLC grade, J. T. Baker, Deventer, Nizozemska

## 3.2. METODE

### 3.2.1. Određivanje spojeva arome primjenom mikroekstracije na čvrstoj fazi i plinske kromatografije s masenom detekcijom (SPME-GC/MS)

Hlapivi spojevi u uzorcima vina analizirani su pomoću plinske kromatografije s masenom detekcijom tj. SPME GC/MS analize.

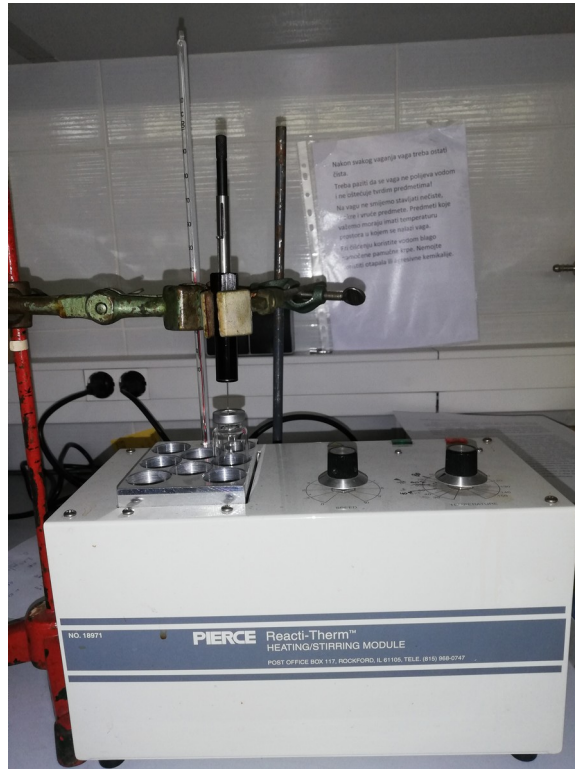
U ovom eksperimentu plin nosioc (pokretna faza) je inertni plin helij. Njegov protok podešen je na  $1,2 \text{ mL min}^{-1}$ . Kolona korištena za analizu je BP20 dimenzija  $50 \text{ m} \times 220 \text{ }\mu\text{m} \times 0,25 \text{ }\mu\text{m}$  (SGE Analytical Science, Victoria, Australija).

Tijekom analize korišten je sljedeći temperaturni program kolone: početna temperatura je bila  $40 \text{ }^\circ\text{C}/5 \text{ min}$ , nakon toga se temperatura podizala  $3 \text{ }^\circ\text{C}$  u minuti do  $200 \text{ }^\circ\text{C}$ . Temperatura injektora je bila  $250 \text{ }^\circ\text{C}$ , a temperatura masenog detektora je bila  $280 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Kompjuterskom obradom dobivenih podataka ,metodom internog standarda (n-amil alkohola), u programu Enhanced ChemStation (Agilent Technologies) kvantificirani su dobiveni rezultati. Nepoznati spojevi identificirani su tako što su uspoređeni maseni spektri dobivenih pikova s onima iz arhive programa uz uvjet da su oni već detektirani u vinu. Rezultati su potom obrađeni u programu Excel gdje su izrađeni grafovi ovisnosti koncentracije pojedinog spoja ( uzeta je srednja vrijednost koncentracija dviju paralela za svaki pojedini uzorak ) u vinu o danu maceracije (kasnije prešanje/pretok). Uzorci su nazvani prema tehnološkim tretmanima koji su varirani: P (potapanje) i D (*delestage*). Eksperiment je vršen tzv. *Splitless mode* načinom injektiranja gdje se na kolonu unosi cijeli uzorak.

### 3.2.2. Prirema uzorka

U tikvicu volumena  $50 \text{ mL}$  otpipetiran je dio uzorka kojem je mikropipetom dodan n-amil alkohol (interni standardi) u koncentraciji od  $0,5 \text{ mg/L}$ . Potom je tikvica nadopunjena uzorkom do oznake. Nakon toga je odvagano  $2 \text{ g NaCl}$  u HSS bočicu te dodano  $10 \text{ mL}$  uzorka s internim standardom. HSS bočica s uzorkom stavljena je na adsorpciju na SPME vlakno pri  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  kroz  $30 \text{ minuta}$  uz konstantno miješanje (Slika 5 i Slika 6). Nakon pola sata SPME vlakno je preneseno u injektor plinskog kromatografa gdje se provedena desorpcija kroz pet minuta.



Slika 5. Aparatura za adsorpciju uzorka vina na SPME (vlastita fotografija)



Slika 6. Uvećani prikaz adsorpcije na SPME vlakno (vlastita fotografija)

#### 4. REZULTATI I RASPRAVA

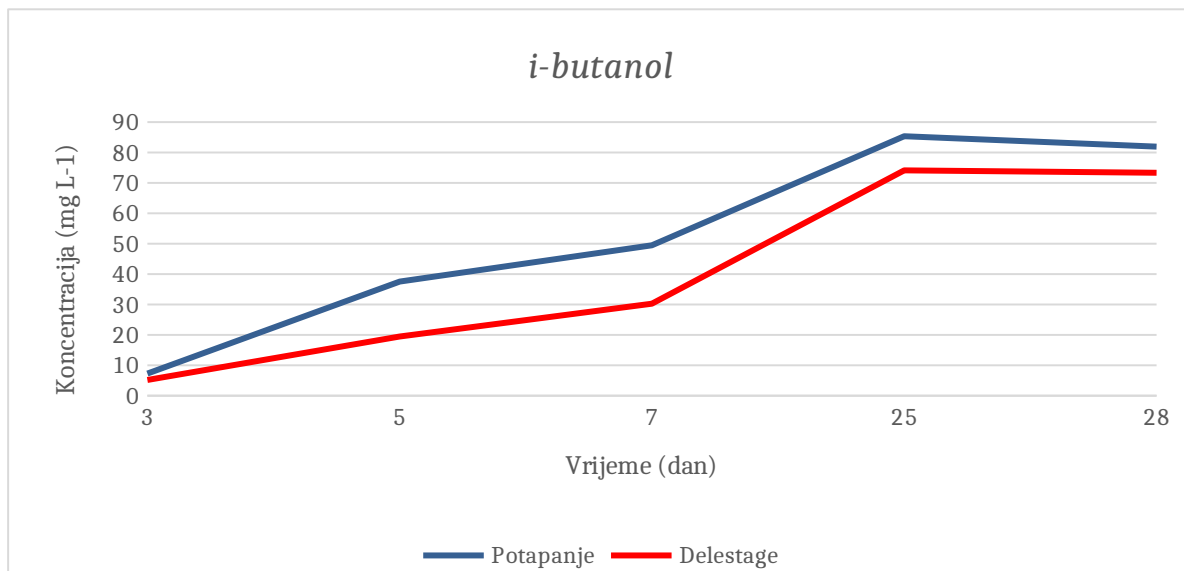
U ovom radu određeni su spojevi arome u uzorcima vina Teran izuzetim iz različitih faza proizvodnje vina (3., 5. i 7. dan maceracije/fermentacije, nakon prešanja te nakon prvog pretoka). Ukupno je analizirano pet uzoraka vina, a u uzorcima su identificirana i kvantificirana četiri viša alkohola (i-butanol, i-amil alkohol, 2-feniletanol i 1-heksanol) te četiri estera (etil acetat, etil heksanoat, etil dekanat te etil oktanoat) te acetatni ester 2-feniletil acetat.

