

# Aromatski profil vina Graševina s obzirom na godinu berbe

---

**Vasilj, Matija**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2024**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:331209>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-18**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

**AROMATSKI PROFIL VINA GRAŠEVINA S OBZIROM NA  
GODINU BERBE**

DIPLOMSKI RAD

Matija Vasilj

Zagreb, lipanj 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:

Hortikultura - Vinogradarstvo i vinarstvo

**AROMATSKI PROFIL VINA GRAŠEVINA S OBZIROM NA  
GODINU BERBE**  
DIPLOMSKI RAD

Matija Vasilj

Mentor:  
prof. dr. sc. Ana Jeromel

Zagreb, lipanj 2024.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA  
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Matija Vasilj**, JMBAG 0178121841, rođen 20.03.2001. u Požegi, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

**AROMATSKI PROFIL VINA GRAŠEVINA S OBZIROM NA GODINU BERBE**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
*Potpis studenta / studentice*

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta **Matije Vasilja**, JMBAG 0178121841, naslova

**AROMATSKI PROFIL VINA GRAŠEVINA S OBZIROM NA GODINU BERBE**

obranjen je i ocijenjen ocjenom \_\_\_\_\_, dana \_\_\_\_\_.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. prof. dr. sc. Ana Jeromel, mentor

\_\_\_\_\_

2. izv. prof. dr. sc. Ana-Marija Jagatić Korenika, član

\_\_\_\_\_

3. prof. dr. sc. Marko Karoglan, član

\_\_\_\_\_

## Zahvala

Zahvaljujem svojim roditeljima koji su mi omogućili školovanje na Agronomskom fakultetu u Zagrebu te me uvijek podržavali u namjeri da se bavim onime što uistinu volim. Posebne zahvale pripadaju mojoj mentorici prof. dr. sc. Ani Jeromel, koja mi je mnogo pomogla u svim fazama pisanja ovoga rada. Također zahvaljujem svim profesorima na Agronomskom fakultetu u Zagrebu na prenesenim znanjima. Zahvaljujem i Vinariji Galić iz Kutjeva na ustupljenim vinima za potrebe izrade ovoga rada.

# Sadržaj

<b>1. Uvod .....</b>	<b>3</b>
1.1. Cilj istraživanja.....	4
<b>2. Pregled literature .....</b>	<b>5</b>
2.1. Graševina .....	5
2.1.1. Podrijetlo i rasprostranjenost .....	5
2.1.2. Botanička obilježja.....	7
2.1.3. Biološke karakteristike .....	8
2.1.4. Uzgojne i gospodarske karakteristike .....	9
2.1.5. Enološka svojstva .....	11
2.2. Općenito o aromama .....	12
2.3. Primarne arome .....	14
2.3.1. Terpeni .....	14
2.3.2. Norisoprenoidi.....	16
2.3.3. Tioli .....	19
2.3.4. C <sub>6</sub> spojevi .....	21
2.4. Sekundarne arome .....	22
2.4.1. Esteri.....	22
2.4.2. Viši alkoholi.....	25
2.4.3. Hlapljive masne kiseline .....	28
2.5. Karbonilni spojevi .....	30
2.5.1. Aldehidi.....	30
2.5.2. Ketoni .....	32
2.6. Acetali .....	33
2.7. Laktoni .....	33
2.8. Hlapljivi fenoli.....	34
<b>3. Materijali i metode.....</b>	<b>36</b>
3.1. Uzorci vina .....	36
3.2. Osnovna analiza vina .....	36
3.3. Određivanje hlapljivih aromatskih spojeva.....	37
3.4. Senzorna analiza vina .....	39
<b>4. Rezultati i rasprava.....</b>	<b>40</b>
4.1. Osnovna analiza vina .....	40
4.2. Aromatski profil vina .....	42
4.3. Analiza glavnih komponenata (PCA) .....	50
4.4. Senzorna analiza vina .....	54

