

ODABIR I TRENING SENZORSKOG PANELA ZA PROCJENU TRPKOĆE VINA

Horvat, Sandra

Master's thesis / Diplomski rad

2016

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:159:934452>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-09**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2016.

Sandra Horvat

704/USH

**ODABIR I TRENING
SENZORSKOG PANELA ZA
PROCJENU TRPKOĆE VINA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnologiju i analitiku vina na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof.dr.sc. Karin Kovačević Ganić, te uz pomoć doc.dr.sc. Natke Ćurko.

Zahvaljujem mentorici prof.dr.sc. Karin Kovačević Ganić i doc.dr.sc. Natki Ćurko na iskazanoj pristupačnosti, te na uloženom trudu i strpljenju pri izradi ovog diplomskog rada.

Zahvaljujem svojoj obitelji na beskonačnom strpljenju, podršci i ljubavi koje su mi pružali kroz cijeli životni i obrazovni vijek.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za tehnologiju i analitiku vina

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

ODABIR I TRENING SENZORSKOG PANELA ZA PROCJENU TRPKOĆE VINA

Sandra Horvat, 704/USH

Sažetak: Trpkoca je taktilni osjet vina koji definiramo kao osjet suhoće u ustima te neugodan i grub osjet skupljanja i stezanja tkiva u usnoj šupljini. Kondenzirani tanini (proantocijanidini) su polifenolni spojevi odgovorni za senzorsko svojstvo trpkocae. U ovom radu proveden je razvoj i trening panela za kvantitativnu deskriptivnu analizu (QDA) intenziteta trpkocae vina numeričkom skalom od 0 do 7. Selekcija i trening kušaca provedeni su primjenom triangl, ranking testova i testova QDA, a kao referentni standardi trpkocae korišteni su aluminijev sulfat i enološki tanini pripremljeni u različitim koncentracijama u model otopini vina, a potom u samom vinu. Nakon treniranja, analiza intenziteta trpkocae bijelih, rosé i crnih vina provedena je homogenom panel grupom od 14 kušaca. Utvrđene su značajne razlike u intenzitetu trpkocae između bijelih, rosé i crnih vina, te jaka pozitivna korelacija između intenziteta trpkocae i koncentracije ukupnih tanina ($r=0,984$, $p<0,001$).

Ključne riječi: *vino, intenzitet trpkocae, trening panela, kvantitativna deskriptivna analiza (QDA), tanini*

Rad sadrži: 44 stranice, 12 slika, 6 tablica, 72 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: *prof.dr.sc. Karin Kovačević Ganić*

Pomoć pri izradi: *doc.dr.sc. Natka Ćurko*

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. Izv.prof.dr.sc. *Ksenija Marković*
2. Prof.dr.sc. *Karin Kovačević Ganić*
3. Doc.dr.sc. *Leo Gracin*
4. Prof.dr.sc. *Draženka Komes* (zamjena)

Datum obrane: 26. rujna 2016.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Department of Food Engineering

Laboratory for Technology and Analysis of Wine

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

SELECTION AND TRAINING OF PANEL FOR SENSORY EVALUATION OF WINE ASTRINGENCY INTENSITY

Sandra Horvat, 704/USH

Abstract: Astringency is tactile sensation and mouth-feel attribute of wine, described as 'drying', 'roughing' and 'puckering' feeling in the oral cavity. The condensed tannins (proanthocyanidins) are polyphenolic compounds responsible for astringency perception of wine. The aim of this study was to form and train a panel for quantitative descriptive analysis (QDA) of astringency intensity, using numerical scale from 0 to 7. The selection and training of judges was carried out using the triangle, ranking and QDA tests. Aluminum sulphate and oenological tannins were used as astringency reference standards, prepared in different concentrations in wine model solution, as well as in wine. Analysis of astringency intensity in white, rosé and red wines were conducted by homogeneous panel group of 14 judges after panel training. The results showed significant differences among white, rosé and red wines, as well as strong positive correlation between the astringency intensity and concentration of total tannins ($r = 0.984$, $p < 0.001$).

Keywords: *wine, astringency intensity, panel training, quantitative descriptive analysis (QDA), tannins*

Thesis contains: 44 pages, 12 figures, 6 tables, 72 references

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: *PhD. Karin, Kovačević Ganić*, Full Professor

Technical support and assistance: *PhD. Natka, Ćurko*, Assistant Professor

Reviewers:

1. PhD. *Ksenija, Marković*, Associate professor
2. PhD. *Karin, Kovačević Ganić*, Full professor
3. PhD. *Leo, Gracin*, Assistant professor
4. PhD. *Draženka, Komes*, Full professor (substitute)

Thesis defended: 26 September 2016

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	3
2.1. SENZORSKA ANALIZA HRANE.....	3
2.1.1. Uvjeti za provođenje senzorske analize vina.....	4
2.1.2. Odabir i trening kušača za senzorsku analizu vina.....	6
2.1.3. Metode senzorske analize vina.....	6
2.2. OKUS I OSJET VINA.....	7
2.2.1. Okus vina.....	7
2.2.2. Osjet vina.....	9
2.2.3. Faktori koji utječu na percepciju okusa i osjeta vina.....	10
2.3. OSJET TRPKOĆE VINA.....	11
2.3.1. Kondenzirani tanini (proantocijanidini)-nositelji senzorskog svojstva trpkoe.....	13
2.3.2. Interakcija trpkoe i ostalih komponenata vina.....	13
2.3.3. Metode deskriptivne analize u procjeni trpkoe vina.....	14
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	16
3.1. MATERIJAL.....	16
3.1.1. Uzorci.....	16
3.1.2. Kemikalije.....	16
3.1.3. Aparatura.....	17
3.2. METODE.....	17
3.2.1. Formiranje i trening panela za trpkoe vina.....	17
3.2.2. Senzorska analiza intenziteta trpkoe uzoraka vina.....	23
3.2.3. Određivanje ukupnih tanina.....	24
3.2.4. Određivanje pH i ukupne kiselosti vina.....	24
3.2.5. Statistička analiza.....	25
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	28
4.1. SELEKCIJA I TRENING KUŠAČA ZA SENZORSKU PROCJENU TRPKOĆE VINA.....	29
4.2. SENZORSKA PROCJENA INTENZITETA TRPKOĆE I KEMIJSKA ANALIZA UZORAKA VINA.....	31
4.3. KORELACIJA INTENZITETA TRPKOĆE I KONCENTRACIJE UKUPNIH TANINA U VINU.....	36
5. ZAKLJUČCI.....	37
6. LITERATURA.....	38

1. UVOD

Polifenolni spojevi u vinu i njihova antioksidacijska aktivnost posljednjih su godina predmet brojnih istraživanja, ponajviše zbog velikog utjecaja polifenola na kvalitetu vina, odnosno na organoleptička svojstva vina (Hernanaz i sur., 2007), ali i blagotvornog utjecaja koji imaju na ljudsko zdravlje (Yang i sur., 2009).

Premda se fizikalno-kemijskim metodama u velikoj mjeri može utvrditi kvaliteta vina, analiza vina ne može se smatrati potpunom bez senzorske procjene vina. Također, s obzirom na velik broj kemijskih spojeva u vinu i njihov utjecaj na kvalitetu vina, kao i na njihove međusobne odnose, fizikalno-kemijskom analizom vina ne može se dobiti informacija o harmoničnosti odnosa mnogobrojnih komponenata vina. Rezultati fizikalno-kemijske i senzorske analize vina međusobno se nadopunjavaju što dovodi do potpunog uvida u karakteristike i kvalitetu vina. Senzorska procjena vina provodi se s utreniranim panelom i odgovarajućim (definiranim) metodama. Stoga je pri odabiru kušača za budući rad važno eliminirati kandidate potpuno neprikladne za senzorsku procjenu te provesti trening kako bi se kod kušača ispitala sposobnosti detekcije pojedinih senzorskih svojstava i razlikovanja njihovog intenziteta.

Trpkoca vina smatra se jednom od najvažnijih senzorskih karakteristika vina koja značajno doprinosi ukupnoj kvaliteti vina. Ovo svojstvo definira se kao taktilni osjet kojeg karakteriziraju osjećaj suhoće, skupljanja i stezanja tkiva u usnoj šupljini, a nastaje kao reakcija vezanja tanina i proteina slin, što dovodi do smanjenja lučenja slin, a time i do stvaranja osjeta suhoće u ustima (Gawel, 1998; Jackson, 2002). Tanini (proantocijanidini) nastaju polimerizacijom flavan-3-ola, pri čemu ih se većina sintetizira u sjemenkama, ali i u pokožici grožđa (Downey i sur., 2003). Tanini sjemenke i pokožice grožđa međusobno se strukturno razlikuju (tanini sjemenke imaju manji stupanj polimerizacije u odnosu na tanine iz pokožice grožđa, ali i veći udio esterski vezane galne kiseline), međutim podjednako su važni u definiranju trpkoca vina (Souquet i sur., 1996).

Iz dosadašnjih istraživanja može se vidjeti kako koncentracija i struktura tanina imaju ključnu ulogu u definiranju trpkoca vina (Peleg i sur., 1999; Vidal i sur., 2003; Gawel i sur., 2007), pri čemu je u prvom redu utvrđena pozitivna korelacija između koncentracije tanina i trpkoca vina (Boselli i sur., 2004; Preys i sur., 2006; Landon i sur., 2008). Stoga, cilj ovog

rada biti će odabir i treniranje panela za senzorsku analizu inteziteta trpkooće, nakon čega će se senzorskom i fizikalno-kemijskom analizom bijelih, rosé i crnih vina istražiti povezanost intenziteta trpkooće s količinom ukupnih tanina u vinu.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. SENZORSKA ANALIZA HRANE

Senzorska analiza znanstvena je disciplina koja se koristi kako bi se pobudile, izmjerile, analizirale i interpretirale reakcije na one karakteristike hrane koje se percipiraju ljudskim osjetilima: osjetilom vida, osjetilom njuha, osjetilom okusa, osjetilom opipa i osjetilom sluha (Stone i Sidel, 2004). Međutim, zbog složenosti mehanizama ljudske percepcije, metode senzorske analize ne mogu se u potpunosti zamijeniti fizikalno-kemijskim postupcima određivanja pojedinih svojstava.

U senzorskim analizama kao detektori služe ljudska osjetila, a analitički instrument čini posebno odabrana, educirana i uvježbana grupa ljudi koju je uobičajeno nazivati panelom. Kao i kod svakog prihvaćenog analitičkog postupka i od senzorskih analiza se očekuje da budu objektivne, točne, ponovljive i reproducibilne (Meiselman, 1993).

Za definiranje senzorskih svojstava osnovni parametri koji se najčešće koriste su (Civille i Carr, 2015): izgled (optička svojstva), miris, konzistencija i tekstura te okus.

Izgled je vrlo često jedino svojstvo na kojem se temelji odluka o kupnji i konzumiranju nekog proizvoda. Osjetilom vida uočavaju se razlike u obliku, boji, konzistenciji i bistroći namirnice, pri čemu su tijekom ocjenjivanja proizvoda vrlo važni jačina i položaj svjetlosnih zraka (Civille i Carr, 2015). Osjet mirisa nastaje udisanjem zraka zasićenog hlapivim sastojcima kroz nosnu šupljinu koji se osjete putem olfaktornih receptora. Percepcija mirisa osim udisanjem kroz nosnu šupljinu u smjeru normalne aspiracije može nastati i retro-nazalno iz mirisa prisutnih u ustima. Optimalno, percepcija mirisa traje 1-2 s, nakon čega je potrebna pauza kako ne bi došlo adaptacije na detektirani miris (Civille i Carr, 2015). Za procjenu konzistencije (tekućine) i teksture (polukrutine i krutine) namirnica koriste se osjetila okusa i mirisa, gdje se uglavnom primjenjuje metoda kušanja (žvakanja), pri čemu se ocjenjuju: viskoznost, mekoća, tvrdoća, nježnost, žilavost namirnice. Također, tekstura se može ocjeniti vizualno ili dodirrom (Civille i Carr, 2015). Okus namirnice percipira se okusnim pupoljcima smještenima na površini jezika, te manjim dijelom na nepcu i ostalim dijelovima usne šupljine nakon podraživanja okusnih stanica kemijskim tvarima iz hrane

otopljenima u slini, a razlikuju se četiri osnovna okusa: slatko, kiselo, slano i gorko. Osim toga, zbog anatomske povezanosti usne i nosne šupljine, pa time i mogućnosti da hlapive tvari do osjetila mirisa dospiju retronazalnim putem, doživljaj okusnih svojstava usko je povezan s doživljajem mirisnih svojstava hrane. Značajka koja objedinjuje ta dva senzorska svojstva naziva se aroma. Osim okusa potrebno je razlikovati i osjet u ustima koji nastaje podraživanjem vršaka živaca u mekim membranama usne i nazalne šupljine, a koji se može percipirati kao osjet trpkocće, hlađenja, grijanja, bockanja ili kao metalan okus (Civille i Carr, 2015).

Prilikom kreiranja senzorskog panela i tijekom njegovog rada primjenjuju se: odgovarajući uvjeti provođenja analize, odgovarajući postupci pri odabiru kandidata za panel i odgovarajući postupci u treningu članova panela. Većina ovih uvjeta definirana je normama Međunarodne organizacije za normizaciju (engl. *International Standard Organisation, ISO*) (Kemp i sur., 2009).