Općenito, viši alkoholi u vinu nastaju na dva načina: metabolizmom ugljikohidrata (anabolički), pri čemu nastaje oko 35 % viših alkohola te transformacijom (dezaminacijom i dekarboksilacijom) odgovarajućih aminokiselina (katabolički) – Ehrlichovom reakcijom (Ribéreau-Gayon i sur., 2006). Ovi spojevi doprinose pozitivno ili negativno aromi vina, a to ovisi o ukupnoj koncentraciji u kojoj su prisutni: niže koncentracije (do 300 mg L<sup>-1</sup>) doprinose kompleksnosti vina i imaju pozitivan učinak, dok više koncentracije (preko 400 mg L<sup>-1</sup>) rezultiraju negativnom aromom (oštra, opora) (Swiegers i Pretorius, 2005).

Utvrđeno je kako je sinteza viših alkohola iz aminokiselina vezana uz eksponencijalnu fazu rasta kvaščeve biomase (Vollbrecht i Radler, 1973) što potvrđuju i rezultati dobiveni u ovom istraživanju, gdje je utvrđen porast koncentracije gotovo svih viših alkohola tijekom alkoholne fermentacije.

Koncentracija **i-butanola** u analiziranim uzorcima prikazana je na Slici 7. Vidljivo je kako je koncentracija ovog spoja viša u uzorcima kod kojih je provedeno potapanje, u usporedbi s *delestage* postupkom. U istraživanju koje su proveli Cai i sur. (2014) također je utvrđeno kako postupak miješanja masulja ima značajnu ulogu za koncentraciju ovog spoja. Navedeni autori su istraživali utjecaj potapanja i prepumpavanja na aromu vina Cabernet Sauvignon. Pritom su utvrdili kako je postupak prepumpavanja rezultirao čak 80 % višim koncentracijama, u usporedbi s potapanjem. Nadalje, vidljivo je kako se tijekom samog postupka maceracije i alkoholne fermentacije koncentracija i-butanola konstantno povećava, a ostaje slična tijekom narednog perioda dozrijevanja, što je u skladu s prethodno navedenim istraživanjem (Vollbrecht i Radler, 1973). Osim toga, više koncentracije i-butanola su utvrđene i u uzorcima nakon dužeg vremena maceracije (7 i 14 dana) (Petropulos i sur., 2014 )

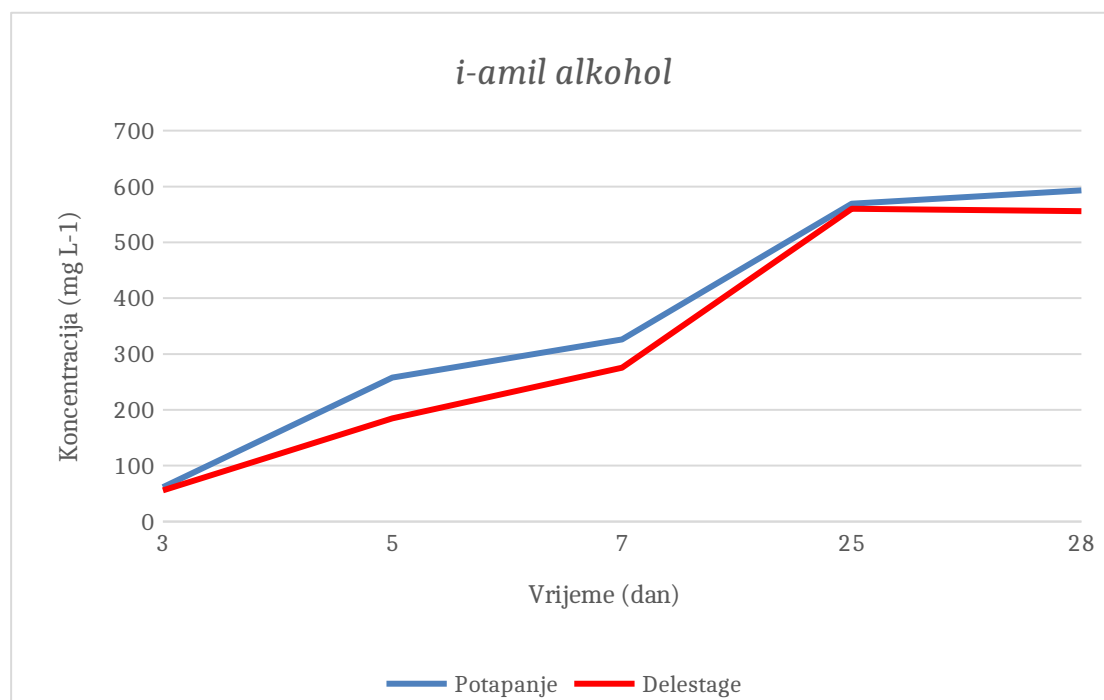




**Slika 7.** Koncentracija *i-butanola* ( $\text{mg L}^{-1}$ ) u uzorcima vina prerađenih tehnološkim postupcima potapanja (plava krivulja) ili *delestage* (crvena krivulja) u ovisnosti o danu prerade grožđa

Prema rezultatima prikazanim na Slici 8, koncentracije ***i-amil alkohola*** dosta su visoke kod obiju tehnika; brzo rastu kroz promatrani period. Nešto više koncentracije primjetne su u uzorcima proizvedenim primjenom tehnike potapanja, a koncentracije konstantno rastu kako se odvijaju maceracija i fermentacija. Prema radu koji je istraživao promjene u koncentracijama komponenti arome vina Muškat ruža porečki (Radeka i sur., 2012) također je došlo do znatnog porasta koncentracije *i-amil alkohola* u uzorcima koji su tretirani tehnikama fermentativne maceracije na sobnoj temperaturi kao i predfermentativnom kriomaceracijom, obje u trajanju od 1, 3 i 5 dana. Alvarez i sur (2006) istraživali su utjecaj predfermentativnih tehnika i vremena maceracije na sastav crnoga vina Monastrell. Mošt je podvrgnut hladnoj maceraciji pri 6–8 °C te hladnoj maceraciji pri 0–2 °C uz dodatak suhog leda kroz period od 4 i 8 dana. Rezultati su pokazali značajan porast koncentracije *i-amil alkohola* nakon tretmana u svim vinima neovisno o zrelosti grožđa. Uspoređujući izmjerene koncentracije u ovome eksperimentu s podacima u literaturi (Lambrechts i Pretorius, 2000) pretpostavka je da će ovaj uzorak vina Terana imati izraženiji miris marcipana jer se on povezuje upravo s ovim višim alkoholom. U konačnici ovaj spoj detektiran je u eksperimentiranim uzorcima u kvantitativno najvećoj koncentraciji. Usporedbom s drugim autorima i istraživanjima, koncentracija višeg alkohola *i-amil alkohola* također je relativno

visoka u crnim vinima (Radeka i sur., 2012; Petropoulos i sur., 2014). Alvarez i sur. (2006) istaknuli su pozitivan doprinos koncentracije viših alkohola na voćnu aromu crnih vina.