<b>5. Zaključak .....</b>	<b>60</b>
<b>6. Literatura .....</b>	<b>61</b>
<b>Prilozi.....</b>	<b>66</b>
<b>Životopis .....</b>	<b>67</b>



## Sažetak

Diplomskog rada studenta **Matije Vasilja**, naslova

### **AROMATSKI PROFIL VINA GRAŠEVINA S OBZIROM NA GODINU BERBE**

Graševina je prema količini proizvedenog vina i zasađenim površinama najvažnija sorta koja se uzgaja u Republici Hrvatskoj. Njezin aromatski profil dosad nije opširno istraživani te se ovim radom želi doprinijeti proširenju znanja na tom području. Velik utjecaj na aromatski profil vina ima godina berbe zbog specifičnih klimatskih uvjeta i različitih tehnoloških zahvata koji doprinose varijacijama u kemijskom sastavu mošta i vina. Trajanje dozrijevanja također igra važnu ulogu zbog brojnih fizikalno-kemijskih reakcija koje se događaju tijekom ovog perioda. Za potrebe izrade ovog rada korištena su vina 'Graševina' različitih godina berbe (2018., 2019., 2020., 2021. i 2022.) te je osnovni cilj rada bio utvrditi razlike u aromatskom profilu vina 'Graševina' s obzirom na godinu berbe te period dozrijevanja vina u boci. Osnovne kemijske analize provedene su primjenom FTIR spektrometrije, a analiza hlapljivih spojeva provedena je metodom plinske kromatografije na GC-MS uređaju. Utvrđeno je da postoje razlike u sadržaju estera, viših alkohola, masnih kiselina, terpena i norisoprenoida među analiziranim vinima te da su te razlike povezane i s promjenama u senzornim svojstvima vina.

**Ključne riječi:** 'Graševina', aromatski spojevi, GC-MS, senzorna svojstva, dozrijevanje

## Summary

Of the master's thesis – student **Matija Vasilj**, entitled

### **AROMATIC PROFILE OF GRAŠEVINA WINE WITH REGARD TO THE HARVEST YEAR**

Graševina is the most important variety grown in the Republic of Croatia in terms of the quantity of wine produced and the areas planted. Its aromatic profile has not been extensively researched so far, and this study aims to contribute to the expansion of knowledge in this field. The harvest year has a significant impact on the aromatic profile of wine due to specific climate conditions and various technologies that contribute to variations in the chemical composition of must and wine. The length of aging also plays an important role due to numerous physico-chemical reactions that occur during this period. For the purposes of this study, Graševina wines from different vintage years (2018., 2019., 2020., 2021. and 2022.) were used, and the main aim of this study was to determine the differences in the aromatic profile of Graševina wines with regard to the harvest year and the bottle aging period. Basic chemical analyzes were carried out using FTIR spectrometry method, and the analysis of volatile compounds was conducted by GC-MS. The results showed that there are differences in the content of esters, higher alcohols, fatty acids, terpenes and norisoprenoids among the analyzed wines, and that these differences are also related to changes in the sensory properties of the wines.

**Keywords:** Graševina, aromatic compounds, GC-MS, sensory properties, wine aging

## 1. Uvod

Graševina je jedna od mnogobrojnih sorata unutar vrste *Vitis vinifera* i roda *Vitis*. Prema površinama i količini proizvedenog vina najvažnija je hrvatska sorta koja se pretežito uzgaja u regijama Središnja bregovita Hrvatska te Slavonija i hrvatsko Podunavlje. Osim u Hrvatskoj, značajne površine pod tom sortom nalazimo i u susjednim zemljama gdje je poznata pod brojnim sinonimima. Tako se primjerice u Mađarskoj koristi naziv 'Olaszrizling', u Sloveniji 'Laški rizling', u Njemačkoj 'Welschriesling', u Italiji 'Riesling italico', a u Srbiji 'Grašica'. Podrijetlo te sorte predmet je brojnih istraživanja i postoje različite pretpostavke, no nijedna dosad nije dala jasne dokaze kojima se sa sigurnošću može potvrditi mjesto nastanka 'Graševine'. Najnovija istraživanja govore o talijanskom podrijetlu te navode sortu 'Orsolinu' kao jednog od roditelja (Preiner 2022.), dok Robinson i sur. (2012.) govore o području uz Dunav kao mjestu nastanka pri čemu spominju i moguće hrvatsko podrijetlo. U Hrvatskoj prvi spomen 'Graševine' nalazimo krajem 19. stoljeća te od tada bilježimo rast popularnosti te sorte zbog njezinih dobrih osobina poput redovitog prinosa, tolerantnosti na bolesti i dobre kvalitete vina. Danas se od 'Graševine' proizvode sve kategorije vina, od pjenušavih do predikatnih, od kojih se posebno ističu vrhunska vina ledene berbe (Mirošević i sur., 2013.).