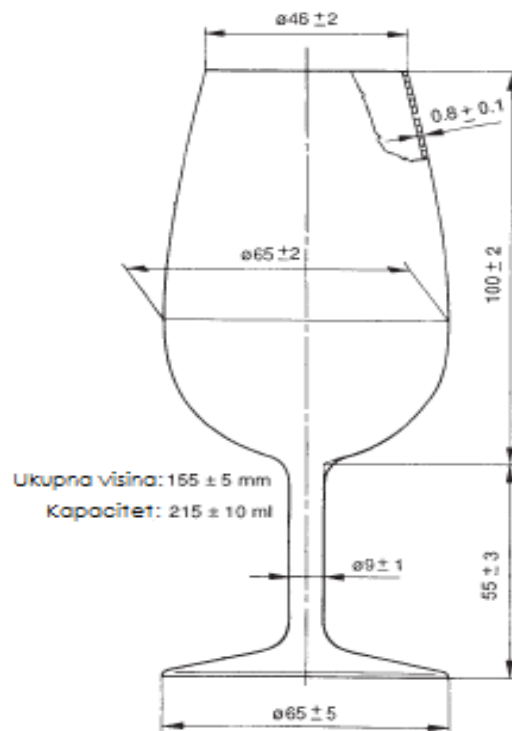
2.1.1. Uvjeti za provođenje senzorske analize vina

Uvjeti u kojima se provodi senzorska analiza vina podrazumijevaju karakteristike prostora u kojem se provodi analiza, karakteristike čaša u kojima se uzorci vina prezentiraju panelistima, količinu uzoraka, temperaturu uzoraka, broj uzoraka u jednom kušanju, redoslijed analiziranja uzoraka, trenutak provođenja senzorske procjene i tehniku kušanja vina (Jackson, 2008).

Prostorni uvjeti za provođenje senzorske analize vina podrazumijevaju osvjetljenje neutralnog karaktera što sličnije danjem svjetlu, jednoboje zidove smirujućih i svijetlih tonova, zaštitu od izvora buke i mirisa i održavanje temperature zraka u rasponu od 20 do 22 °C. Pojedina radna mjesta moraju biti fizički odvojena kako bi se spriječila komunikacija između panelista (Stone i Sidel, 2004; Meilgaard i sur. 2007).

Oblik, veličina i materijal čaše za vino (Slika 1) omogućuju dobro uočavanje boje i bistroće vina, suženje grla omogućuje koncentriranje mirisa pri vrhu čaše, dok se držanjem čaše za nožicu izbjegava prenošenje tjelesne topline preko ruku na vino u čaši. Čaše za procjenu vina mogu osim prozirnog biti i od crnog stakla. Na taj način izbjegava se utjecaj boje vina na percepciju okusa i mirisa vina. Čaše koje se upotrebljavaju za senzorsku analizu

vina moraju biti čišćene bezmirisnim sredstvima za pranje i pohranjivane na način da budu potpuno bez mirisa (Jackson, 2008).



Slika 1. Čaša za senzorsku analizu vina (dimenzije u mm) (ISO 3591, 1977)

Korištenjem ujednačene standardne količine uzorka vina (30-50 mL) osigurava se ujednačeni omjer između mase uzorka, površine uzorka i volumena praznog prostora u čaši u koji se oslobađaju mirisne tvari. Temperatura vina ovisi o vrsti vina koje se analizira: za bijela i rosé vina uobičajena je temperatura od 10 do 12 °C, a za crna vina od 18 do 22 °C (Jackson, 2008; Meilgaard i sur., 2007).

Broj uzoraka vina kod jednog kušanja panela limitiran je zbog zamora osjetila, pa je tako broj vina u slučaju odbacivanja neispravnih uzoraka 20-50 u jednom danu, dok je kod ocjenjivanja sličnih vina broj vina koja se procjenjuju 5-6. U cilju što kasnijeg zamora osjetilnih organa poželjno je da se uzorci panelu prezentiraju u rastućem nizu intenziteta okusnih ili mirisnih svojstava. U pravilu se bijela vina analiziraju prije rosé i crnih, nearomatična vina prije aromatičnih, suha vina prije slatkih, vina s manje alkohola prije vina s više alkohola, a mlađa vina prije starijih (Jackson, 2008).

Najpovoljniji trenutak provođenja senzorske analize vina je najmanje dva sata nakon obroka (time se izbjegava da osjećaj sitosti te trajnost okusa i mirisa konzumiranje hrane

ometaju usredotočenost panelista na obavljanje zadatka), odnosno najviše jedan sat prije obroka (time se izbjegava da usredotočenost panelista bude ometana osjećajem gladi) (Jackson, 2008; Kemp i sur., 2009).

2.1.2. Odabir i trening kušača za senzorsku analizu vina

U postupku odabira broj kandidata treba biti dva do tri puta veći od broja kandidata potrebnih za panel kako bi se odabrali kušači s najvećom osjetljivošću i moći razlučivanja. Zainteresiranost i mogućnost sudjelovanja kandidata u probiru kušača za senzorsku procjenu vina provjeravaju se standardiziranim upitnicima, dok se senzorske sposobnosti kandidata provjeravaju jednostavnim testovima identifikacije okusa i mirisa vina, uočavanja graničnih razlika intenziteta određenog podražaja vina i utvrđivanja graničnih koncentracija za osnovne okuse vina. Nakon selekcije slijedi trening odabranih kandidata koji će predstavljati panel za senzorsku procjenu vina. Cilj treninga je da se kod kandidata dodatno razviju sposobnosti detekcije pojedinih svojstava, razlikovanja intenziteta, opisa senzorskih podražaja i reproduciranja rezultata. Kandidati koji su u svom radu pokazali zadovoljavajuću točnost i ponovljivost rezultata čine panel. Tehnike koje se primjenjuju u treningu kandidata za panel služe i za trening i provjeru pouzdanosti rada članova već uspostavljenog i djelatnog senzorskog panela (Stone i Sidel, 2004; Meilgaard i sur., 2007).

2.1.3. Metode senzorske analize vina

S obzirom na način procjenjivanja svojstava te vrstu informacije koja se pritom želi dobiti, metode senzorske analize vina svrstane su u tri skupine (Stone i Sidel, 2004):

- Testovi razlika (diferencijacija) koriste se kada se kod uzoraka vina traže razlike u samo jednom svojstvu. Tehnike koje se najčešće koriste su: test u paru (uzorak se uspoređuje s referentnim uzorkom, a zadatak panelista je odrediti da li je nepoznati uzorak većeg, manjeg ili jednakog intenziteta od referentnog uzorka), triangl test (ponuđena su tri uzorka od kojih su dva identična, a zadatak panelista je utvrditi koji uzorak je različit), duo-trio test (ponuđena su dva nepoznata i jedan referentni uzorak, a zadatak panelista je utvrditi koji je od dva nepoznata uzorka različit od referentnog), ranking test (zadatak panelista je

poredati nekoliko uzoraka prema rastućem intenzitetu određenog svojstva) (Lawless i Heymann, 2010; Meilgaard i sur., 2007).

- Kod sustava bodovanja za razliku od testova diferencijacija nema izravnog međusobnog uspoređivanja dvaju ili više uzoraka, već se svaki pojedini uzorak vina analizira neovisno o ostalima. Osim toga, ovom metodom analiziraju se cjelokupna senzorska svojstva bitna za kvalitetu vina, a svako od svojstava ocjenjuje se posebno s odgovarajućim brojem bodova (npr. metoda 100 bodova, metoda po Buxbaumu) (Jackson, 2008; Lawless i Heymann, 2010).

- Deskriptivne metode nastoje identificirati i kvantificirati senzorske karakteristike bitne za senzorsku kvalitetu vina, odrediti poredak javljanja, postojanost i naknadni okus, te dati sveobuhvatnu ocjenu vina. Panelisti moraju biti sposobni osjetiti i opisati senzorska svojstva te odrediti intenzitet svakog svojstva. Metode deskriptivne analize koje se najčešće koriste su: profil okusa, profil teksture, kvantitativna deskriptivna analiza i vremenska analiza intenziteta (Meilgaard i sur., 2007; Jackson, 2008).

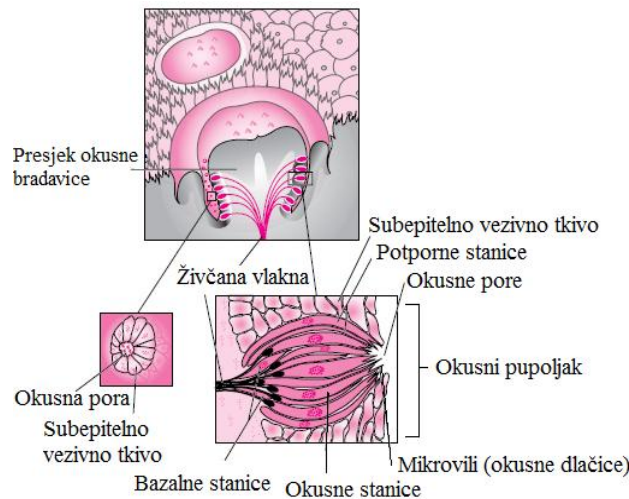
2.2. OKUS I OSJET VINA

Za percepciju okusa i osjeta vina u ustima odgovorna su dva različita tipa kemoreceptora: okusni pupoljci smješteni uglavnom na površini jezika odgovorni su za okus vina, dok su slobodni nervni završeci smješteni unutar usne šupljine odgovorni za osjet vina (Jackson, 2002).

2.2.1. Okus vina

Okus je funkcija okusnih pupoljaka smještenih unutar okusnih bradavica (*papillae*) na jeziku, ali i ispod jezika, s unutrašnje strane obraza i na usnama (Slika 2). Okusni pupoljak sastoji se od potpornih i okusnih stanica, a vijek okusnih stanica je oko 10 dana nakon čega se zamjenjuju, pri čemu odrasla osoba ima do 10 000 okusnih pupoljaka. Vanjski završeci okusnih stanica poredani su oko ruba vrlo male okusne pore. Iz vrška svake stanice se u usnu šupljinu kroz okusnu poru pruža nekoliko mikrovila (okusnih dlačica) koji su receptorska

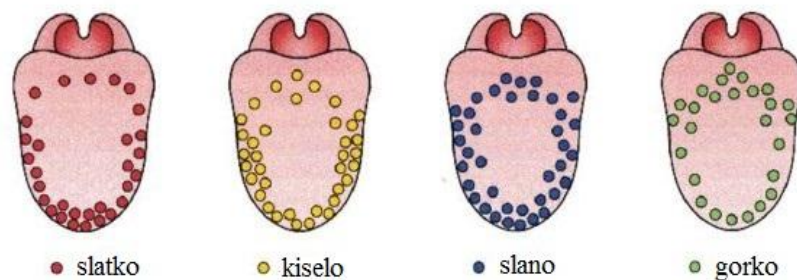
površina za okus. Mehanizam podraživanja okusnih pupoljaka sastoji se od vezivanja kemijske (okusne) tvari s receptorskim proteinskim stanicama koje strše iz membrane dlačica, pri čemu dolazi do depolarizacije okusne stanice. Nakon podraživanja okusni impulsi se preko kranijalnih živaca prenose u središnji živčani sustav (Guyton, 1995).



Slika 2. Shematski prikaz okusnih pupoljaka smještenih unutar okusnih bradavica (na gornjem dijelu prikazan je položaj okusnih pupoljaka unutar okusne bradavice, dok je na donjem dijelu prikazan sam okusni pupoljak) (Levine i Shefner, 1991)

Kao osjetilni organ jezik prepoznaje četiri osnovna okusa: slatko, kiselo, slano i gorko. Iako percepcije okusa slatkoće i gorčine nisu međusobno povezane, oba okusa imaju sličan način aktivacije, pri čemu svaki ovisi o formiranju van der Waalsovih interakcija i vodikovih veza s proteinskim receptorskim stanicama neurona. Većina tvari koje uzrokuju slatkoću (glukoza, fruktoza) i gorčinu (flavan-3-oli, fenolne kiseline, flavonoli, elagitanini) organske su prirode pa i vrlo male promjene kemijske građe često mogu promijeniti okus slatkoće u gorčinu i obrnuto (Jackson, 2002). S druge strane, kiselost i slanost elektrolitički su okusi. Kod oba okusa su topljivi anorganski kationi aktivne komponente, pa se tako kod kiselina slobodni H^+ ioni selektivno transportiraju kroz receptorsku staničnu membranu uzrokujući depolarizaciju, dok se kod soli kroz staničnu membranu na isti način transportiraju Na^+ ioni. Kiseline koje utječu na kiselost vina su vinska, jabučna i mliječna kiselina, a osim ukupne količine kiselina na intenzitet kiselosti utječe i pH vrijednost vina. S obzirom da vino sadrži velike organske anione (npr. tartarate i bitartarate) koji slabo disociraju pri pH vrijednosti vina, njihovi zajednički kationi (najčešće K^+ , Ca^{2+}) ne stimuliraju slane receptore. Osim toga, prisutnost Na^+ iona u vinu je ispod senzorskog praga osjetljivosti zbog čega je okus slanog u vinu vrlo rijetko prisutan (Jackson, 2002).

Za okus je osobito važno da se okusni pupoljci koji služe pojedinačnim primarnim okusima nalaze u posebnim područjima. Slatko i slano prvenstveno se osjećaju na vršku jezika, kiselo na lateralnim stranama jezika, a gorko na stražnjem dijelu jezika i na mekome nepcu (Slika 3). Međutim, stimulacijom pojedinih okusnih pupoljaka osnovnim okusnim podražajima pokazalo se da većinu među njima mogu pobuditi dva, tri, pa čak i sva četiri primarna okusna podražaja. Ipak, jedan ili dva podražaja obično imaju jači učinak (Guyton, 1995).