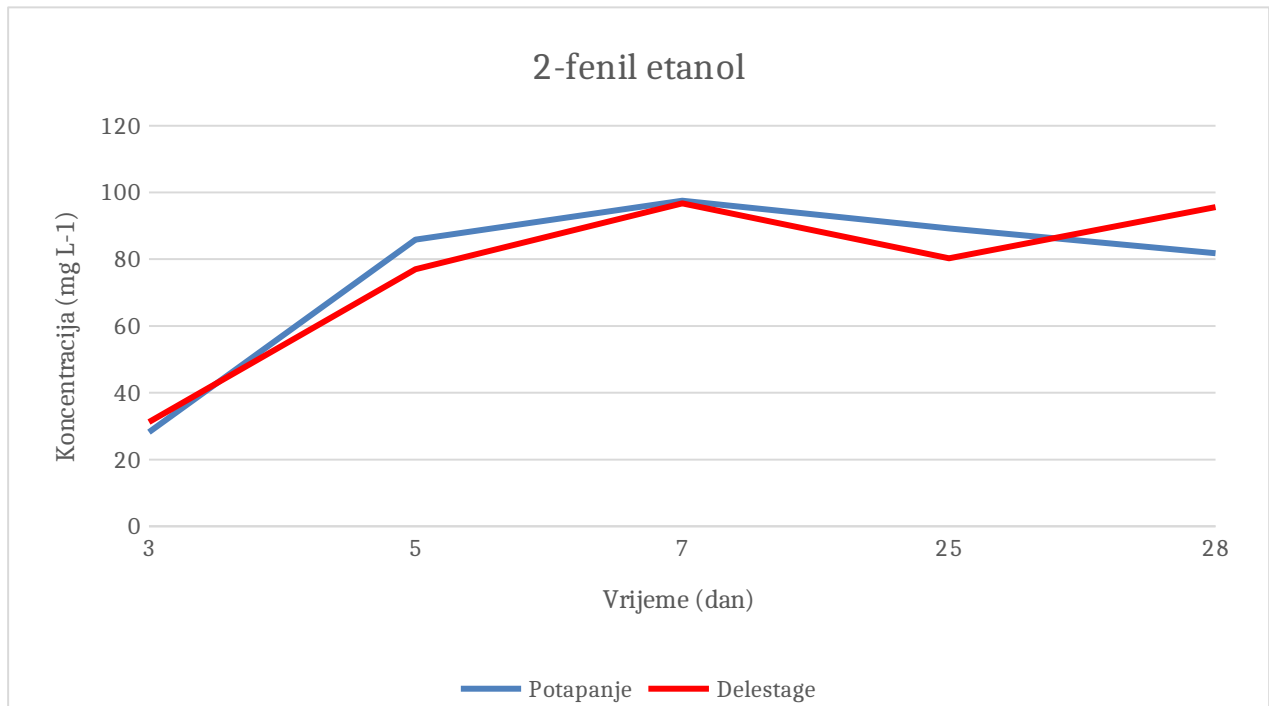


**Slika 8.** Koncentracija *i*-amil alkohola (mg L<sup>-1</sup>) u uzorcima vina prerađenih tehnološkim postupcima potapanja (plava krivulja) ili *delestage* (crvena krivulja) u ovisnosti o danu prerade grožđa

Koncentracija 2- fenil etanola povećavala se kako se proces alkoholne fermentacije odvijao što je vidljivo na Slici 9. Ovi rezultati poklapaju se s onima dobivenim za vino Muškati ruža porečki (Radeka i sur., 2012) kao i za vino Monastrell (Alvarez i sur., 2006) gdje je također došlo do porasta koncentracije ovog spoja nakon provedenih predfermentativnih tretmana. U radu u kojem su analizirane komponente vina bijele sorte Chardonnay (Ramey i sur., 1986) koncentracija 2-fenil etanola je također rasla kako je maceracija napredovala, a istraživanje je pokazalo veće početne brzine ekstrakcije kao i veću konačnu koncentraciju 2-fenil etanola na višim temperaturama. U navedenom eksperimentu grožđe je nakon muljanja i runjenja macerirano kroz 20 do 25 sati na četiri različite temperature između 9 °C i 30 °C, potom prešano te podvrgnuto alkoholnoj fermentaciji, u identičnim uvjetima.

Prema istraživanju Wang i sur. (2016) ukupna koncentracija alkohola se povećala duljim vremenom maceracije tako da bi vrijeme maceracije i temperatura trebali biti strogo kontrolirani. Posljedično će koncentracija 2-fenil etanola u detektiranim koncentracijama

utjecati na izraženiji cvjetni miris po ruži (Lambrechts i Pretorius, 2000, Ramey i sur., 1986).



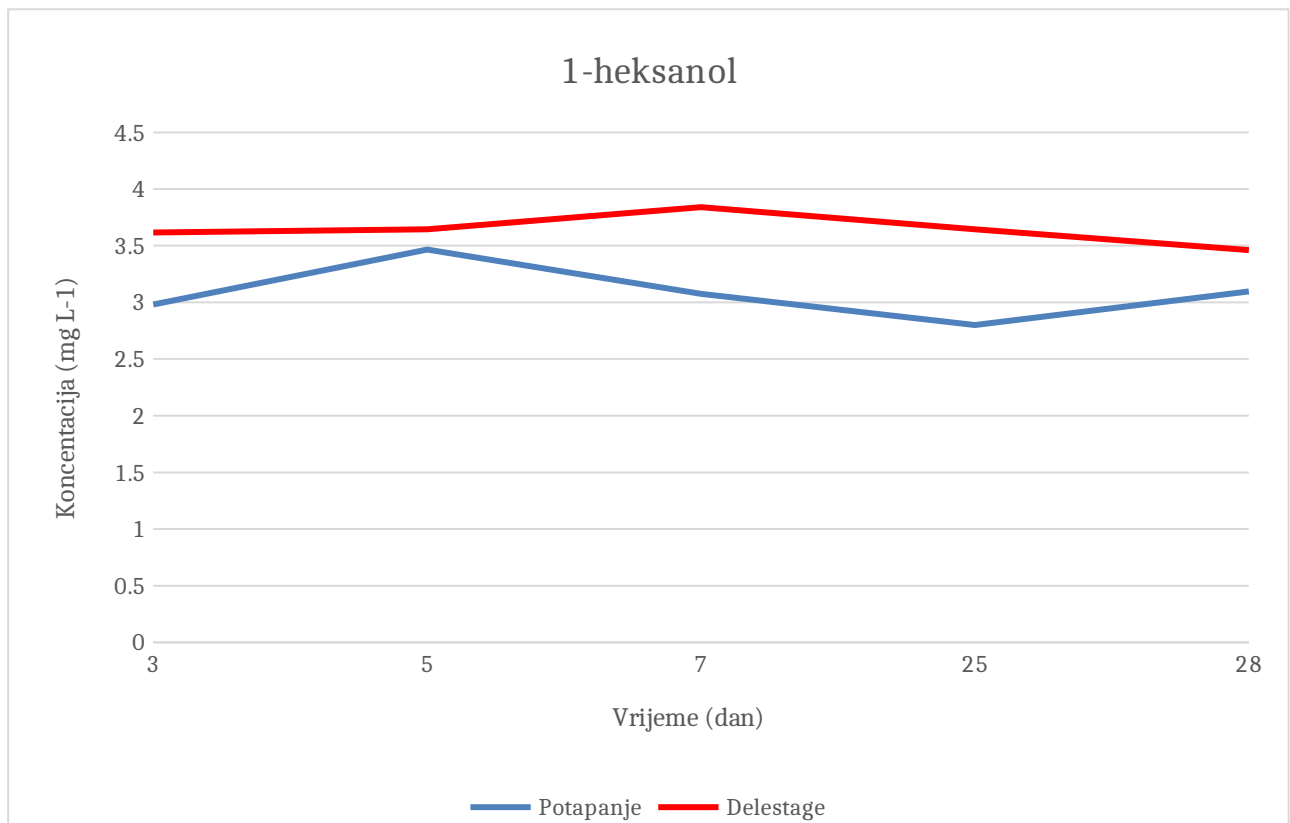
**Slika 9.** Koncentracija **2-fenil etanola** ( $\text{mg L}^{-1}$ ) u uzorcima vina prerađenih tehnološkim postupcima potapanja (plava krivulja) ili *delestage* (crvena krivulja) u ovisnosti o danu prerade grožđa