Aroma vina rezultat je prisutnosti nekoliko stotina hlapljivih spojeva koji na različite načine doprinose senzornim svojstvima vina pri čemu koncentracija određenog spoja ne igra presudnu ulogu jer mirisna svojstva ovise i o vrsti spoja (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Razvoj suvremenih analitičkih tehnika omogućio je precizniji uvid i bolje razumijevanje utjecaja pojedinih spojeva i njihove međusobne interakcije na cjelokupna senzorna svojstva vina. Te interakcije mogu rezultirati varijacijama u senzornim karakteristikama zbog različitih svojstava pojedinih spojeva pri čemu i ostali fizikalno-kemijski parametri vina utječu na hlapljivost i otpuštanje spojeva arome (Robinson i sur., 2014.).

Aroma vina proizlazi iz više izvora i procesa te nije moguće definirati koji je izvor ili proces najvažniji zbog velike raznolikosti u sortimentu, klimatskim uvjetima, tipovima vina, načinima vinifikacije i tehnologijama dozrijevanja. Svako vino ima određeni aromatski profil ovisan o mnogobrojnim čimbenicima te kao takav predstavlja svojevrsni „otisak prsta“, što naglašava jedinstvenost i specifičnost svakog pojedinog vina.

Samo grožđe kao sirovina za proizvodnju vina doprinosi aromi vina zbog prisutnosti različitih skupina kemijskih spojeva koji se nalaze u grožđu u vezanom i slobodnom obliku ili kao prekursori aroma koje će biti oslobođene tijekom fermentacije i dozrijevanja. Najvažnije skupine spojeva prisutnih u grožđu jesu terpeni, metoksipirazini, norizoprenoidi, hlapljivi sumporni spojevi, alifati i fenilpropanoidi (Robinson i sur., 2014.).

Tijekom pretfermentativnih postupaka i fermentacije (alkoholne i malolaktične) dolazi do sinteze spojeva radom mikroorganizama koji za svoj metabolizam koriste šećere, masne kiseline, dušične i fenolne spojeve i izlučuju sekundarne metabolite koji doprinose aromi vina. Najvažnije skupine spojeva koji nastaju u toj fazi jesu viši alkoholi, esteri i hlapljive masne kiseline, ali važno je napomenuti da tijekom procesa fermentacije dolazi i do oslobađanja aromatskih spojeva koji su inicijalno prisutni u grožđu u vezanom obliku (Baumes, 2009.).

Tijekom razdoblja dozrijevanja odvijaju se brojne kemijske reakcije koje doprinose razvoju aroma koje prije nisu bile prisutne, posebice ako je dozrijevanje provedeno u drvenim bačvama. Tijekom dozrijevanja vina u drvenim bačvama dolazi do ekstrakcije hlapljivih spojeva iz drveta u vino poput gvajakola, eugenola, laktona, vanilina i siringaldehida (Robinson i sur., 2014.). Vina mogu dozrijevati i u bocama pri čemu se konstantno odvijaju različite reakcije poput esterifikacije, hidrolize, oksidacije, polimerizacije i Steckerovih reakcija koje doprinose promjenama mirisnih i okusnih svojstva vina. Sve te kompleksne reakcije ovise o parametrima poput početnog kemijskog sastava vina, uvjeta čuvanja (vlaga, temperatura, svjetlost), vrste i svojstava zatvarača (prirodno pluto, umjetno pluto, konglomerati, aluminijski zatvarači i dr.) (Di Zhang i sur., 2023.).