Slika 3. Rasprostranjenost okusnih pupoljaka na jeziku za pojedini okusni podražaj (Schmidt i sur., 2011)

2.2.2. Osjet vina

Osjet vina funkcija je slobodnih nervnih završetaka trigeminalnog živca (moždanog živca odgovornog za osjet u licu i usnoj šupljini, te određene motoričke funkcije). Vlakna trigeminalnog živca okružuju okusne pupoljke unutar usne šupljine (Whitehead i sur., 1985), a pod osjetom vina podrazumijeva se percepcija trpkocē, viskoznosti (tijelo/volumen), temperature, grijanja i pjenušanja/bockanja. Navedeni osjeti vina javljaju se kao posljedica stimulacije jednog ili više različitih tipova trigeminalnih receptora (mehanoreceptori, termoreceptori, nocioreceptori, proprioreceptori) (Jackson, 2002).

- Trpkocā je taktilni osjet koji se opisuje kao osjećaj suhocē u ustima, te neugodan i grub osjet skupljanja i stezanja tkiva u usnoj šupljini (Lawless i sur., 1994; Jackson 2002).
- Iako je tijelo (punoća) poželjno svojstvo većine vina, još je uvijek nerazjašnjeno kako ono nastaje. Kod slatkih vina punoća vina u korelaciji je s udjelom šećera, dok je kod suhih vina ona proporcionalna udjelu alkohola u vinu. Također, na povećanje

percepcije tijela (punoće) u vinu utječe udio glicerola (kod slatkih vina), dok kiselost vina smanjuje taj osjet (Jackson, 2002).

- Osjet hladnoće vina u ustima se javlja kao posljedica konzumacije ohlađenih pjenušavih ili suhih bijelih vina koja se serviraju pri nižim temperaturama u odnosu na crna vina, a doprinosi smanjenoj percepciji slatkoće i gorčine, te povećanoj percepciji trpkooće vina u ustima. Isto tako, pogoduje perlanju pjenušavih vina (Jackson, 2008).
- Visok udio alkohola u vinu odgovoran je za percepciju osjeta grijanja u ustima što se posebice zapaža na stražnjem dijelu grla, a smatra se kako nastaje kao posljedica aktivacije polimodalnih nocioreceptora smještenih na jeziku i nepcu koji se adaptiraju na osjet topline u ustima (Jackson, 2008).
- Pucketanje mjehurića kod pjenušavih vina dovodi do stvaranja osjeta bockanja vina u ustima, a ovaj osjet javlja se kod vina koja sadrže iznad 3-5 ‰ CO₂ i ovisi o temperaturi vina te veličini i brojnosti mjehurića. CO₂ povećava slanost i smanjuje slatkoću vina, te povećava percepciju hladnoće u ustima (Jackson, 2008).

2.2.3. Faktori koji utječu na percepciju okusa i osjeta vina

Faktori koji utječu na sposobnost prepoznavanja pojedinih okusa i osjeta vina mogu se podijeliti na fizikalne, kemijske, biološke i psihološke faktore (Jackson, 2002).

- Fizikalni faktori koji utječu na percepciju okusa i osjeta vina su temperatura i pH vrijednost. Iako je način na koji temperatura utječe na percepciju okusa i osjeta vina još uvijek nejasan, poznato je da se hlađenjem vina smanjuje okus slatkoće šećera i gorčine alkaloida u vinu (Green i Frankmann, 1987), a povećava percepcija gorčine i trpkooće tanina. Razlog tome vjerojatno je podraživanje različitih receptora od strane alkaloida i tanina. pH vrijednost na percepciju okusa i osjeta vina može utjecati izravno (utječe na ionizaciju soli i kiselina) i posredno (utječe na topljivost, oblik i biološku aktivnost proteina) (Jackson, 2002).
- Na percepciju okusa i osjeta vina utječu različiti kemijski spojevi vina, kao i njihove međusobne interakcije. Alkohol u vinu doprinosi slatkoći vina, te povećava intenzitet gorčine tanina. Nasuprot tome, smanjuje intenzitet trpkooće i kiselost nekih kiselina. Također, doprinosi stvaranju osjeta grijanja i punoće vina u ustima. Smanjenjem

kiselosti dolazi do smanjenja trpkooće vina, a tanini osim što doprinose trpkooći i gorčini vina, ujedno utječu na miris vina, dok glukoza u vinu doprinosi blagoj kiselosti vina (McBride i Finlay, 1990; Jackson, 2002).

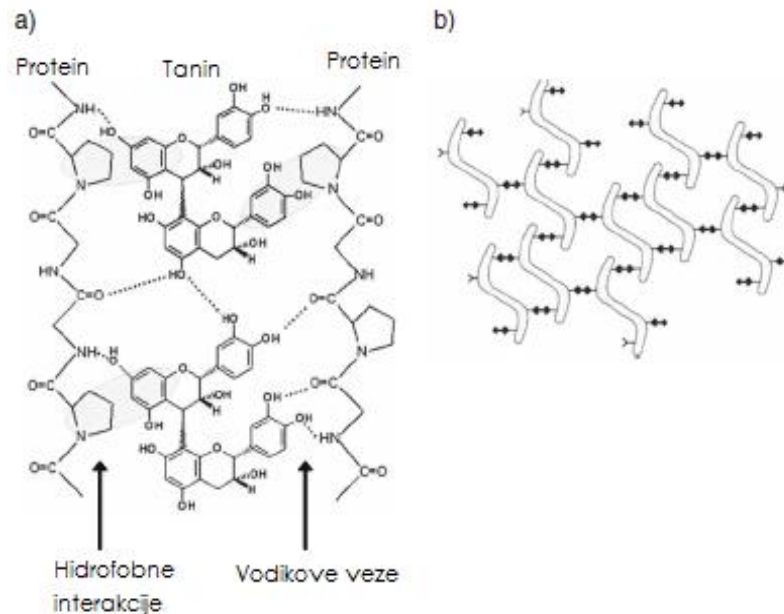
- Od bioloških faktora, važan čimbenik koji utječe na percepciju okusa i osjeta je starosna dob osoba, tj. okusna osjetljivost smanjuje se s dobi što je povezano sa smanjenjem broja okusnih pupoljaka u starijoj životnoj dobi (Stevens i Cain, 1993). Drugi razlog zbog kojeg se s vremenom kod bolesnika smanjuje okusna osjetljivost su kronične oralne i dentalne bolesti (Jackson, 2002). Kratkoročni gubitak oštine moguć je uslijed dugog izlaganja okusnim tvarima, odnosno adaptacije na određeni okus/osjet. Ukoliko vrijeme adaptacije nije završilo prije kušanja sljedećeg uzorka preporuča se čišćenje koje se provodi bijelim neslanim kruhom uz ispiranje vodom. Isto tako, moguća je adaptacija uslijed prijelaza s jednog na drugi okus/osjet (unakrsna adaptacija), posljedica toga je primjerice percepcija slatkoće u vodi nakon kušanja gorke ili slane otopine (McBurney i Bartoshuk, 1973).
- Na percepciju okusa i osjeta vina, kao i na njegovu ukupnu kvalitetu utječu boja vina (Clydesdale, 1993), te kulturološke navike pojedinaca (Jackson, 2002).

2.3. OSJET TRPKOOĆE VINA

Trpkooća vina definirana je kao taktilni osjet koji se javlja unutar usne šupljine prilikom stimuliranja receptora trigeminalnog živca. Primarni deskriptori trpkooće su suhoća u ustima, te neugodan i grub osjet skupljanja i stezanja tkiva u usnoj šupljini (jezik, fornix, nepce, bukalna sluznica, ždrijelo) (Lawless i sur., 1994).

Trpkooća nastaje kao reakcija vezanja tanina i proteina sline, u prvom redu proteina bogatih prolinom (čine 70 % sline) i mucinima (glikoproteini koji čine sluzavi sekret sline), pri čemu dolazi do smanjenja lučenja sline, a time i osjećaja suhoće u ustima. Nastali agregati precipitiraju što stvara efekt „skupljanja i stezanja” tkiva u usnoj šupljini (Jackson, 2002). Predloženi mehanizmi protein-tanin interakcija uključuju kombinaciju hidrofobnih interakcija i vodikovih veza što je prikazano i na Slici 4. Hidrofobne interakcije nastaju između aromatskih prstena proantocijanidina i heterocikličkih prstena proteina bogatih prolinom, dok

se vodikove veze javljaju između hidroksilnih skupina proantocijanidina i nepolarnih bočnih lanaca prolina. Iako afinitet za protein-tanin interakcije prvenstveno ovisi o karakteristikama (strukтури) tanina (Jackson, 2002), isto tako značajan utjecaj na percepciju trpkooće također imaju etanol i pH vrijednost vina budući da visoka kiselost u vinu može uzrokovati precipitaciju glikoproteina sline i povećanje percepcije trpkooće, dok povećanjem udjela etanola dolazi do smanjenja intenziteta trpkooće (Fontoin i sur., 2008).



Slika 4. Shematski prikaz protein-tanin interakcija: a) prikaz veza između aromatskih prstena tanina i amino skupina i nepolarnih bočnih lanaca aminokiseline prolina; b) nastali protein-tanin agregat (Santos-Buelga i de Freitas, 2009)

Osjet trpkooće u ustima razvija se polako i ima dugotrajno djelovanje. Ovisno o strukturi i koncentraciji polifenolnih spojeva (tanina) u vinu, maksimalan intenzitet trpkooće postiže se nakon 10-15 sekundi, dok smanjenje percipiranog intenziteta traje znatno duže (60-75 sekundi). Također, intenzitet i vrijeme djelovanja trpkooće povećavaju se prilikom uzastopnog kušanja više uzoraka vina, pa kako bi se izbjeglo prividno povećanje intenziteta trpkooće preporuča se čišćenje nepca neslanim kruhom i ispiranje vodom (Guinard i sur., 1986).

2.3.1. Kondenzirani tanini (proantocijanidini)-nositelji senzorskog svojstva trpkoe

Flavanoli su flavonoidni polifenolni spojevi grozda i vina odgovorni za osjet trpkoe, ali i okus gorcine vina. Osnovni flavan-3-oli grozda i vina su: (+)-katehin, (-)-epikatehin, (+)-galokatehin i (-)-epigalokatehin. Polimerizacijom ovih konstituenata nastaju oligomerne i polimerne forme koje nazivamo proantocijanidini ili kondenzirani tanini (Kennedy i sur., 2006). Ove spojeve nalazimo u sjemenci i pokožici grozda, odakle procesom maceracije prelaze u vino (Downey i sur., 2006). Proantocijanidini pokožice strukturno se razlikuju od proantocijanidina sjemenki grozda budući da ih karakterizira viši stupanj polimerizacije i niži stupanj galoilacije (Downey i sur., 2003), međutim proantocijanidini i sjemenke i pokožice percipiraju u definiranju trpkoe vina. Flavan-3-ol monomeri su primarno gorki, polimeri (proantocijanidini) više trpki nego gorki, a oligomeri podjednako i trpki i gorki. Naime, općenito vrijedi da povećanjem stupnja polimerizacije, tj. povećanjem veličine i duljine proantocijanidinskog lanca dolazi do povećanja intenziteta trpkoe, dok se intenzitet gorcine smanjuje (Cheynier i sur., 2006; Kennedy, 2008).

Budući da su proantocijanidini vrlo nestabilni spojevi, ovi spojevi tijekom proizvodnje i dozrijevanja vina podliježu brojnim kemijskim promjenama pri čemu nastaju novi spojevi. Senzorska svojstva novonastalih spojeva značajno se razlikuju od izvornih što uvelike doprinosi razlikama u osjetu trpkoe između mladih i starih vina (Jackson, 2008; Cheynier i sur., 2006), odnosno smanjenju trpkoe (Chira i sur., 2011). Promjene kojima podliježu proantocijanidini, a koje dovode do značajnog smanjenja trpkoe vina su direktna kondenzacija proantocijanidina i antocijana, kao i indirektno vezanje ovih spojeva posredstvom acetaldehida čime se sprječavaju daljnja polimerizacija proantocijanidina kao i povećanje trpkoe vina (Fulcrand i sur., 2006). Također, strukturne promjene u sastavu proantocijanidina tijekom dozrijevanja obuhvaćaju reakcije depolimerizacije i precipitacije velikih polimera, što također utječe na smanjenje trpkoe vina (Cheynier i sur., 2006).

2.3.2. Interakcija trpkoe i ostalih komponenata vina

Osim strukture i koncentracije proantocijanidina, percepciji trpkoe značajno doprinose i udio alkohola, ukupna kiselost vina, tj. pH i polisaharidi grozda.

Znatnom smanjenju trpkoe pridonosi povećanje udjela alkohola, čiji se udio u vinima kreće između 11% i 15 %, pri čemu se kao razlog smanjenja trpkoe navode promjene u

konformaciji proantocijanidina kod vina s većim udjelom alkohola, čime je ograničeno njihovo vezanje s proteinima sline, pa samim time i precipitacija nastalih agregata (Fontoin i sur., 2008; Pascal i sur., 2008). Osim toga, Smith i sur. (1996) navode kako smanjenju trpkooće doprinose vina s većim udjelom alkohola i povećanom viskoznosti.

U istraživanjima koja su proveli Fontoin i sur. (2008) i Kallitharka i sur. (1997) na model otopinama vina i u vinima dokazano je kako sniženjem pH dolazi do porasta precipitiranih agregata nastalih povezivanjem proantocijanidina i proteina sline, tj. povećanja trpkooće u vinu. Ujedno navode kako povećanju trpkooće značajno više pridonosi sniženje pH vina u odnosu na porast ukupne kiselosti vina. Iako pH ovisi o količini ukupnih kiselina, pH vrijednost nije izravno proporcionalna količini ukupnih kiselina u vinu, što prvenstveno ovisi o sadržaju vinske kiseline u vinu.