Alkoholi sa 6 ugljikovih atoma nastaju tijekom faza prerade koji prethode alkoholnoj fermentaciji poput berbe, transporta, muljanja i runjenja, prešanja, zagrijavanja mošta ili maceracije grožđa (Oliveira i sur., 2000) te se viša koncentracija ovih spojeva povezuje uz prisutnost drvenastih dijelova te lišća u vinu ili moštu (Garcia Carpintero i sur., 2012).

Koncentracija glavnog predstavnika ove skupine spojeva- **1-heksanola** u ovom eksperimentu nije se drastično promijenila kroz period od 28 dana, a nešto više koncentracije kvantificirane su u uzorcima proizvedenim primjenom *delestage* tehnike (Slika 10).

Prema istraživanju Petropulos i sur. (2014) koncentracija 1-heksanola blago i nezamjetno se povećava od 4. do 14. dana maceracije u vinu Vranac, nakon čega slijedi blagi pad koncentracije vina maceriranog kroz 30 dana.

Uočeno blago smanjenje alkohola u vinima maceriranim dulje vrijeme maceracije (14 i 30 dana) podudara se s istraživanjem (Radeka i sur., 2012) gdje se kao mogući razlog smanjenja koncentracije navodi vezanje alkohola na makromolekule.



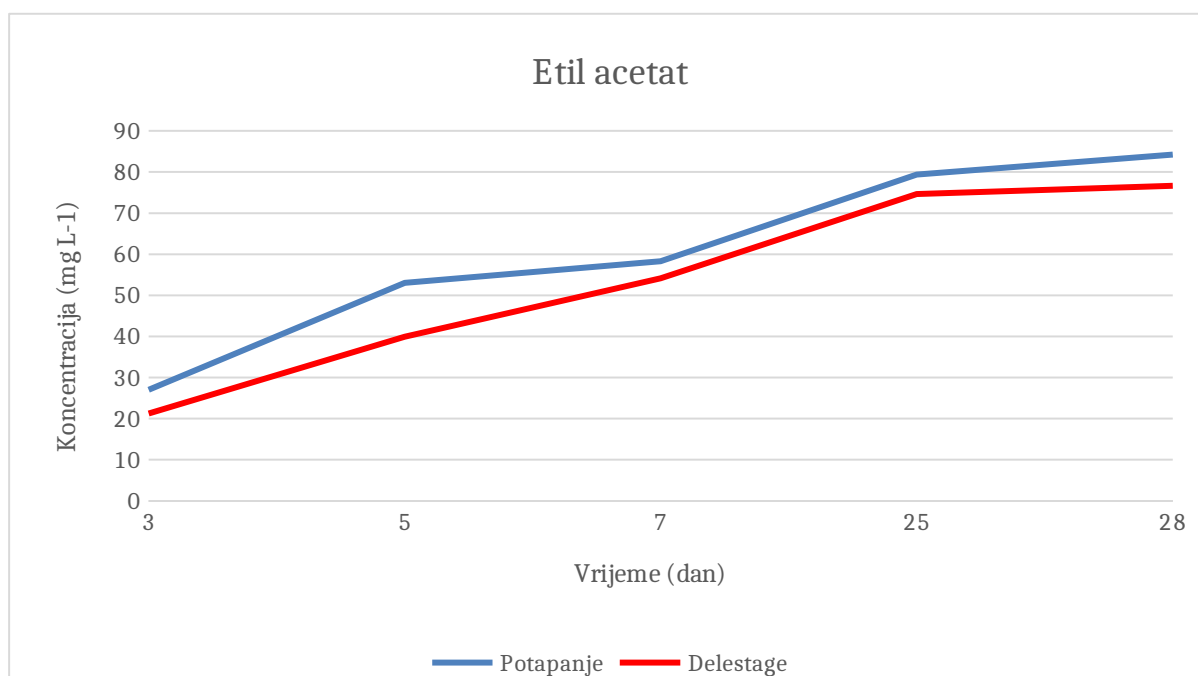
**Slika 10.** Koncentracija **1-heksanola** ( $\text{mg L}^{-1}$ ) u uzorcima vina prerađenih tehnološkim postupcima potapanja (plava krivulja) ili *delestage* (crvena krivulja) u ovisnosti o danu prerade grožđa

Esteri u vinu uglavnom nastaju biosintezom tijekom alkoholne fermentacije (Wang i sur., 2016). Nositelji su nježnih "voćnih" i "cvjetnih" mirisa te utječu na senzorska svojstva i aromatičnu finoću vina (Cai i sur., 2014). Prema literaturnim izvorima (Rapp i sur., 1985) koncentracija estera u vinu nije pod izravnim utjecajem vremena provedene maceracije te bi duže vrijeme maceracije moglo dovesti do smanjene koncentracije acetata viših alkohola kao i etil estera masnih kiselina. Zaključak je također u skladu sa studijom (Petropulus i sur., 2014) gdje je koncentracija nekih estera smanjena kao mogući rezultat neenzimske hidrolize. U prethodno spomenutom istraživanju, primjenom predfermentativnih postupaka maceracije, došlo je do pada u koncentraciji estera 2-fenil acetata, etil oktanoata i etil dekanooata.

U radu Wang i sur. (2016) u kojem je analizirana bijelo vino Chenin blanc proizvedenom primjenom hladne maceracije i tehnike odvojene fermentacije prije miješanja masulja također je koncentracija estera pala nakon provedenih procesa što je u suprotnosti sa

slučajem nakon provedenog produljenog kontakta groždanog soka sa pokožicom tijekom fermentacije gdje se koncentracija estera povećala. U istraživanju utjecaja predfermentativne maceracije, autohtonih kvasaca te dodatka antioksidansa (glutaciona i sumporov dioksid) utvrđen je sličan zaključak (Tomašević i sur., 2017).