Tijekom dozrijevanja moguć je i razvoj neželjenih kemijskih promjena koje rezultiraju nepoželjnim senzornim karakteristikama i smanjenjem kvalitete krajnjeg proizvoda. Pretjerana oksidacija dovodi do promjena boje, povećanja koncentracije aldehida i smanjenja u koncentraciji poželjnih aromatskih spojeva. Reduktivne promjene uključuju stvaranje sumporovodika, merkaptana i disulfita koji se odlikuju mirisom na pokvarena jaja ili kuhano povrće i maskiraju poželjne arome. Stvaranje nepoželjnih hlapljivih fenola poput 4-vinil fenola i 4-etil fenola rezultat je metabolizma nepoželjnih kvasaca iz roda *Brettanomyces/Dekkera* (Echeve i sur., 2021.).

Aromatski profil 'Graševine' nije detaljno istražen te ne postoji velik broj radova koji se bave ovom problematikom. Tomašević i sur. (2023.) istraživali su utjecaj klona i vrste kvasaca na koncentraciju sortnih tiola i senzorna svojstva vina. Martelanc i sur. (2024.) odredili su aromatski profil vina 'Graševina' iz dviju različitih podregija te ga usporedili s aromatskim profilom 'Chardonnaya' i 'Pinota bijelog'. Škuje i Čuš (2021.) istraživali su utjecaj različitih kvasaca i malolaktičnih bakterija na aromatski profil vina 'Welschriesling'. Oskudna baza radova koji se bave aromama vina od sorte 'Graševina' sugerira činjenicu o potrebitosti dodatnih istraživanja koja bi opisala utjecaj različitih klonova, uvjeta dozrijevanja, ampelotehničkih i enoloških postupaka na aromatski profil vina 'Graševina'.

## **1.1. Cilj istraživanja**

Cilj ovoga istraživanja bio je analizirati osnovni fizikalno-kemijski sastav i aromatski profil vina 'Graševina' različitih godina berbe te ih međusobno usporediti. Drugi cilj istraživanja bio je definirati različitosti njihovih senzornih svojstava s obzirom na godinu berbe.

## 2. Pregled literature

### 2.1. Graševina

Graševina je bijela sorta grožđa koja se na prostoru Hrvatske uzgaja u regijama Slavonija i hrvatsko Podunavlje te Središnjoj bregovitoj Hrvatskoj. Kako ne postoje dokazi da je 'Graševina' hrvatska autohtona sorta, postoje brojne pretpostavke o njezinu podrijetlu koje će biti obrađene u daljnjem tekstu. Unatoč tome što ju ne možemo sa sigurnošću smatrati autohtonom sortom, ona je jedan od simbola prepoznatljivosti hrvatskog vinogradarstva i vinarstva te po površinama i količini proizvedenog vina najzastupljenija sorta u Republici Hrvatskoj.