Smanjenju trpkooće također doprinose polisaharidi koji mogu stvarati komplekse s nastalim protein-tanin agregatima čime se poboljšava topljivost nastalih kompleksa u vodi, te se sprječava njihovo taloženje (Carvalho i sur., 2006; Soares i sur., 2009) ili djeluju kao učinkoviti inhibitori protein-tanin interakcija vezajući se na proantocijanidine stvarajući makromolekule koje precipitiraju čime se smanjuje mogućnost vezanja proantocijanidina na proteine sline (Escot i sur., 2001).

2.3.3. Metode deskriptivne analize u procjeni trpkooće vina

Neke od metoda deskriptivne analize koje se mogu koristiti u procjeni intenziteta trpkooće vina su: kvantitativna deskriptivna analiza, analiza intenziteta kroz vrijeme, spektrum analiza i Gawel metoda.

Kvantitativna deskriptivna analiza (engl. *quantitative descriptive analysis*, QDA) najčešće je korištena deskriptivna metoda. Panelisti imaju zadatak utvrditi postoji li određeno pojedinačno svojstvo i ako postoji, koliki je njegov intenzitet. Intenzitet senzorskog svojstva može se iskazati primjenom različitih skala. Diskontinuirane, numeričke ili linijske skale obično su sastavljene od neparvog maksimalnog broja bodova (5, 7, 9), pri čemu svaki bod ima svoje opisno značenje. Zbog opisnog značenja otežana je matematička i statistička obrada podataka dobivenih diskontinuiranim skalama (npr. intenzitet 6 zapravo nije dvostruka vrijednost intenziteta 3). Stoga se u kvantitativnoj deskriptivnoj analizi u pravilu primjenjuju numeričke ili linijske skale. Rezultati dobiveni kvantitativnom deskriptivnom analizom uz

primjenu numeričke skale prikladni su za grafičko prikazivanje okusnih i mirisnih svojstava vina, pri čemu se jednostavno može dobiti uvid u svojstva jednog uzorka i usporediti ih sa svojstvima drugih uzoraka (Meilgaard i sur., 2007; Lawless i Heymann, 2010).

Analiza intenziteta kroz vrijeme (engl. *time intensity analysis*, TI) je metoda kojom se korištenjem skala mjeri intenzitet vremenske dinamike, tj. kojom se kontinuirano prate promjene percipiranog svojstva u ustima do trenutka pljuvanja kušanog uzorka. Za razliku od ostalih deskriptivnih metoda, ova metoda pruža više informacija o percipiranom svojstvu kao što su: vrijeme potrebno za postizanje maksimalnog intenziteta, maksimalan percipirani intenzitet, trajanje percipiranog svojstva i vremenska dinamika percepcije. Iako se metoda pokazala korisnom u kvantitativnoj procjeni dinamike pojedinih ili više svojstava vina, kako bi se izbjegla adaptacija na percipirano svojstvo potrebno je mijenjati vrijeme pljuvanja kušanog uzorka i koncentracije percipiranih svojstava u kušanim uzorcima (Lawless i Heymann, 2010; Jackson, 2002).

Spektrum metoda (engl. *spectrum method*) razvijena je kao metoda koja nastoji identificirati i kvantificirati pojedine senzorske karakteristike proizvoda koje su važne u senzorskoj procjeni, pri čemu se za opis pojedinog svojstva koriste unaprijed precizno i detaljno definirani termini, zbog čega je potrebna dobra utreniranost panela kako bi se postigla određena razina usklađenosti među panelistima. Percipirani intenzitet procjenjuje se korištenjem univerzalne numeričke skale 0-15 na kojoj su već unaprijed označeni intenziteti referentnih uzoraka (Kemp i sur., 2009; Lawless i Heymann, 2010).

Gawel i sur. (2000) su razvili i predložili hijerarhijski kategoriziran vokabular okusa i osjeta crnog vina, tzv. kotač okusa i osjeta crnog vina kako bi se pomoglo u identificiranju i razvrstavanju oralnih senzacija potaknutih prilikom kušanja vina. Razvoj terminologije proveden je u 2 faze. U 1. fazi je na temelju šestotjednog kušanja 72 vina definiran vokabular trpkocće, dok je u 2. fazi na temelju sedmotjednog kušanja 75 vina definiran vokabular ostalih osjeta i okusa vina, čime je panelistima pomoću objektivnih i dobro definiranih termina olakšano opisivanje pojedinog deskriptora.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJAL

3.1.1. Uzorci

U radu su za treniranje kušača, kao i za senzorsku i kemijsku analizu uzoraka korištena sljedeća vina.

- Graševina, Kutjevo de Gotho, 2014
- Graševina, Belje, 2014
- Malvazija, Kozlović, 2015
- Chardonnay, Galić, 2014
- Sauvignonblanc, Korak, 2015
- Traminac, Trs vrh, 2015
- Muškat žuti, BolfanLibertin, 2015
- Rosé, Tomaz, 2015
- Pinotnoir, BolfanLibertin, 2013
- Cabernetsauvignon, Castillo de Molina, 2013
- Cabernetsauvignon, Agrolaguna, 2014
- Merlot, Belje, 2011
- Teran, Degrassi, 2010

3.1.2. Kemikalije

Reagensi i standardi korišteni u ovom radu bili su najmanje *pro analysis* stupnja čistoće.

- L -(+)- vinska kiselina, p.a., Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Kafein, 98,5 %, AcrosOrganics, Geel, Belgija
- Aluminijev sulfat, 99,9 %, Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD
- Etanol (96 %), p.a., Gram-Mol, Zagreb, Hrvatska
- Natrijev hidroksid, 97%, AcrosOrganics, Geel, Belgija

- Enološki tanini (TANIN VR GRAPE[®] - tanini grožđa), Laffort, Bordeaux, Francuska
- 0,1 M natrijev hidroksid, p.a., Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD
- Klorovodična kiselina (37 %), p.a., Gram-Mol, Zagreb, Hrvatska

3.1.3. Aparatura

- pH metar, pH/cond-meter inoLab 720, WTW GmbH, Weilheim, Njemačka
- Analitička vaga, MettlerToledo, Greifensee, Švicarska
- UV/Vis spektrofotometar, SPECORD[®] 50 PLUS, AnalytikJena, Jena, Njemačka

3.2. METODE

3.2.1. Formiranje i trening panela za trpkocu vina

Formiranje i trening panela provedeni su kroz 11 kušanja (11 testova) tijekom 6 uzastopnih tjedana, pri čemu je sudjelovalo 27 dobrovoljaca (15 žena i 12 muškaraca), djelatnika i studenata Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Selekcija i trening panel grupe provedeni su temeljem subjektivne zainteresiranosti i motiviranosti pojedinaca, objektivne mogućnosti za sudjelovanje u treningu, kao i niže navedenih testova. U skladu s ISO normom (ISO 8586, 1993) kao referentni standard za trpkocu korišten je aluminijev sulfat uz enološke tanine, te vinska kiselina za kiselost i kafein za gorčinu. Naime, trening je proveden i na otopinama zajedničkih/kombiniranih standarda trpkocē, gorčine i kiselosti, budući da povećanje kiselosti značajno utječe i na povećanje trpkocē vina (Fontoin i sur., 2008), a također i sama gorčina može utjecati na percepciju intenziteta trpkocē (Arnold i Noble, 1978).

Prva selekcija kušača provedena je testom prepoznavanja okusa/osjeta odnosno trpkocē, pojedinačno i uz gorčinu – Test 1. Pripremljene su vodene otopine standarda aluminijevog sulfata (trpkocē) u koncentraciji 0,5 g L⁻¹ i enoloških tanina (trpkocē i gorčina) u koncentraciji 1 g L⁻¹ uz dodatak 1 % etanola zbog poboljšanja topljivosti. Zadatak kušača bio je kušati navedena dva uzorka te naznačiti prepoznati osjet odnosno osjet i okus prema ocjenjivačkom listiću prikazanom na Slici 5.

TEST PREPOZNAVANJA OKUSA/OSJETA

Ime i prezime ocjenjivača: _____

Datum ispitivanja: _____

Molimo Vas da uzorke kušate navedenim redoslijedom!

Oznaka uzorka	Da li osjećate okus/osjet?		Da li ga prepoznajete?		Naznačite prepoznati okus/osjet
	DA	NE	DA	NE	
000	DESTILIRANA VODA				
594					
492					

Slika 5. Ocjenjivački listić testa prepoznavanja okusa/osjeta (Test 1)

Sljedeća selekcija kušača provedena je triangl testom – Test 2. Pripremljene su otopine standarda aluminijevog sulfata (trpkoca) koncentracije $0,5 \text{ g L}^{-1}$ i enoloških tanina (trpkoca i gorčina) koncentracije $0,5 \text{ g L}^{-1}$ u model otopini vina (4 g L^{-1} vinske kiseline, 12 % etanola, $\text{pH}=3,5$ uz korekciju pomoću NaOH). Svaka otopina standarda postavljena je uz dvije model otopine vina u triangl testu. Zadatak kušača bio je kušati navedena tri uzorka te označiti uzorak različit od preostala dva, a potom naznačiti prepoznati osjet/okus prema ocjenjivačkom listiću prikazanom na Slici 6.

TRIANGL TEST

Ime i prezime ocjenjivača: _____

Datum ispitivanja: _____

Kušajte uzorke s lijeve na desnu stranu, zaokružite uzorak koji se razlikuje od preostala 2, te naznačite prepoznati okus/osjet.

Okus/Osjet:

586	712	946	_____
302	100	654	_____

Slika 6. Ocjenjivački listić triangl testa (Test 2)

Nakon selekcije kušača, uslijedio je trening koji je proveden prvo primjenom niza ranking testova (Test 3-9), a potom primjenom kvantitativne deskriptivne analize (Test 10 i 11).

U ranking testovima pripremljene su otopine pojedinačnih standarda i to aluminijevog sulfata (trpkoca) u koncentracijama 0, 1, 2 g L⁻¹ u bijelom vinu (Test 3), enoloških tanina (trpkoca i gorčina) u koncentracijama 0, 1, 2 g L⁻¹ u bijelom vinu (Test 4), aluminijevog sulfata u koncentracijama 0, 1, 2 g L⁻¹ u crnom vinu (Test 5), enoloških tanina u koncentracijama 0, 1, 2 g L⁻¹ u crnom vinu (Test 6), enoloških tanina u koncentracijama 0, 1, 2, 4 g L⁻¹ u crnom vinu (Test 7); a zatim otopine kombiniranih standarda i to enoloških tanina, kafeina i vinske kiseline (trpkoca, gorčina i kiselina) u koncentracijama 0, 0,5, 1 g L⁻¹ u bijelom vinu (Test 8) te kombiniranih standarda enoloških tanina, kafeina i vinske kiseline (trpkoca, gorčina i kiselina) u koncentracijama 0, 1, 2 g L⁻¹ u crnom vinu (Test 9). Kod pripreme navedenih otopina standarda korišteni su bijelo vino Graševina, Belje, 2014 te crno vino Cabernet sauvignon, Agrolaguna, 2014. Zadatak kušača kod svakog ranking testa bio je kušati naznačene uzorke te ih poredati prema intenzitetu trpkoca na ocjenjivačkom listiću prikazanom na Slici 7.

RANKING TEST

Ime i prezime ocjenjivača: _____

Datum ispitivanja: _____

INTENZITET TRPKOĆE

Nakon što kušate sva tri uzorka poredajte ih prema intenzitetu trpkooće počevši od najnižeg prema najvišem intenzitetu trpkooće.



Slika 7. Ocjenjivački listić ranking testa (Test 3-9)

Senzorskom analizom provedeno je ocjenjivanje intenziteta trpkooće vina pri čemu je kao metoda za procjenu osjeta trpkooće korištena kvantitativna deskriptivna analiza (QDA).

Trening primjenom kvantitativne deskriptivne analize (QDA) obuhvatio je ocjenu intenziteta trpkooće u otopinama kombiniranih standarda. Pripremljene su otopine enoloških tanina i kafeina (trpkooća i gorčina) u koncentracijama 0 i 1 g L⁻¹ u bijelom vinu (Test 10) te enoloških tanina i kafeina (trpkooća i gorčina) u koncentracijama 0 i 2 g L⁻¹ u crnom vinu (Test 11). Zadatak kušača bio je ocijeniti intenzitet trpkooće otopine standarda, koristeći numeričku skalu 0-7 (0=bez osjeta, 1=vrlo slaba, 2=slaba, 3=srednja, 4=snažna, 5=vrlo snažna, 6=intenzivna, 7=vrlo intenzivna) prema ocjenjivačkom listiću prikazanom na Slici 8. Uz otopinu standarda, kušačima su tijekom kušanja bile dostupne i referentne otopine poznatog intenziteta trpkooće i to otopina standarda enoloških tanina i kafeina (trpkooća i gorčina) u koncentraciji 0,5 g L⁻¹ u bijelom vinu intenziteta trpkooće 2 (Test 10) te u koncentraciji 1g L⁻¹ u crnom vinu intenziteta trpkooće 3 (Test 11).

TEST KVANTITATIVNE DESKRIPTIVNE ANALIZE

Ime i prezime ocjenjivača: _____

Datum ispitivanja: _____

Kušajte referentni uzorak (000), te u odnosu na njega ocijenite intenzitet trpkocće preostala dva uzorka koristeći skalu od 0-7.