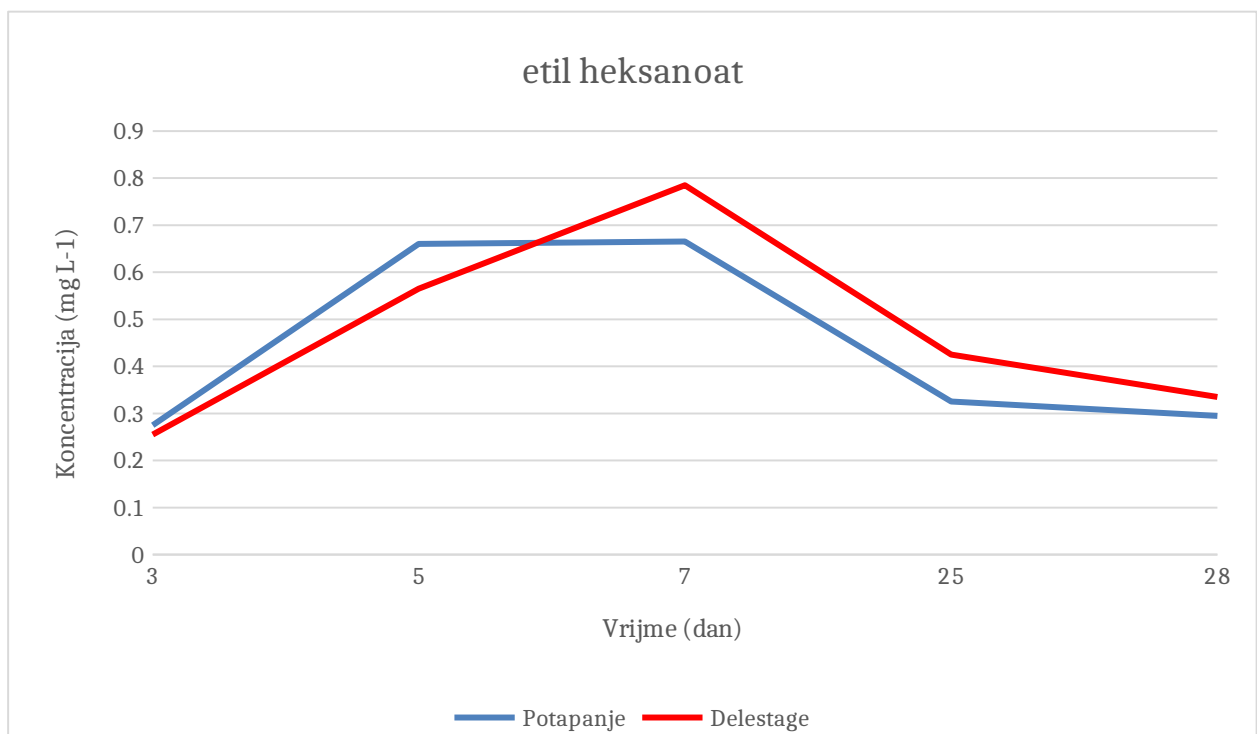
Prema rezultatima ovoga istraživanja, koncentracija estera **etil acetata** pak identično raste u oba slučaja (i u onom koji je tretiran *delestage* tehnikom i u onom tretiranom potapanjem komine). Viša koncentracija spoja primjetna je u uzorku proizvedenom primjenom tehnike potapanje, no krivulje su poprilično usklađene (Slika 11). Kao i u ostalim sortama crnoga vina (Zhang i sur., 2011; Petropulos i sur., 2014) ovaj je spoj u kvantitativno dominantan među esterima. Petropulos i sur. (2014) navode kako u vinu Vranac koje su analizirali nema značajne promjene u koncentraciji ovoga estera ovisno o vremenu provedene maceracije kao i dodatku enzima strugotina hrasta, što je oprečno rezultatima ovoga rada.



**Slika 11.** Koncentracija **etil acetata** ( $\text{mg L}^{-1}$ ) u uzorcima vina prerađenih tehnološkim postupcima potapanja (plava krivulja) ili *delestage* (crvena krivulja) u ovisnosti o danu prerade grožđa

Koncentracija spoja **etil heksanoat** (Slika 12.) rasla je do 7.dana maceracije/fermentacije, a nakon toga je počela opadati. Uzorci tretirani tehnikom *delestage* dosegli su više

koncentracije ovoga spoja, dok je u uzorcima tretiranim tehnikom potapanja koncentracija etil heksanoata već u 5. danu dosegla maksimalne vrijednosti nakon čega se smanjivala. Ovaj spoj je nositelj mirisa banane, jabuke, ljubice (Lambrechts i Pretorius, 2000). Prema istome izvoru senzorski prag za etil heksanoat iznosi  $0,08 \text{ mg L}^{-1}$  te se može zaključiti da doprinosi senzorskim karakteristikama analiziranih vina. Nadalje, vina Karaoglan macerirana kroz 5 dana imala su značajno više vrijednosti koncentracija skoro svih detektiranih spojeva (osim alkohola sa 6 ugljikovih atoma i etil estera masnih kiselina) od onih vina koja su macerirana kroz vremenski period od 10 i 15 dana što je trend zamjetan i u ovom istraživanju (Yilmaztekin i sur., 2015).

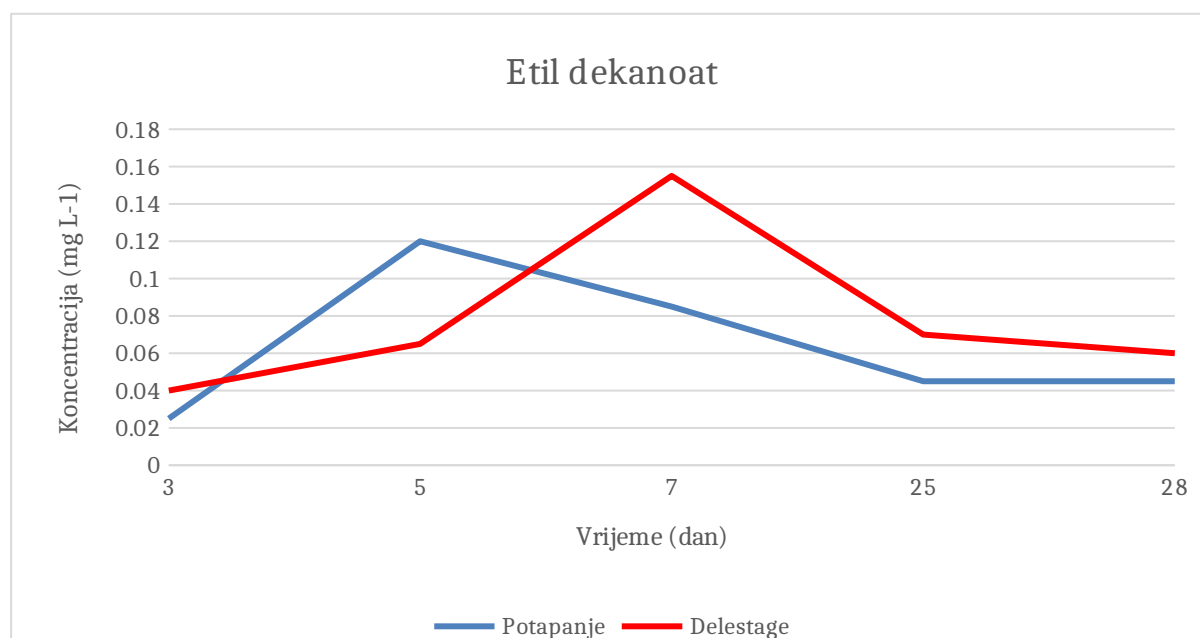


**Slika 12.** Koncentracija **etil heksanoata** ( $\text{mg L}^{-1}$ ) u uzorcima vina prerađenih tehnološkim postupcima potapanja (plava krivulja) ili *delestage* (crvena krivulja) u ovisnosti o danu prerade grožđa

Rezultati ovoga istraživanja pokazuju kako je koncentracija **etil dekanata** (Slika 13) u analiziranim uzorcima vina u kojima je proveden tehnološki postupak *delestage* rasla do 7. dana maceracije/fermentacije nakon čega je krenula opadati. Koncentracija istoga spoja u vinima proizvedenim postupkom potapanja, u ovome istraživanju, rasla je do 5. dana maceracije/fermentacije nakon kojega je krenula opadati. Etil dekanat je, uzevši u obzir

svih 9 u ovome eksperimentu kvantificiranih spojeva, onaj koji je detektiran u najnižim koncentracijama. Senzorski prag osjetljivosti za ovaj spoj iznosi  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  (Lambrechts i Pretorius, 2000) te se može zaključiti da u analiziranim uzorcima nema utjecaja na senzorska svojstva.