#### 2.1.1. Podrijetlo i rasprostranjenost

Za razliku od mnoštva svjetskih i hrvatskih sorata kojima je dokazano podrijetlo genetičkim istraživanjima, podrijetlo 'Graševine' još nije razjašnjeno te u znanstvenim krugovima postoje brojne hipoteze o mjestu njezina nastanka. Autohtonost sorata vinove loze temelji se na genetskom srodstvu neke sorte s ostalim sortama nekog područja. Danas se srodnost sorata određuje modernim genetičkim metodama kojima je moguće utvrditi jesu li neke sorte u bliskom srodstvu (odnos roditelj – potomak) ili općenito koliko su na temelju svog genotipa slične nekoj grupi sorata za koje sigurno znamo da su povezane s određenim geografskim prostorom (Preiner, 2022.). Općenito sorte nastaju generativno križanjem dviju sorata pri čemu dolazi do oplodnje i nastanka novog genotipa. Svaka sjemenka nastala u procesu križanja potencijalno može biti nova sorta. Nakon klijanja sjemenke razvija se biljka određenih fenotipskih svojstava koja se prenose na daljnje potomstvo vegetativnim razmnožavanjem (reznicama, cijepljenjem i sl.) u slučaju da bude zanimljiva čovjeku. Nema sumnje da je u prošlosti na takav način nastala i 'Graševina', no još nema konkretnih dokaza gdje se to dogodilo. Neki od izvora (Turković 1950., Mirošević 2003.) navode njezino zapadnoeuropsko podrijetlo (Francuska, Italija) što datira još od Ludwiga von Baboa (Der Weinstock und seine varietäten, 1843. – 1844.). Njega prepisuje Goethe, a citira Turković (1950.): „Ona je navodno iz Šampanje i gornje Burgundije dospjela u okolicu Heidelberga, a odatle preko transalpinskih krajeva u Švicarsku i Štajersku, pa negdje oko god. 1860. i u naše sjeverne vinorodne krajeve između Drave i Save, prodirući sve više prema istoku“. Konkretnih dokaza koji podupiru teoriju o francuskom podrijetlu nema, štoviše danas je na tim područjima nema u uzgoju. Druga najčešća pretpostavka jest da se radi o talijanskoj sorti na što upućuje i sinonim 'Riesling italico', iako genetski gledano nema nikakve veze s 'Rieslingom'. Pretpostavka je da pridjev *talijanski* dolazi od netočnog prijevoda imena 'Welschriesling', kako se u njemačkom govornom području naziva ova sorta. Riječju *wälsch* Nijemci su nazivali romanske narode, među njima i Talijane. Riječ *welsch* na njemačkom označava nešto strano, što sugerira da je sorta introducirana u zemlje njemačkog govornog područja (Maletić, 2023.). U Sloveniji 'Graševina' je poznata pod nazivom 'Laški rizling', što može upućivati na talijansko

podrijetlo. U Mađarskoj je nalazimo pod nazivom 'Olaszrizling'. Pojavila se i pretpostavka o rumunjskom podrijetlu 'Graševine' zbog povezanosti s imenom povijesne pokrajine *Wallahia* (Vlaška), no i sami Rumunji za 'Graševinu' koriste naziv 'Riesling italice'. Prema posljednjim talijanskim istraživanjima objavljenima 2020. i 2021. utvrđeno je kako je roditelj 'Graševine' talijanska sorta 'Orsolina'. U prvom istraživanju obuhvaćen je manji broj sorata, dok je u drugom uključen veći broj sorata te je utvrđeno kako je sorta 'Orsolina' roditelj ukupno 25 sorata u sjevernoj Italiji. S obzirom na genetska istraživanja i povijesne zapise u kojima se spominje 'Orsolina' oko 1800. godine u regiji Emilia-Romagna, Talijani smatraju kako je 'Graševina' podrijetlom talijanska sorta (Preiner, 2022.). Teoretski moguća je i situacija da je 'Graševina' roditelj sorte 'Orsolina' s obzirom na to da još nije pronađen drugi roditelj 'Graševine' te sa sigurnošću možemo samo smatrati da su ove dvije sorte u odnosu roditelj – potomak. Vjerojatnost ove pretpostavke vrlo je mala s obzirom na to da je za sortu 'Orsolina' utvrđen odnos roditelj – potomak s ukupno 25 sorata iz sjeverne Italije (Preiner, 2022.). Također postoji mogućnost da je 'Orsolina' dala potomka nazvanog 'Graševina' negdje drugdje izvan područja Italije s obzirom na njezine germanske sinonime: 'Rheinwelsch' i 'Rheintaler' (Preiner 2022.). Ovi sinonimi govore o prisustvu sorte 'Orsolina' na području Njemačke te je stoga moguće da je tijekom povijesti na tom području dala neke od potomaka, pa tako i 'Graševinu'. Robinson i sur. (2012.) govore o dunavskom području kao mjestu nastanka 'Graševine' te navode i moguće hrvatsko podrijetlo. Kao prilog tome navode činjenice da je 'Graševina' najrasprostranjenija sorta u Hrvatskoj, da ostali sinonimi sugeriraju vezu s 'Riezlingom' iz Njemačke iako ne postoji povezanost između tih sorata te da sinonim 'Welschriesling' upućuje na to da je sorta introducirana u zemlje poput Austrije i Njemačke. U knjizi *Wine grapes* (Robinson i sur., 2012.) ime 'Graševina' navedeno je kao primarno ime sorte.