TRPKOĆA		0	1	2	3	4	5	6	7
0 = bez osjeta	000	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1 = vrlo slaba									
2 = slaba	445	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3 = srednja									
4 = snažna	126	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5 = vrlo snažna									
6 = intenzivna									
7 = vrlo intenzivna									

Slika 8. Ocjenjivački listić testa kvantitativne deskriptivne analize (Test 10 i 11)

Testovi provedeni tijekom selekcije i treniranja panela, kao i popis i koncentracije korištenih otopina standarda sumarno su prikazani na Slici 9.

TEST 1	Prepoznavanje osnovnih okusa/osjeta u vodenim otopinama	0,5 g L ⁻¹ aluminijev sulfat (trpkoca) 1 g L ⁻¹ enološki tanini (trpkoca i gorčina)
TEST 2	Triangl test (model otopina vina) A A B ili B B A	0,5 g L ⁻¹ aluminijev sulfat (trpkoca) 0,5 g L ⁻¹ enološki tanini (trpkoca i gorčina)
TEST 3	Ranking test (bijelo vino) <input type="checkbox"/> < <input type="checkbox"/> < <input type="checkbox"/>	0-1-2 g L ⁻¹ aluminijev sulfat (trpkoca)
TEST 4	Ranking test (bijelo vino) <input type="checkbox"/> < <input type="checkbox"/> < <input type="checkbox"/>	0-1-2 g L ⁻¹ enološki tanini (trpkoca i gorčina)
TEST 5	Ranking test (crno vino) <input type="checkbox"/> < <input type="checkbox"/> < <input type="checkbox"/>	0-1-2 g L ⁻¹ aluminijev sulfat (trpkoca)
TEST 6	Ranking test (crno vino) <input type="checkbox"/> < <input type="checkbox"/> < <input type="checkbox"/>	0-1-2 g L ⁻¹ enološki tanini (trpkoca i gorčina)
TEST 7	Ranking test (crno vino) <input type="checkbox"/> < <input type="checkbox"/> < <input type="checkbox"/> < <input type="checkbox"/>	0-1-2-4 g L ⁻¹ enološki tanini (trpkoca i gorčina)
TEST 8	Ranking test (bijelo vino) <input type="checkbox"/> < <input type="checkbox"/> < <input type="checkbox"/>	0-0,5-1 g L ⁻¹ enološki tanini, kafein i vinska kiselina (trpkoca, gorčina i kiselost)
TEST 9	Ranking test (crno vino) <input type="checkbox"/> < <input type="checkbox"/> < <input type="checkbox"/>	0-1-2 g L ⁻¹ enološki tanini, kafein i vinska kiselina (trpkoca, gorčina i kiselost)
TEST 10	QDA-test (bijelo vino) 0-7 trpkoca	0-1 g L ⁻¹ enološki tanini i kafein (trpkoca i gorčina) referentni uzorak (intenzitet trpkoca = 2): 0,5 g L ⁻¹ enološki tanini i kafein
TEST 11	QDA-test (crno vino) 0-7 trpkoca	0-2 g L ⁻¹ enološki tanini i kafein (trpkoca i gorčina) referentni uzorak (intenzitet trpkoca = 3): 1 g L ⁻¹ enološki tanini i kafein

Slika 9. Shematski prikaz odabira i treniranja panela za senzorsku analizu trpkoca vina

3.2.2. Senzorska analiza intenziteta trpkooće uzoraka vina

Senzorsko ocjenjivanje intenziteta trpkooće bijelih, rosé i crnih vina provedeno je kvantitativnom deskriptivnom analizom panel grupe, uz primjenu numeričke skale 0-7 (Ćurko i sur., 2014) te prema ocjenjivačkom listiću prikazanom na Slici 10.

Prethodno ohlađena vina (bijela i rosé vina na 12 °C, crna vina na 18 °C) ocijenjena su u crnim kodiranim čašama uz prisutnost referentne otopine tj. uzorka poznatog intenziteta trpkooće. Senzorska analiza intenziteta trpkooće bijelih vina provedena je uz otopinu standarda enoloških tanina i kafeina (trpkooća i gorčina) koncentracije 0,5 g L⁻¹ i intenziteta trpkooće 2. Senzorska analiza intenziteta trpkooće rosé i crnih vina provedena je uz otopinu standarda enoloških tanina i kafeina (trpkooća i gorčina) koncentracije 1 g L⁻¹ i intenziteta trpkooće 3. Uzorci vina (30 mL) kušani su nakon referentnog uzorka na način da je svaki kušač u usta stavio vino, provukao ga po cijelim ustima (jezik, obrazi i nepce), zadržao ga nakratko u ustima, izbacio ga iz usta, te nakon toga procijenio intenzitet trpkooće. Kako bi se izbjegao efekt prijenosa trpkooće na sljedeći uzorak tzv. „carryover” efekt (Guinard i sur., 1986) kušači su između kušanja dvaju uzoraka usta isprali neslanim kruhom i vodom, uz pauze od 30 sekundi između uzoraka.

TEST KVANTITATIVNE DESKRIPTIVNE ANALIZE								
Ime i prezime ocjenjivača: _____								
Datum ispitivanja: _____								
Kušajte referentni uzorak (000), te u odnosu na njega ocijenite intenzitet trpkooće preostalih šest uzoraka koristeći skalu od 0-7.								
TRPKOĆA	0	1	2	3	4	5	6	7
0 = bez osjeta	000	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1 = vrlo slaba	137	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2 = slaba	260	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3 = srednja	442	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4 = snažna	785	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5 = vrlo snažna	909	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6 = intenzivna	961	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7 = vrlo intenzivna	961	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Slika 10. Ocjenjivački listić formalnog ocjenjivanja uzoraka

3.2.3. Određivanje ukupnih tanina

Ukupni tanini određeni su prema Bate-Smith metodi koja se temelji na hidrolizi tanina pri temperaturi od 100 °C pri čemu dolazi do formiranja obojenih antocijanidina (Ribereau-Gayon i Stonestreet, 1966). Razlika obojenja između hidroliziranog zagrijanog i nezagrijanog uzorka određuje se spektrofotometrijski pri 550 nm. Razlika apsorbancije između ta dva uzorka pokazuje količinu tanina.

Uzorak vina razrijeđen je 50 puta. Nakon toga je u dvije tube za hidrolizu otpipetirano po 2 mL razrijeđenog ekstrakta, 1 mL destilirane vode i 3 mL klorovodične kiseline (37 %) te su tube hermetički zatvorene. Jedna tuba je ostavljena na sobnoj temperaturi, dok je druga stavljena u vodenu kupelj na 100 °C. Nakon 30 minuta tuba je izvađena iz vodene kupelji i ohlađena tijekom 5 minuta ledom. U obje tube dodano je 500 µL etanola (96 %) nakon čega se je izmjerila optička gustoća pri 550 nm nasuprot destiliranoj vodi kao slijepoj probi.

Koncentracija tanina u razrijeđenom uzorku izračunata je prema formuli:

$$\text{Tanini (g L}^{-1}\text{)} = 19,33 \times (D_1 - D_2) \quad [1]$$

Gdje je:

19,33 – faktor preračunavanja

D_1 – optička gustoća hidroliziranog uzorka

D_2 – optička gustoća nehidroliziranog uzorka

3.2.4. Određivanje pH i ukupne kiselosti vina

Postupkom mjerenja pH vrijednosti utvrđuje se razlika u potencijalu između dviju elektroda uronjenih u ispitivani tekući uzorak, pri čemu je potencijal jedne od elektroda u funkciji pH vrijednosti tekućeg uzorka, dok druga elektroda ima stalan i poznati potencijal te predstavlja referentnu elektrodu (OIV, 2015a).

Mjerenje pH vrijednosti provedeno je direktno, bez posebne pripreme uzoraka. Prije samog mjerenja aparatura je namještena prema priloženim uputama, nakon čega je pH metar kalibriran pri 20 °C pufer otopinama pH 6,88 i 3,57. Upotrebom pufer otopine pH 4,00 pri 20 °C izvršena je provjera skale. Elektroda je uronjena u uzorak čija je temperatura bila između 20 i 25 °C (po mogućnosti što bliže 20 °C), te je pH vrijednost očitana direktno sa skale.

Svaki uzorak izmjeren je dva puta. Konačni rezultat aritmetička je sredina dva mjerenja. Vrijednost pH uzoraka vina izražena je na dva decimalna broja.

Metoda određivanja ukupne kiselosti vina temelji se na potenciometrijskoj titraciji uzorka s otopinom natrijevog hidroksida. Sve slobodne organske i anorganske kiseline i njihove soli, te druge kisele tvari neutraliziraju se otopinom natrijevog hidroksida iz čijeg se utroška izračuna ukupna kiselost (OIV, 2015b). Ukupna kiselost izražena je kao vinska kiselina u g L^{-1} .

U laboratorijsku čašu otpipetirano je 10 mL pripremljenog uzorka, nakon čega se je uz lagano miješanje uzorak titrirao s 0,1 M NaOH dok se nije postigla vrijednost od pH 7,00.

Koncentracija ukupne kiselosti u ispitivanom uzorku izračunata je prema formuli:

$$\text{Ukupna kiselost (g L}^{-1}\text{)} = 0,75 \times a \times f \quad [2]$$

Gdje je:

0,75 – faktor za preračunavanje kiselosti na vinsku kiselinu

a – volumen (mL) 0,1 M NaOH utrošenog za neutralizaciju

f – faktor 0,1 M NaOH (f=1,000)

3.2.5. Statistička analiza

Obrada podataka dobivenih tijekom treniranja kušača, kao i tijekom senzorske analize intenziteta trpkooće uzoraka vina, ovisno o primijenjenom testu provedena je odgovarajućom statističkom metodom.

Rezultati kušanja dobiveni nakon provedenih ranking testova statistički su obrađeni Pageovim testom koji predstavlja varijaciju Friedmanovog testa, a koristi se samo pri testiranju uzoraka koje karakterizira unaprijed određeni redoslijed (ISO 8587, 1988). Za testiranje pretpostavke da li je grupa kušača u mogućnosti rangirati uzorke prema unaprijed određenom slijedu odnosno njihovoj koncentraciji, potrebno je izračunati:

$$L = R_1 + 2R_2 + 3R_3 + \dots + PR_p \quad [3]$$

Gdje su:

R_1, R_2, R_3, R_P – sume redova pridodane uzorcima

Nakon toga se dobivena L vrijednost uspoređuje s kritičnim vrijednostima. Ukoliko je L vrijednost veća ili jednaka od kritične vrijednosti koju definira broj kušača i broj uzoraka te uz određenu razinu značajnosti od $p < 0,05$ ili $p < 0,01$, može se zaključiti da su kušači rangirali uzorke prema pretpostavljenom slijedu. Dalje, potrebno je izračunati:

$$L' = \frac{12L - 3JP(P+1)^2}{P(P+1)\sqrt{J(P-1)}} \quad [4]$$

Gdje je:

P – broj uzoraka

J – broj kušača

Hipoteza se prihvaća ako je:

$$L' > 1,645 \quad (p < 0,05)$$

$$L' > 2,326 \quad (p < 0,01)$$

Za obradu dobivenih podataka kvantitativne deskriptivne analize (tijekom treniranja kušača i formalnog ocjenjivanja uzoraka) korištena je dvosmjerna analiza varijance (*Two-way ANOVA test*). Na taj način praćene su razlike između kušača i utvrđene performanse panela, kao i razlike u trpkocí između uzoraka pri čemu je svaki kušač ocjenjivao svaki uzorak. Dobiveni rezultati tumače se postignutom razinom statističke značajnosti (p vrijednost), pa ukoliko je $p < 0,05$ može se zaključiti da su utvrđene značajne razlike između kušača ili uzoraka i obrnuto. Međutim, kada je utvrđena značajna razlika između kušača ili uzoraka, ovim testom ne može se odrediti koji je to kušač ili uzorak koji se značajno razlikuje od preostalih, zbog čega se za daljnje analize koriste različiti post-hoc testovi (Kemp i sur., 2009). Nadalje, za utvrđivanje razlika između uzoraka u intenzitetu trpkocí kao post-hoc test korišten je Duncanov test, također uz razinu značajnosti $p < 0,05$.

Povezanost intenziteta trpkocí vina s količinom ukupnih tanina u vinu utvrđena je Pearsonovim koeficijentom korelacije.

Pearsonov koeficijent korelacije izračuna se prema formuli (Snedecor i Cochran, 1980):

$$r = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sqrt{\left[\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}\right] \left[\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n}\right]}} \quad [5]$$

Gdje je:

x – vrijednost nezavisne varijable za koju se određuje koeficijent korelacije

y – vrijednost zavisne varijable za koju se određuje koeficijent korelacije

n – broj varijabli koje se uspoređuju

Pearsonov koeficijent korelacije koristi se za varijable koje su u linearnom odnosu. Vrijednost Pearsonovog koeficijenta korelacije uvijek se nalazi između -1 i $+1$. Vrijednost koeficijenta korelacije od 0 do 1 je pozitivna korelacija i označava sukladan rast vrijednosti obje skupine podataka. Vrijednost koeficijenta korelacije od 0 do -1 označava negativnu korelaciju, odnosno sukladan porast vrijednosti jedne varijable, a pad vrijednosti druge varijable. Kada koeficijent korelacije ima vrijednost 0 , tada on označava nepostojanje linearne povezanosti, što upućuje na činjenicu kako se poznavajući vrijednosti jedne varijable ne može ništa zaključiti o vrijednostima druge varijable. U prikazu rezultata korelacija se uz koeficijent korelacije (r) navodi i značajnost koeficijenta korelacije (p). Ukoliko je koeficijent korelacije značajan s obzirom na postavljenu granicu značajnosti ($p < 0,001$), zaključuje se da je koeficijent korelacije značajan. Ukoliko je vrijednost $p > 0,001$ zaključuje se da koeficijent korelacije nije značajan (Udovičić i sur., 2007).