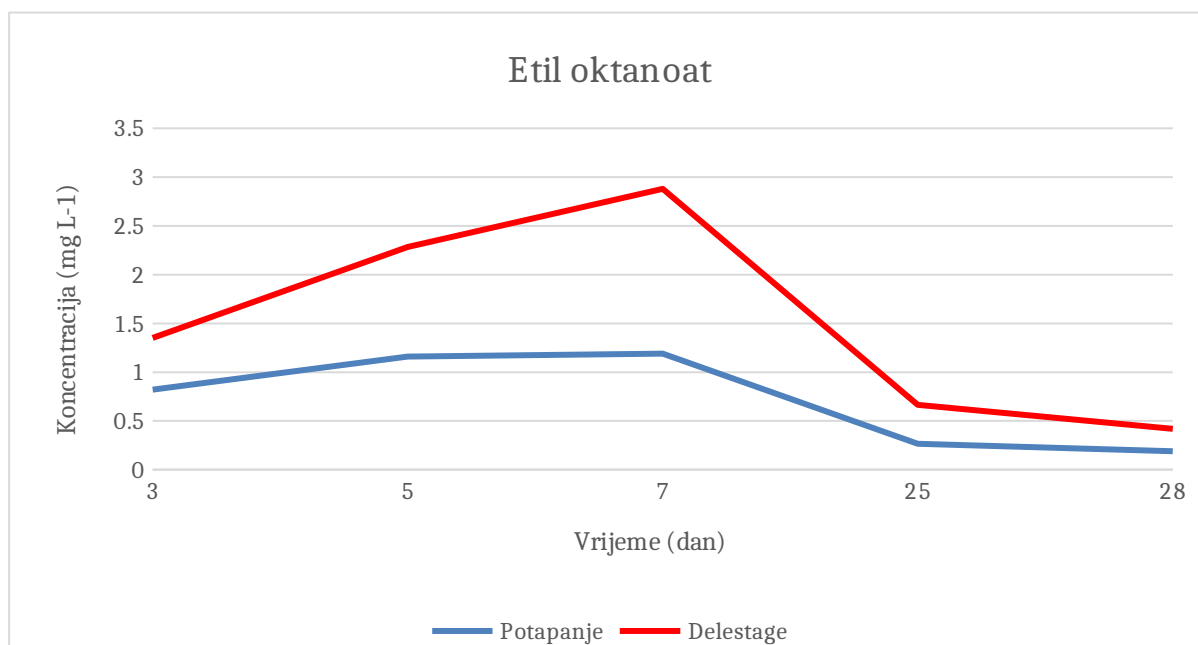
Prema rezultatima istraživanja (De Santis i Frangipane, 2010) koncentracije estera značajnih za sortu vina Merlot poput etil dekanooata, etil heksanoata te etil oktanoata porasle su za više od 20% u vinu tretiranom predfermentativnom hladnom maceracijom u usporedbi s onim u kojem je provedena tradicionalna maceracija i fermentacija pri sobnoj temperaturi. Nadalje, glavina sveukupne površine ispod pika krivulje provedene GC analize (68-69%) pripada upravo esterima (ne ubrajajući alkohol etanol), a slijede ih alkoholi (skoro 30%), kiseline i aldehidi (<1%) (De Santis i Frangipane, 2010). Selli i sur. (2006a) u svome su radu također zabilježili značajan porast koncentracije estera (među njima i etil dekanooata) uslijed provedbe postupka maceracije groždanog soka sa pokožicom grožđa.



**Slika 13.** Koncentracija etil dekanooata ( $\text{mg L}^{-1}$ ) u uzorcima vina prerađenih tehnološkim postupcima potapanja (plava krivulja) ili *delestage* (crvena krivulja) u ovisnosti o danu prerade grožđa

Za koncentraciju estera u vinu, više puta utvrđeno je da se smanjuje kako se produljuje vrijeme maceracije (Alvarez i sur., 2006; Yilmaztekin i sur., 2015) iako su prijavljeni i oprečni rezultati (Selli i sur., 2006b; Palomo i sur., 2006; Rapp i sur., 1985; Petropulus i sur., 2014).

Prema rezultatima ovoga rada, koncentracija estera **etil oktanoata** dostiže maksimalne vrijednosti nakon 7 dana maceracije/fermentacije, nakon čega se dalje smanjuje kako vrijeme maceracije odmiče; što je u skladu s prvom grupom autora (Slika 14.). Senzorski prag osjetljivosti za ovaj spoj je  $0,58 \text{ mg L}^{-1}$  (Lambrechts i Pretorius, 2000), a vrijednosti izmjerene u ovome radu su iznad navedene vrijednosti što implicira da ovaj spoj doprinosi senzorskim karakteristikama analiziranih vina. Etil oktanoatu pripisuju se voćni (ananas, kruška), a etil dekanatu cvjetni mirisi (Lambrechts i Pretorius, 2000).

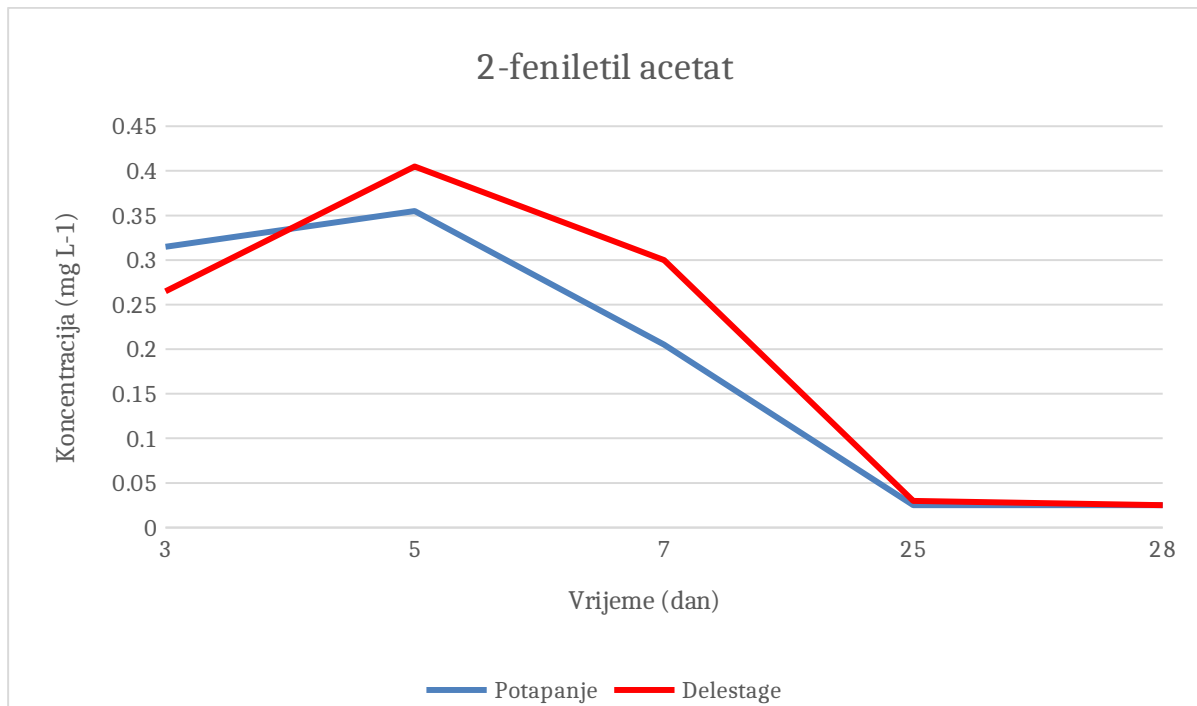


**Slika 14.** Koncentracija **etil oktanoata** ( $\text{mg L}^{-1}$ ) u uzorcima vina prerađenih tehnološkim postupcima potapanja (plava krivulja) ili *delestage* (crvena krivulja) u ovisnosti o danu prerade grožđa

U analiziranim uzorcima vina spoj **2-feniletil acetat** (Slika 15), kvantificiran je u vrlo malim koncentracijama, što je bio slučaj i za vino Syrah proizvedeno predfermentativnim postupkom hladne maceracije kroz 24 sata pri  $5 \text{ }^\circ\text{C}$  (Zhang i sur., 2011). Prema drugome istraživanju, u vinu bijele sorte Pošip, predfermentativna maceracija kroz 15 sati pri  $15 \text{ }^\circ\text{C}$  rezultirala je trendom povećanja koncentracije estera za razliku od vina gdje maceracija nije provedena (Tomašević i sur., 2017). Acetati viših alkohola imaju ključnu ulogu za kvalitetu arome vina (Albanese i sur., 2012). Prema rezultatima kvantificiranim u ovome eksperimentu, koncentracija 2-feniletil acetata rasla je do 5. dana maceracije/fermentacije



nakon čega je krenula padati kako je proces fermentacije napredovao što je u skladu s trendom promjena koncentracija estera uočenom u ovome radu kroz promatrani period maceracije. *Delestage* tehnika rezultirala je višom koncentracijom ovoga estera što također potvrđuje prethodno navedene trendove.



**Slika 15.** Koncentracija 2- fenil acetata (mg L<sup>-1</sup>) u uzorcima vina prerađenih tehnološkim postupcima potapanja (plava krivulja) ili *delestage* (crvena krivulja) u ovisnosti o danu prerade grožđa

## 5. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata istraživanja utjecaja tehnologije miješanja masulja (*delestage* i potapanje komine) tijekom maceracije/fermentacije na aromatski sastav vina Teran, u kojem su kvantificirani esteri (etil acetat, etil heksanoat, etil oktanoat, etil dekanat, 2-fenilacetat) i viši alkoholi (i-butanol, i-amil alkohol, 1-heksanol, 2-fenil etanol), mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Vina tretirana tehnikom potapanja komine sadrže više koncentracije viših alkohola
2. Vina tretirana tehnikom *delestage* sadrže više koncentracije estera
3. Što je duži proces maceracije i alkoholne fermentacije dolazi do pada koncentracije estera, a rasta koncentracije viših alkohola
4. Dobiveni rezultati ukazuju kako je pogodnija primjena *delestage* postupka jer rezultira višim koncentracijama estera, spojeva koji su nositelji poželjnih voćnih senzorskih karakteristika u vinu



## 6. POPIS LITERATURE

Albanese D, Attanasio G, Cinquanta L, Di Matteo M (2012) Volatile compounds in red wines processed on an industrial scale by short pre-fermentative cold maceration. *Food Bioproc Tech* **6**, 3266–3272. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-012-0798-5>

Álvarez I, Aleixandre JL, García MJ, Lizama V (2006) Impact of prefermentative maceration on the phenolic and volatile compounds in Monastrell red wines. *Anal Chim Acta* **563**, 109–115. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.10.068>

Álvarez-Pérez JM, Campo E, San-Juan F, Coque JJR, Ferreire 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 Chem* **133**, 284–292. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.024>

Boulton R (2001) The Copigmentation of Anthocyanins and Its Role in the Color of Red Wine: A Critical Review. *Am J Enol Vitic* **52**, 67–87.

Bušelić Likar M (2012, 04. i 18. lipnja), Deset enoloških tehnika koje svaki vinar treba znati, <http://vinskaprica.com/deset-enoloskih-tehnika-koje-svaki-vinar-treba-znati-1> Pristupljeno 12. svibnja 2022.

Cai J, Zhu B Q, Wang YH, Lu L, Lan YB, Reeves MJ, Duan CQ (2014) Influence of pre-fermentation cold maceration treatment on aroma compounds of Cabernet Sauvignon wines fermented in different industrial scale fermenters. *Food Chem* **154**, 217–229. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.003>

Clarke RJ, Bakker J (2004) *Wine flavour chemistry: Volatile compounds*, Blackwell Publishing, Oxford, str. 133–201.

Delfini C, Cocito C, Bonino M, Schellino R, Gaia P, Baiocchi C (2001) Definitive evidence for the actual contribution of yeast in the transformation of neutral precursors of grape aromas. *J Agric Food Chem* **49**, 5397–5408. <https://doi.org/10.1021/jf010613a>

De Santis D, Frangipane MT (2010) Effect of Prefermentative Cold Maceration on the Aroma and Phenolic Profiles of a Merlot Red Wine. *Ital J Food Sci* **22**, 47–53.

Escudero A, Asensio E, Cacho J, Ferreira V (2002) Sensory and chemical changes of young white wine stored under oxygen. An assessment of the role played by aldehydes and some other important odorants. *Food Chem* **77**, 325–331. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00355-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00355-7)

Fazinić N, Milat V (1994) *Hrvatska vina: Istra i Hrvatsko primorje*, Mladinska knjiga, Zagreb, str. 91

Feuillat M (1998) Autolyse de levures. U: Flanzy, C (ured.) *Oenologie. Fondements scientifiques et technologiques*, 444-454

Frangipane MT, De Santis D (2010) Effect of prefermentative cold maceration on the aroma and phenolic profiles of a Merlot red wine. *Ital J Food Sci* **22**, 47-53.

Garcia-Carpintero EG, Palomo ES, Gomez Gallego MA, Gonzalez-Vinas MA (2012) Free and bound volatile compounds as markers of aromatic typicalness of Moravia Dulce, Rojal and Tortosi red wines. *Food Chem* **131**, 90-98.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.035>

Herjavec S (2019) *Vinarstvo*, Nakladni zavod Globus, Zagreb

Komes D, Ulrich D, Ganic KK, Lovric T (2015) Study of phenolic and volatile composition of white wine during fermentation and a short time of storage. *Vitis-J Grapevine Res* **46**, 77.

Lambrechts MG, Pretorius IS (2000) Yeast and its importance to wine aroma - a review. *S Afr J Enol* **21**, 97-129.

Maletić E, Karoglan Kontić J, Pejić I, Preiner D, Zdunić G, Bubola M, Stupić D, Andabaka Ž, Marković Z, Šimon S, Žulj Mihaljević M, Ilijaš I, Marković D (2015) Zelena knjiga: hrvatske izvorne sorte vinove loze, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb, str. 328-329.