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu provedeni su odabir i trening kušača za senzorsku analizu trpkocé vina, nakon čega je uslijedila senzorska analiza intenziteta trpkocé vina od strane utrenirane panel grupe. Također, provedena je fizikalno-kemijska analiza uzoraka vina procijenjenih tijekom senzorske analize.

Postupak selekcije kušača proveden je testom prepoznavanja okusa/osjeta i triangl testom, a rezultati selekcije prikazani su u Tablici 1. Nakon selekcije, uslijedio je trening kušača koji je proveden nizom ranking testova i kvantitativnom deskriptivnom analizom. Rezultati treninga prikazani su u Tablicama 2 i 3.

Tijekom senzorske procjene intenziteta trpkocé vina, panel grupa procijenila je intenzitet trpkocé 11 bijelih, rosé i crnih vina primjenom kvantitativne deskriptivne analize. Rezultati procjene intenziteta trpkocé vina grafički su prikazani na Slikama 7 i 8.

Fizikalno-kemijska analiza vina obuhvatila je spektrofotometrijsko određivanje ukupnih tanina prema Bate-Smith metodi čiji su rezultati prikazani u Tablici 4, te mjerenje pH vrijednosti vina i potenciometrijsko određivanje ukupne kiselosti vina s rezultatima prikazanima u Tablici 5.

4.1. SELEKCIJA I TRENING KUŠAČA ZA SENZORSKU PROCJENU TRPKOĆE VINA

Odabir kandidata za sudjelovanje u treningu proveden je kroz dvije selekcije uz korištenje otopina standarda aluminijevog sulfata i enoloških tanina u koncentracijama iznad prosječnog praga osjetljivosti. Ukupan broj kandidata koji je sudjelovao na samom početku selekcije iznosio je 27. Prva selekcija kušača provedena je testom prepoznavanja okusa/osjeta u kojem je ukupno 24 od 27 kandidata (88,89 %) uspjelo prepoznati osjet trpkooće odnosno trpkooće s gorčinom. Sljedeća selekcija u kojoj je sudjelovalo 24 kandidata provedena je triangl testom. Nakon triangl testa eliminirano je 10 kandidata, odnosno za sam trening odabrano je 14 kandidata (58,33 %). Rezultati selekcije kušača prikazani su u Tablici 1.

Tablica 1. Selekcija kušača ne temelju testa prepoznavanja okusa/osjeta i triangl testa

	Ukupan broj kušača	Broj odabranih kušača	% Odabranih kušača
Test prepoznavanja okusa/osjeta (Test 1)			
trpkooća (aluminijev sulfat)	27	26	96,30
trpkooća i gorčina (enološki tanini)	27	24	88,89
Triangl test (Test 2)			
trpkooća (aluminijev sulfat)	24	16	66,67
trpkooća i gorčina (enološki tanini)	24	14	58,33

Trening 14 odabranih kušača proveden je ranking testovima, a potom i primjenom testova kvantitativne deskriptivne analize (QDA) s ciljem razvoja panela za analizu intenziteta trpkooće vina numeričkom skalom od 0 do 7.

Tijekom provođenja niza ranking testova kušači su kušali uzorke različitog intenziteta trpkooće i poredali ih od najmanjeg prema najvećem intenzitetu. Vrijednosti koje su kušači dodijelili pojedinom uzorku su zbrojene, a tako dobiveni podaci su statistički analizirani Pageovim testom. Dobiveni rezultati (Tablica 2) pokazuju kako su kušači u svim ranking testovima uspjeli prepoznati razlike u koncentraciji između uzoraka, tj. da su uzorke rangirali prema točno pretpostavljenom redosljedju, na što upućuje uvjet za prihvaćanje ove hipoteze pri čemu je $L' > 2,326$, uz razinu značajnosti $p < 0,01$.

Tablica 2. Trening kušača primjenom ranking testova

	Broj kušača	Broj uzoraka	Koncentracija uzorka (mg L ⁻¹)	L	L'	p vrijednost
Ranking test (Test 3)						
trpkoća (aluminijev sulfat)	14	3	0;1;2	192	4,535574	<0,01
Ranking test (Test 4)						
trpkoća i gorčina (enološki tanini)	14	3	0;1;2	195	5,102520	<0,01
Ranking test (Test 5)						
trpkoća (aluminijev sulfat)	14	3	0;1;2	193	4,724556	<0,01
Ranking test (Test 6)						
trpkoća i gorčina (enološki tanini)	14	3	0;1;2	192	4,535574	<0,01
Ranking test (Test 7)						
trpkoća i gorčina (enološki tanini)	14	4	0;1;2;4	418	6,295577	<0,01
Ranking test (Test 8)						
trpkoća, gorčina i kiselost (enološki tanini, kafein i vinska kiselina)	14	3	0;0,5;1	193	4,724556	<0,01
Ranking test (Test 9)						
trpkoća, gorčina i kiselost (enološki tanini, kafein i vinska kiselina)	14	3	0;1;2	191	4,346591	<0,01

Nadalje, kvantitativna deskriptivna analiza uzoraka uključila je procjenu intenziteta trpkoće korištenjem numeričke skale 0-7 (Tablica 3). Intenzitet trpkoće u Testu 10 procijenjen je u uzorku bijelog vina bez dodatka standarda te uzorku bijelog vina u kojeg su dodani standardi. Uzorak bijelog vina bez dodatka standarda kušači su ocijenili srednjom vrijednošću 1,2, dok je srednja vrijednost intenziteta trpkoće za uzorak bijelog vina s dodanim standardima iznosila 4,2. Statističkom obradom podataka u ovom testu utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika između kušača ($p=0,8842$). U Testu 11 provedeno je ocjenjivanje intenziteta trpkoće u uzorku crnog vina bez dodatka standarda te uzorku crnog vina u kojeg su dodani standardi, pri čemu su kušači uzorak crnog vina ocijenili srednjom vrijednošću 1,8, dok je uzorak s dodanim standardima ocijenjen srednjom vrijednošću 5,2. Nakon statističke obrade dobivenih rezultata i u ovom testu nisu utvrđene statistički značajne razlike između kušača ($p=0,9675$) u procjeni intenziteta trpkoće.

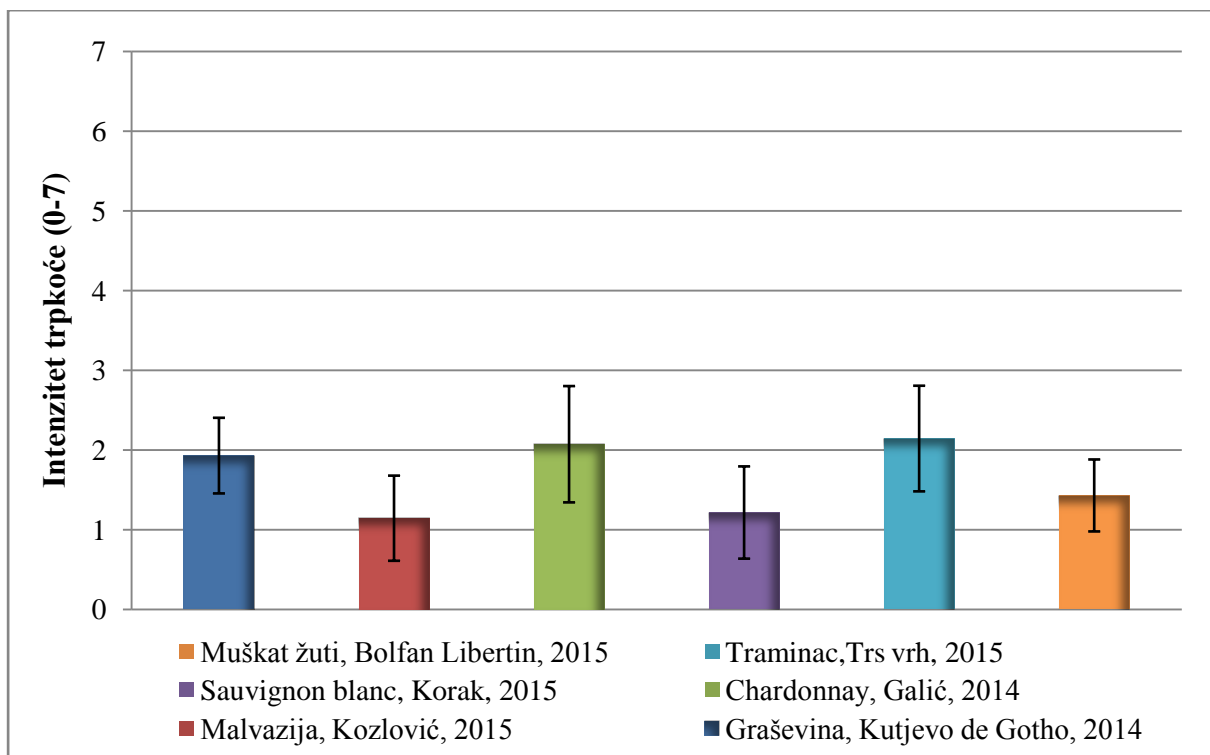
Tablica 3. Trening kušača primjenom kvantitativne deskriptivne analize (QDA)

	Broj kušača	p vrijednost (kušači)	Koncentracija uzorka (mg L ⁻¹)	Intenzitet trpkoe (0-7)
QDA1 (Test 10)	14	0,8842	0	1,2
trpkoe i gorčina (enološki tanini i kafein)			1	4,2
QDA 2 (Test 11)	14	0,9675	0	1,8
trpkoe i gorčinan(enološki tanini i kafein)			2	5,2

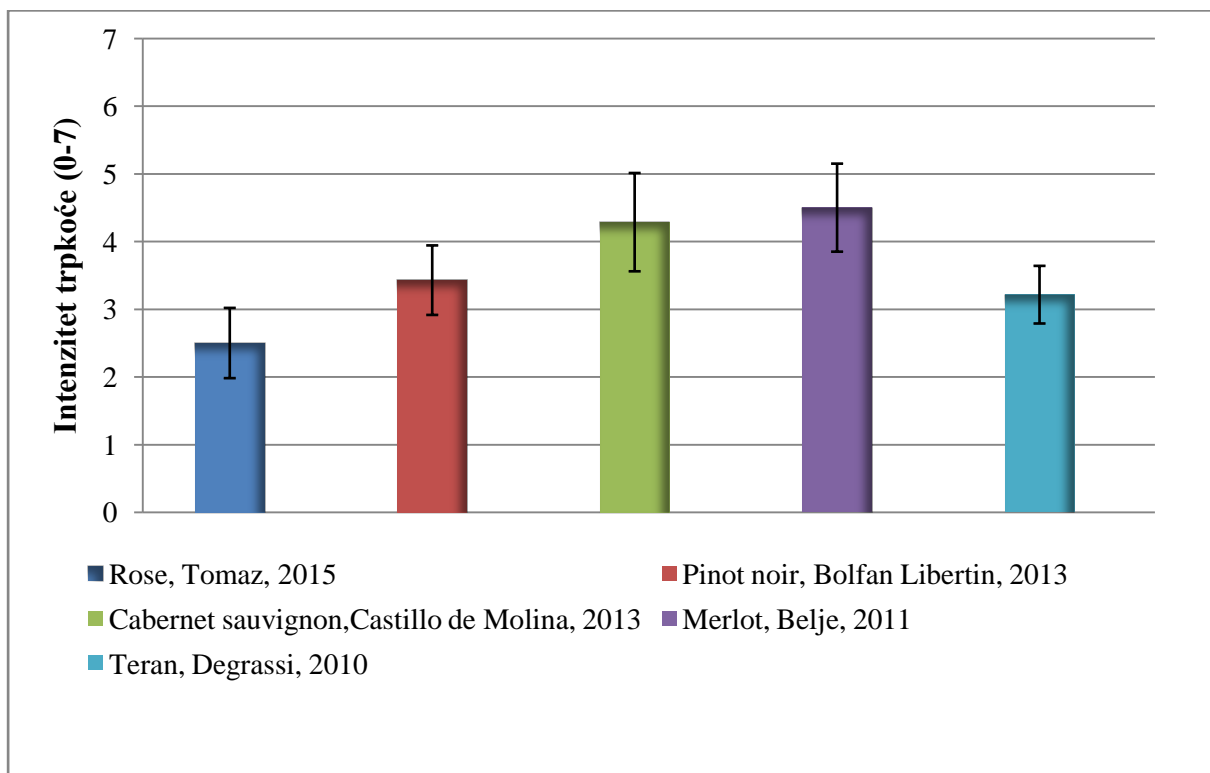
Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti kako je senzorsku analizu procjene intenziteta trpkoe provela homogena grupa panelista (p kušači $>0,05$). Ovakve rezultate potvrđuju i prethodno provedena istraživanja (Landon i sur., 2008; Gonzalo-Diago i sur., 2014) u kojima između kušača nije utvrđena značajna razlika u percepciji trpkoe tijekom treninga, dok su istodobno kušači uspješno razlikovali vina različitih koncentracija tanina na temelju percipirane trpkoe.

4.2. SENZORSKA PROCJENA INTENZITETA TRPKOE I KEMIJSKA ANALIZA UZORAKA VINA

Senzorska procjena intenziteta trpkoe vina provedena je u dvije analize (termina) tijekom kojih su kvantitativnom deskriptivnom analizom procijenjena bijela, rosé i crna vina uz korištenje numeričke skale 0-7. Tijekom prvog termina analizirano je 6 bijelih vina. Panelisti su vina ocijenili sljedećim intenzitetima trpkoe: Malvazija – 1,1; Sauvignon blanc – 1,2; Muškat žuti – 1,4; Graševina – 1,9; Chardonnay – 2,1 i Traminac – 2,1. Tijekom sljedećeg termina panelisti su procijenili intenzitet trpkoe 1 rosé i 4 crna vina. Vina su ocijenjena sljedećim intenzitetima trpkoe: Rosé – 2,5; Teran – 3,2; Pinot noir – 3,4; Cabernet sauvignon – 4,3 i Merlot – 4,5. Rezultati procjene grafički su prikazani na Slikama 12 i 13.



Slika 11. Intenzitet trpkocē bijelih vina



Slika 12. Intenzitet trpkocē crnih vina

Iz rezultata senzorske analize vina jasno je vidljivo kako su bijela vina u odnosu na crna percipirana kao manje trpkka. U ranijem istraživanju su de Beer i sur. (2002) utvrdili kako je razlika u intezitetu trpkooće između bijelih i crnih vina posljedica razlike u koncentraciji i sastavu polifenolnih spojeva, pri čemu su i u navedenom istraživanju bijela vina percipirana kao vina manjeg intenziteta trpkooće.

Naime, flavan-3-ol oligomeri i polimeri (proantocijanidini) su polifenolni spojevi odgovorni za trpkooću vina, a utvrđena je pozitivna korelacija između koncentracije proantocijanidina i percipiranog intenziteta trpkooće. Koncentracija i struktura ovih spojeva u grožđu i vinu ovise o faktorima kao što su sorta grožđa (Etiévant i sur., 1988), klimatski uvjeti (temperatura, svjetlost, vlaga) (Jackson i Lombard, 1993) i vrijeme berbe (zrelost grožđa) (Kennedy, 2008). U istraživanju koje su proveli de Beer i sur. (2002) dokazano je kako su koncentracije flavanola u bijelim vinima značajno niže ($11,5 \text{ mg L}^{-1}$) od koncentracija u crnim vinima ($208,8 \text{ mg L}^{-1}$), međutim isto tako uočene su značajne razlike u koncentracijama između pojedinih sorata bijelih vina ($2-29 \text{ mg L}^{-1}$) i sorata crnih vina ($27,3-557 \text{ mg L}^{-1}$). Stoga, razlog zbog kojeg su bijela vina općenito percipirana kao manje trpkka u odnosu na crna može biti veća koncentracija proantocijanidina u crnim vinima. Nadalje, na percepciju trpkooće osim koncentracije značajan utjecaj ima struktura proantocijanidina, pri čemu je utvrđena pozitivna korelacija između stupnja polimerizacije (veličine molekule) i percipirane trpkooće (Peleg i sur., 1999; Vidal i sur., 2003). Drugim riječima, povećanjem molekule proantocijanidina dolazi do povećanja intenzita trpkooće u grožđu i vinu.

Tijekom dozrijevanja vina može doći do značajnog smanjenja trpkooće, kako navode Cheynier i sur. (2006) zbog kemijskih promjena polifenolnih spojeva koje uključuju polimerizaciju i depolimerizaciju tanina, precipitaciju velikih polimera i kondenzaciju tanina i antocijana. Na to upućuje i istraživanje u kojem su Sun i sur. (2011) tijekom proizvodnje i dozrijevanja crnog vina pratili promjene u intenzitetu trpkooće, pri čemu je promjena trpkooće praćena u 4 faze (pretakanje, punjenje u boce, dozrijevanje nakon 6 mjeseci, dozrijevanje nakon 14 mjeseci). Rezultati senzorske procjene su pokazali kako je nakon svake od faza intenzitet trpkooće linearno opadao. Također, Vivas i Glories (1996) ustvrdili su kako na percepciju trpkooće utječe i dozrijevanje vina u barrique bačvama pri čemu se iz bačava u vino ekstrahiraju elagitanini koji štite ostale polifenolne spojeve vina od oksidacije te doprinose hidroperoksidaciji komponenata vina. Ove reakcije doprinose depolimerizaciji tanina i kondenzaciji tanina i antocijana, a posljedica toga jest smanjenje trpkooće i stabilizacija boje vina.

Tablica 4. Sastav ukupnih tanina u vinima

Vino	Ukupni tanini (mg L ⁻¹)
Graševina, Kutjevo de Gotho, 2014	143,4
Malvazija, Kozlović, 2015	75,6
Chardonnay, Galić, 2014	155,7
Sauvignon blanc, Korak, 2015	76,9
Traminac, Trs vrh, 2015	163,6
Muškat žuti, Bolfan Libertin, 2015	136,1
Rose, Tomaz, 2015	289,4
Pinot noir, Bolfan Libertin, 2013	2696,0
Cabernet sauvignon, Castillo de Molina, 2013	3749,4
Merlot, Belje, 2011	3724,8
Teran, Degrassi, 2010	2661,2

Tablica 5. Ukupna kiselost, pH i udio alkohola u vinima

Vino	Ukupna kiselost* (g L ⁻¹)	pH	% Alk
Graševina, Kutjevo de Gotho, 2014	5,7	3,72	13
Malvazija, Kozlović, 2015	4,6	3,44	13
Chardonnay, Galić, 2014	5,4	3,54	13
Sauvignon blanc, Korak, 2015	5,4	3,31	13
Traminac, Trs vrh, 2015	5,2	3,52	14
Muškatžuti, Bolfan Libertin, 2015	6,4	3,25	10,5
Rose, Tomaz, 2015	6,4	3,44	12
Pinot noir, Bolfan Libertin, 2013	6,3	3,32	11,5
Cabernet sauvignon, Castillo de Molina, 2013	5,3	3,54	14
Merlot, Belje, 2011	5,8	3,51	14,5
Teran, Degrassi, 2010	5,4	3,68	12,5

*izražena kao vinska kiselina

Koncentracije ukupnih tanina u vinima analizirane Bate-Smith metodom prikazane su u Tablici 4. Dobivene vrijednosti kreću se od 75,6 mg L⁻¹ koliko je određeno u Malvaziji, pa do 3749,4 mg L⁻¹ u Cabernet sauvignonu. Takve koncentracije uglavnom su u suglasju s vrijednostima ukupnih tanina iz drugih istraživanja. Chira i sur. (2011) proveli su opsežno istraživanje na 24 Cabernet sauvignona (vintage) čija se koncentracija ukupnih tanina kretala od 1,17-2,23 g L⁻¹ i na 7 Merlota (vintage) čija se koncentracija tanina kretala od 1,21-2,09 g L⁻¹. Ipak, dokazano je da su kod mlađih crnih vina koncentracije tanina znatno veće: 4,5 g L⁻¹ (Cabernet sauvignon) (Llaudy i sur., 2006); 2,09-4,05 g L⁻¹ (Tannat), 1,72-2,39 g L⁻¹

(Cabernet sauvignon), 1,45-1,98 g L⁻¹ (Merlot) (González-Neves i sur., 2004). Visoke koncentracije ukupnih tanina dobivene analizom u nekim crnim vinima (Cabernet sauvignon, Merlot, Pinot noir) mogu se povezati s izraženom trpkooćom vina dobivenih od tih kultivara, s obzirom na činjenicu da oligomeri i polimeri flavan-3-ola uvelike doprinose trpkooći vina (Cheynier i sur., 2006; Kennedy, 2008).

Rezultati fizikalno-kemijske analize (Tablica 5) pokazuju kako je najniža ukupna kiselost dobivena u vinu Malvazija (4,6 g L⁻¹), a najviša u vinima Muškat žuti i Rosé (6,4 g L⁻¹), dok se pH vrijednosti kreću u rasponu od 3,25 (Muškat žuti) do 3,72 (Graševina). Udio alkohola kreće se od 10,5 % (Muškat žuti) do 14,5 % (Merlot).

Iako količina ukupnih kiselina utječe na blago povećanje trpkooće vina (Hartwig i McDaniel, 1995; Sowalsky i Noble, 1998), dokazano je kako na percepciju trpkooće značajno veći utjecaj ima pH (Noble, 1998). To su u svome istraživanju na model otopinama vina pokazali i Fontoin i sur. (2008), navodeći kako smanjenjem pH dolazi do smanjenja viskoznosti sline, tj. povećanja precipitacije glikoproteina sline, što za posljedicu ima povećanje osjeta trpkooće. U istom istraživanju navode kako pri pH 3,5-4 koji odgovara većini crnih vina utjecaj pH na percepciju trpkooćenije značajan. Na temelju toga i dobivenih vrijednosti za ukupnu kiselost, pH i percipiranu trpkooću analiziranih vina možese zaključiti kako ni u ovom radu ukupna kiselost i pH vina nisu značajno doprinjeli percepciji trpkooće.

U nekim znanstvenim istraživanjima koja su pratila utjecaj etanola na percepciju trpkooće navode smanjenje intenziteta trpkooće povećanjem udjela etanola (Fontoin i sur. 2008) ili tek neznatan utjecaj (Noble, 1998). Međutim, u istraživanju koje su Gonzalo-Diago i sur. (2013) proveli na crnom vinu utvrđena je pozitivna korelacija između etanola i percipirane trpkooće. Kao vjerojatan razlog tome navode veću ekstrakciju polifenolnih spojeva kod vina s većim udjelom etanola, zbog čega su ta vina okarakterizirana većom trpkooćom.

Pretpostavlja se kako na percepciju trpkooće može utjecati i protok sline pojedinaca, na što upućuju prethodna istraživanja u kojima su kušači prilikom procjene trpkooće bili podijeljeni u skupine s obzirom na protok sline. Nakon analize podataka kod kušača sa sporijim protokom sline utvrđeno je kako je do razvoja osjeta trpkooće u crnim (Ishikawa i Noble, 1995), ali i bijelim (Fischer i sur., 1994) vinima došlo kasnije, te je ona percipirana znatno intenzivnije i kroz duži vremenski period u odnosu na kušače s bržim protokom sline.

Dakle, važno je napomenuti kako trpkooća vina ne ovisi samo o strukturi i koncentraciji pojedinih polifenolnih spojeva (Santos-Buelga i de Freitas, 2009), stoga se ne može

promatrati isključivo kroz pojedinačne spojeve, već kao sinergijsko djelovanje svih komponenata vina, uključujući psihološke faktore.

4.3. KORELACIJA INTENZITETA TRPKOĆE I KONCENTRACIJE UKUPNIH TANINA U VINU

Kako bi se utvrdila povezanost između percipiranog intenziteta trpkoe i količine ukupnih tanina u vinu izračunat je Pearsonov koeficijent korelacije između navedenih varijabli (Tablica 6).

Tablica 6. Koeficijent korelacije između ukupnih tanina i intenziteta trpkoe

	Intenzitet trpkoe
Ukupni tanini	0,984*

* $p < 0,001$

Vrijednost Pearsonov-og koeficijenta korelacije ukazuje na vrlo jaku pozitivnu korelaciju između intenziteta trpkoe i koncentracije ukupnih tanina ($r=0,984$, $p < 0,001$). Iz navedenog možemo zaključiti kako je koncentracija tanina u uzorcima vina osnovni faktor koji je utjecao na percepciju trpkoe, uslijed čega su vina s većom koncentracijom tanina percipirana kao trpkija. Dobiveni rezultati u skladu su s ranijim istraživanjima (Preys i sur., 2006; Landon i sur., 2008; Chira i sur., 2009; Gawel, 1998; Monteleone i sur., 2004).

5. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata dobivenih nakon odabira i treninga panela za senzorsku analizu intenziteta trpkocće, te senzorske i fizikalno-kemijske analize uzoraka vina može se zaključiti sljedeće:

1. Selekcija kušača provedena je testom prepoznavanja okusa/osjeta te triangl testom s otopinama standarda, temeljem kojih je odabrano 14 kandidata (58,33 %).
2. Statističkom obradom rezultata ranking testova (Pageov test) tijekom treninga kušača utvrđeno je kako su ku a i uzorke uspješno rangirali prema točno pretpostavljenom slijedu uz razinu značajnosti od $p < 0,01$.
3. Statističkom obradom rezultata QDA metode (ANOVA) tijekom treninga kušača kod analize intenziteta trpkocće nisu utvrđene značajne razlike između kušača ($p > 0,05$)  ime je potvrđena homogenost panel grupe.
4. Senzorska analiza intenziteta trpkocće 6 bijelih, 1 ros e i 4 crna vina provedena je homogenom panel grupom, pri čemu su bijela vina percipirana kao znatno manje trpka u odnosu na ros e i crna vina.
5. Koncentracije ukupnih tanina u bijelim vinima ($75,6$ - $163,6$ mg L⁻¹) bile su niže od onih u ros e vinu ($289,4$ mg L⁻¹) te značajno niže od onih u crnim vinima ($2661,2$ - $3749,4$ mg L⁻¹).
6. Jaka pozitivna korelacija utvrđena je između koncentracije tanina i intenziteta trpkocće vina ($r=0,984$, $p < 0,001$).

6. LITERATURA

Arnold, R. A., Noble, A. C. (1978) Bitterness and astringency of grape seed phenolics in a model wine solution. *Am. J. Enol. Vitic.* **29**, 150-152.

Boselli, E., Boulton, R. B., Thorngate, J. H., Frega, N. G. (2004) Chemical and Sensory Characterization of DOC Red Wines from Marche (Italy) Related to Vintage and Grape Cultivars. *J. Agr. Food Chem.* **52**, 3843- 3854.