Maletić E, Karoglan Kontić J, Preiner D, Šimon S, Staver M, Pejić I (2014) Ampelographic and genetic studies into „Teran“ / „Refošk“ grapes in Istria (Croatia)- one or two varieties?. *Mitt Klosterneuburg* **64**, 54-62

Murat ML, Tominaga T, Dibourdiou D (2001) Assessing the aromatic potential of Cabernet Sauvignon and Merlot Musts to produce rose wine by assaying the cysteinylated precursor of 3-mercaptohexan-1-ol. *J Agric Food Chem* **49**, 5412-5417.  
<https://doi.org/10.1021/jf0103119>

Nykänen L (1986) Formation and Occurrence of Flavour Compounds in Wine and Distilled Alcoholic Beverages. *Am J Enol Vitic* **37**, 84-96.

Oliveira JM, Faria M, Sa F, Barros F, Araujo IM (2000) C<sub>6</sub>-alcohols as varietal markers for assessment of wine origin. *Anal Chim Acta* **56**, 300-309.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2005.12.029>

Palomo ES, Perez-Coello MS, Diaz-Maroto MC, Gonzalez Vinas MA, Cabezudo MD (2006) Contribution of free and glycosidically-bound volatile compounds to the aroma of muscat "a petit grains" wines and effect of skin contact. *Food Chem* **95**, 279-89.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.01.012>

Petropulos VI, Bogeve E, Stafilov T, Stefova M, Siegmund B, Pabi N, Lankmayr E (2014) Study of the influence of maceration time and oenological practices on the aroma profile of

Vranec wines. *Food Chem* **165**, 133-201, 506-514.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.144>

Polášková P, Herszage J, Ebeler SE (2008) Wine flavour: chemistry in a glass. *Chem Soc Rev* **37**, 2478-2489. <https://doi.org/10.1039/B714455P>

Vinogradarski registar (2022) Podaci iz Vinogradarskog registra za 2021. godinu. <https://www.aprrr.hr/registri/>. Pristupljeno 14. lipnja 2022.  
u NN br. 132/10. i izmjene u NN br. 78/11.

Radeka S, Lukić I, Perušić Đ (2012) Influence of Different Maceration Treatments on the Aroma Profile of Rosé and Red Wines from Croatian Aromatic cv. Muškata ruža porečki (*Vitis vinifera* L.), *Food Technol Biotechnol* **50**, 442-453

Ramey D, Bertrand A, Ough CS, Singleton VL, Sanders E (1986) Effects of skin contact temperature on Chardonnay must and wine composition, *Am J Enol Vitic* **37**, 99-106.

Rapp A (1998). Volatile flavour of wine: Correlation between instrumental analysis and sensory perception. *Nahrung*, **6**, 351-363. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3803\(199812\)42:06%3C351::AID-FOOD351%3E3.0.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3803(199812)42:06%3C351::AID-FOOD351%3E3.0.CO;2-2)

Rapp A, Günter M, Ullemeyer H (1985) Über Veränderungen der Aromastoffe während der Flaschenlagerung von Weißweinen der Rebsorte Riesling. *Z Lebensm Unters Forsch* **180**, 109-116

Reynolds J (2022) Winemaking behind the scenes: all about punch downs. <https://www.cawineclub.com/blog/all-about-punch-downs/>. Pristupljeno 20. svibnja 2022.

Ribéreau-Gayon P, Dubourdieu D, Doneche B, Lonvaud A (2006) *Handbook of enology Vol. 1, The Microbiology of Wine and Vinifications*, 2. Izd., John Wiley & Sons, Chichester.

Ribéreau-Gayon P, Sudraud P, Milhe JC, Canbas A (1970) Recherches technologiques sur les composés phénoliques des vins rouges. *Conn. Vigne Vin* **4**, 133-144. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.1970.4.2.1981>

Selli S, Canbas A, Cabaroglu T, Erten H, Gunata Z (2006a) Aroma components of cv. Muscat of Bornova wines and influence of skin contact treatment. *Food Chem* **94**, 319. <http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.foodchem.2004.11.019>

Selli S, Canbas A, Cabaroglu T, Erten H, Lepoutre JP, Gunata Z (2006b) Effect of skin contact on the free and bound aroma compounds of the white wine of *Vitis vinifera* L. cv Narince. *Food Control* **17**, 75-82.

Swiegers JH, Francis IL, Herderich MJ, Pretorius IS (2006) Meeting consumer expectations through management in vineyard and winery: the choice of yeast for fermentation offers great potential to adjust the aroma of Sauvignon Blanc wine. *Aust N Z Wine Ind J* **21**, 34-42.

Sweigers JH, Pretorius IS (2005) Yeast Modulation of Wine Flavour. *Adv Appl Microbiol* **57**, 131-175. [https://doi.org/10.1016/s0065-2164\(05\)57005-9](https://doi.org/10.1016/s0065-2164(05)57005-9)

Tomašević M, Gracin L, Ćurko N, Kovačević Ganić K (2017) Impact of pre-fermentative maceration and yeast strain along with glutathione and SO<sub>2</sub> additions on the aroma of *Vitis vinifera* L. Pošip wine and its evaluation during bottle aging. *LWT- Food Sci Technol* **81**, 67-76. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.035>

Tominaga T, Baltenweck-Guyot R, Des Gachons CP, Dubourdieu D (2000) Contribution of volatile thiols to the aromas of white wines made from several *Vitis vinifera* grape varieties. *Am J Enol Vitic* **51**, 178-181.

Tominaga T, Murat M, 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. *J Agric Food Chem* **46**, 1044-1048. <https://doi.org/10.1021/jf970782o>

Vollbrecht D, Radler F (1973) Formation of higher alcohols by amino acid deficient mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. I. The decomposition of amino acids to higher alcohols. *Arch Mikrobiol* **94**, 351-358.

Wang XD, Bohlscheid JC, Edwards CG (2002) Fermentative activity and production of volatile compounds by *Saccharomyces* grown in synthetic grape juice media deficient in assimilable nitrogen and/or pantothenic acid. *J Appl Microbiol* **94**, 349-359. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01827.x>

Wang J, Huo S, Zhang Y, Liu Y, Fan W (2016) Impact of various maceration techniques on the phenolic and volatile composition of Chenin Blanc wines. *Food Sci Technol* 1-7 <https://doi.org/10.1111/ijfs.13215>

Yilmaztekin M, Kocabey N, Hayaloglu AA (2015) Effect of Maceration Time on Free and Bound Volatiles of Red Wines from cv. Karaoglan (*Vitis vinifera* L.) Grapes Grown in Arapgir, Turkey. *J Food Sci* **3**, 556-563. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12767>

Zhang M, Pan Q, Yan G, Duan C (2011) Using headspace solid phase micro-extraction for analysis of aromatic compounds during alcoholic fermentation of red wine. *Food Chem* **125**, 743-749. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.008>

Zoecklein BW, Pelanne LM, Birkenmaier SS, Reed K (2009) Merlot and Cabernet Sauvignon wines: Impact of delestage with partial seed removal, <https://www.apps.fst.vt.edu/extension/enology/downloads/Delestage.pdf>. Pristupljeno 20. svibnja 2022.





## Izjava o izvornosti

Ja Matea Đebro izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

  
Vlastoručni potpis