Carvalho, E., Mateus, N., Plet, B., Pianet, I., Dufourc, E., de Freitas, V. (2006) Influence of wine pectic polysaccharides on the interactions between condensed tannins and salivary proteins. *J. Agr. Food Chem.* **54**, 8936-8944.

Cheyrier, V., Dueñas-Paton, M., Salas, E., Maury, C., Souquet, J.-M., Sarni-Manchado, P., Fulcrand, H. (2006) Structure and Properties of Wine Pigments and Tannins. *Am. J. Enol. Vitic.* **57**, 298-305.

Chira, K., Pacella, N., Jourdes, M., Teissedre, P.-L. (2011) Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet-Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age. *Food Chem.* **126**, 1971-1977.

Chira, K., Schmauch, G., Saucier, C., Fabre, S., Teissedre, P.-L. (2009) Grape Variety Effect on Proanthocyanidin Composition and Sensory Perception of Skin and Seed Tannin Extracts from Bordeaux Wine Grapes (Cabernet Sauvignon and Merlot) for Two Consecutive Vintages (2006 and 2007). *J. Agr. Food Chem.* **57**, 545-553.

Civille, G. V., Carr, B. T. (2015) Sensory Evaluation Techniques, CRS Press, New York, str. 7-27.

Clydesdale, F. M. (1993) Color as a factor in food choice. *Crit. Rev. Food Sci.* **33**, 83-101.

Ćurko, N., Kovačević Ganić, K., Gracin, L., Đapić, M., Jourdes, M., Teissedre, P.L. (2014) Characterization of seed and skin polyphenolic extracts of two red grape cultivars grown in Croatia and their sensory perception in a wine model medium. *Food Chem.* **145**, 15-22.

- de Beer, D., Joubert, E., Gelderblom, W. C. A., Manley, M. (2002) Phenolic Compounds: A Review of Their Possible Role as *In Vivo* Antioxidants of Wine. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* **23**, 48-61.
- Downey, M O., Dokoozlian, N. K., Krstic, M P. (2006) Cultural Practice and Environmental Impacts of the Flavonoid Composition of Grapes and Wine: A Review of Recent Research. *Am. J. Enol. Vitic.* **57**, 257-268.
- Downey, M. O., Harvey, J. S., Robinson, S. P. (2003) Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout berry development. *Aust. J. Grape Wine R.* **9**, 15-27.
- Escot, S., Feuillat, M., Dulau, L., Charpentier, C. (2001) Release of polysaccharides by yeasts and the influence of released polysaccharides on colour stability and wine astringency. *Aust. J. Grape Wine.* **7**, 153-159.
- Etiévant, P., Schlich, P., Bertrand, A., Symonds, P, Bouvier, J.-C. (1988) Varietal and geographical classification of French red wines in terms of pigments and flavonoid compounds. *J. Sci. Food Agr.* **42**, 39-54.
- Fischer, U., Boulton, R. B., Noble, A. C. (1994) Physiological factors contributing to the variability of sensory assessments: Relationship between salivary flow rate and temporal perception of gustatory stimuli. *Food Qual. Pref.* **5**, 55-64.
- Fontoin, H., Saucier, C., Teissedre, P. L., Glories, Y. (2008) Effect of pH, ethanol and acidity on astringency and bitterness of grape seed tannin oligomers in model wine solution. *Food Qual. Prefer.* **19**, 286-291.
- Fulcrand, H., Dueñas, M., Salas, E., Cheynier, V. (2006) Phenolic Reactions during Winemaking and Aging. *Am. J. Enol. Vitic.* **57**, 289-297.
- Gawel, R. (1998) Red wine astringency: A review. *Aust. J. Grape Wine R.* **4**, 74-95.
- Gawel, R., Francis, L., Waters, E. J. (2007) Statistical Correlations between the In-Mouth Textural Characteristics and the Chemical Composition of Shiraz Wines. *J. Agr. Food Chem.* **55**, 2683-2687.
- Gawel, R., Oberholster, A., Francis, I. L. (2000) A mouth-feel wheel: terminology for communicating the mouth-feel properties of red wine. *Aust. J. Grape Wine R.* **6**, 203-207.

González-Neves, G., Charamelo, D., Balado, J., Barreiro, L., Bochicchio, R., Gatto, G., Gil, G., Tessore, A., Carbonneau, A., Moutounet, M. (2004) Phenolic potential of Tannat, Cabernet-Sauvignon and Merlot grapes and their correspondence with wine composition. *Anal. Chim. Acta.* **513**, 191-196.

Gonzalo-Diago, A., Dizy, M., Fernández-Zurbano, P. (2014) Contribution of low molecular weight phenols to bitter taste and mouthfeel properties in red wines. *Food Chem.* **154**, 187-198.

Gonzalo-Diago, A., Dizy, M., Fernández-Zurbano, P. (2013) Taste and Mouthfeel Properties of Red Wines Proanthocyanidins and Their Relation to the Chemical Composition. *J. Agr. Food Chem.* **61**, 8861-8870.

Green, B. G., Frankmann, S. P. (1987) The effect of cooling the tongue on the perceived intensity of taste. *Chem. Senses.* **12**, 609-619.

Guinard, J. X., Pangborn, R. M., Lewis, M. J. (1986) The Time-Course of Astringency in Wine upon Repeated Ingestion. *Am. J. Enol. Vitic.* **37**, 184-189.

Guyton, A. C. (1995) Fiziologija čovjeka i mehanizmi bolesti, 5. izd. (preveli Andreis, A. i sur.) Medicinska naklada, Zagreb.

Hartwig, P., McDaniel, M. R. (1995) Flavor characteristics of lactic, malic, citric, and acetic acids at various pH levels. *J. Food Sci.* **60**, 384-366.

Hernanz, D., Recamales, Á. F., González-Miret, M. L., Gómez-Míguez, M. J., Vicario, I. M., Hereida, F. J. (2007) Phenolic composition of white wines with a prefermentative maceration at experimental and industrial scale. *J. Food Eng.* **80**, 327-335.

Ishikawa, T., Noble, A. C. (1995) Temporal perception of astringency and sweetness in red wine. *Food Qual. Pref.* **6**, 27-33.

ISO 3591:1977, Sensory analysis – Apparatus – Wine-tasting glass.

ISO 8586:1993, Sensory analysis: General guidance for the selection, training and monitoring of assessors.

ISO 8587:1988, Sensory analysis – Methodology – Ranking.

Jackson, R. S. (2002) Wine Tasting: A Professional Handbook, Academic Press, New York.

- Jackson, R. S. (2008) *Wine Science: Principles and Applications*, 3. izd., Academic Press, New York.
- Jackson, D. I., Lombard, P. B. (1993) Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality-A review. *Am. J. Enol. Vitic.* **44**, 409-430.
- Kallitharka, S., Bakker, J., Clifford, M. N. (1997) Effect of pH on astringency in model solutions and wines. *J. Agr. Food Chem.* **45**, 2211-2216.
- Kemp, S.E., Hollowood, T., Hort, J. (2009) *Sensory Evaluation: A Practical Handbook*, Wiley-Blackwell, Chichester, str. 151 – 154.
- Kennedy, J. A. (2008) Grape and wine phenolic: Observations and recent findings. *Cienc. Investig. Agrar.* **35**, 107-120.
- Kennedy, J. A., Saucier, C., Glories, Y. (2006) Grape and wine phenolics: History and perspective. *Am. J. Enol. Vitic.* **57**, 239-248.
- Landon, J. L., Weller, K., Harbertson, J. F., Ross, C. F. (2008) Chemical and Sensory Evaluation of Astringency in Washington State Red Wines. *Am. J. Enol. Vitic.* **59**, 153-158.
- Lawless, H. T., Corrigan, C. J., Lee, C. B. (1994) Interactions of astringent substances. *Chem. Senses.* **19**, 141-154.
- Lawless, H. T., Heymann, H. (2010) *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*, 2. izd., Springer, New York.
- Levine, M. W., Shefner, J. M. (1991) *The Fundamentals of Sensation and Perception*, 2. izd., Brooks/Cole, Pacific Grove, CA.
- Llaudy, M. D. C., Canals, R., González-Manzano, S., Canals, J. M., Santos-Buelga, C., Zamora, F. (2006) Influence of micro-oxygenation treatment before oak aging on phenolic compounds composition, astringency, and color of red wines. *J. Agr. Food Chem.* **54**, 4246-4252.
- McBride, R. L., Finlay, D. C. (1990) Perceptual integration of tertiary taste mixtures. *Percept. Psychophys.* **48**, 326-336.
- McBurney, D. H., Bartoshuk, I. M. (1973) Interactions between stimuli with different taste qualities. *Physiol. Behav.* **10**, 1101-1106.

Meilgaard, M. C., Civille, G. V., Carr, B. T. (2007) *Sensory Evaluation Techniques*, 4. Izd., CRC Press, New York.

Meiselman, H., L. (1993) Critical evaluation of sensory techniques. *Food Qual. Prefer.* **4**, 33-40.

Monteleone, E., Condelli, N., Dinnella, C., Beruccioli, M. (2004) Prediction of perceived astringency induced by phenolic compounds. *Food Qual. Prefer.* **15**, 761-769.

Noble, A. C. (1998) Why do wines taste bitter and feel astringent?. U: *Chemistry of Wine Flavour*, (Waterhouse, A. L., Ebeler, S. E., ured.) American Chemical Society, Washington, str. 156-165.

OIV (2015a) *Compendium of International Methods of Analysis of Wines and Musts* (2 vol.): OIV-MA-AS313-15, Paris.

OIV (2015b) *Compendium of International Methods of Analysis of Wines and Musts* (2 vol.): OIV-MA-AS313-01, Paris.

Pascal, C., Poncet-Legrand, C., Cabane, B., Vernhet, A. (2008) Aggregation of a proline-rich protein induced by epigallocatechin gallate and condensed tannins: Effect of protein glycosylation. *J. Agr. Food Chem.* **56**, 6724-6732.

Peleg, H., Gacon, K., Schlich, P., Noble, A. C. (1999) Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers. *J. Sci. Food Agr.* **79**, 1123-1128.

Preys, S., Mazerolles, G., Courcoux, P., Samson, A., Fischer, U., Hanafi, M., Bertrand, D., Cheynier, V. (2006) Relationship between polyphenolic composition and some sensory properties in red wines using multiway analyses. *Anal. Chim. Acta.* **563**, 126-136.

Ribéreau-Gayon, P., Stonestreet, E. (1966) Dosage des tanins du vin rouge et détermination de leur structure. *Chim. Anal. Paris.* **48**, 188-196.

Santos-Buelga, C., de Freitas, V. (2009) Influence of Phenolics on Wine Organoleptic Properties. U: *Wine Chemistry and Biochemistry*, (Moreno-Arribas, M. V., Polo, M. C., ured.), Springer, New York, str. 529-570.

Schmidt, R. F., Lang, F., Heckmann, M. (2011) *Physiologie des Menschen: mit Pathophysiologie*, 31. izd., Springer, Heidelberg.

Smith, A. K., June, H., Noble, A. C. (1996) Effects of viscosity on the bitterness and astringency of grape seed tannin. *Food Qual. Prefer.* **7**, 161-166.

Snedecor, G.W., Cochran, W.G. (1980) *Statistical Methods*, 7. izd., Iowa State University, Ames, str. 175 – 193.

Soares, S. I., Gonçalves, R. M., Fernandes, I., Mateus, N., de Freitas, V. (2009) Mechanistic approach by which polysaccharides inhibit α -amylase/procyanidin aggregation. *J. Arg. Food Chem.* **57**, 4352-4358.

Souquet, J. M., Cheynier, V., Brossaud, F., Moutounet, M. (1996) Polymeric proanthocyanidins from grape skins. *Phytochemistry.* **43**, 509-512.

Sowalsky, R. A., Noble, A. C. (1998) Comparison of the effects of concentration, pH and anion species on astringency and sourness of organic acids. *Chem. Senses.* **23**, 371-378.

Stevens, J. C., Cain, W. C. (1993) Changes in taste and flavor in aging. *Crit. Rev. Food Sci.* **33**, 27-37.

Stone, H., Sidel, J. L. (2004) *Sensory Evaluation Practices*, 3. izd., Academic Press, New York.

Sun, B., Neves, A. C., Fernandes, T. A., Fernandes, A. L., Mateus, N., De Freitas, V., Leandro, C., Spranger, M. I. (2011) Evolution of Phenolic Composition of Red Wine during Vinification and Storage and Its Contribution to Wine Sensory Properties and Antioxidant Activity. *J. Agr. Food Chem.* **59**, 6550-6557.

Udovičić, M., Baždarić, K., Bilić-Zulle, L., Petrovečki, M. (2007) Što treba znati kada izračunavamo koeficijent korelacije?. *Biochem. Medica.* **17**, 10-15.

Vidal, S., Francis, L., Guyot, S., Marnet, N., Kwiatkowski, M., Gawel, R., Cheynier, V., Waters, E. J. (2003) The mouth-feel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine-like medium. *J. Sci. Food Agr.* **83**, 564-573.

Vivas, N., Glories, Y. (1996) Role of Oak Wood Ellagitannins in the Oxidation Process of Red Wines During Aging. *Am. J. Enol. Vitic.* **47**, 103-107.

Whitehead, M. C., Beeman, C. S., Kinsella, B. A. (1985) Distribution of Taste and General Sensory Nerve Endings in Fungiform Papillae of the Hamster. *Am. J. Anat.* **173**, 185-201.

Yang, J., Martinson, T. E., Liu, R. H. (2009) Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes. *Food Chem.* **116**, 332-339.