Prvi spomen 'Graševine' u Hrvatskoj nalazimo 1876. u Trumerovu popisu grožđa koje se uzgaja na Gospodarskom učilištu u Križevcima gdje je navedena sorta 'Grašica', koju Dragutin Stažimir 1877. naziva 'Graševina bijela' te je za nju zapisao: "Graševina bijela talijanska, koja rezana na reznike u cijeloj Hrvatskoj na svakom tlu obilno rodi, te se u naše doba najviše sadi. Malo ćeš imati u Hrvatskoj i Slavoniji mjesta gdje ti ona ne bi uspjela i obradovala te slatkim svojim grožđem, a usrećila te lačnim (žmahnim) slasnim, ljubkim, uz to jakim i mirisnim vinom" (Mirošević i sur., 2013.). Uzevši u obzir da prethodni zapis datira iz 1877., a zapis Ludwiga von Baboa iz 1844., malo je vjerojatno da je u razdoblju od 40-ak godina 'Graševina' dospjela iz Francuske u Hrvatsku te se pokazala u punom potencijalu s obzirom na to što je o njoj zabilježio D. Stažimir.

Preciznih podataka o početku uzgoja 'Graševine' u Hrvatskoj nema, no pretpostavlja se da tijekom 19. stoljeća počinje njezin uzgoj. Prije filoksere 'Graševine' nema među prvih 25 sorata u uzgoju, što potvrđuje Trummer, koji je 1854. radio inventarizaciju sortimenta na području sjeverozapadne Hrvatske te zapisao da se 'Graševina' pojavljuje sporadično tek u ponekom vinogradu (Preiner, 2022.). 'Graševina' je svoj uzlet doživjela krajem 19. i početkom 20. stoljeća, kada počinje osnivanje novih nasada vinove loze na području vlastelinstva Kutjevo u vlasništvu obitelji Turković. Osnivanje novih nasada predvode vinogradarski stručnjaci iz

Austrije i južnog Tirola – Arnold Becke i Karl Meder iz poznate obitelji vinogradarskih stručnjaka (Mirošević i sur., 2013.). Nakon pojave filoksere prva sadnja vinograda na američkoj podlozi započinje već 1896. i to na odabranom velikolisnom tipu 'Riparije' uzgojenom iz sjemena u Kutjevu. Umjesto starog sortimenta, npr. 'Kadarke', 'Lipovine' i 'Beline', uvedena je na prvom mjestu 'Graševina' te niz drugih internacionalnih sorata koje i danas nalazimo na prostoru kutjevačkog vinogorja. Relativno nagli rast površina pod 'Graševinom' uzrokovan je obnovom vinograda propalih zbog filoksere te spoznajom o kvaliteti, stabilnom prinosu i ostalim mogućnostima koje donosi. Najveće povećanje površina zabilježeno je za vrijeme Jugoslavije 60-ih godina 20. stoljeća, kada se uvode nove tehnologije u vinogradarstvu i podrumarstvu (Potrebica, 1983.).

Sukladno Zakonu o vinu donesenom 1976. znanstvenici Instituta za voćarstvo, vinogradarstvo, vinarstvo i vrtlarstvo Agronomskog fakulteta u Zagrebu izradili su znanstvenu studiju naslova *Zaštita geografskog porijekla čuvenog vina Kutjevačka graševina*. Naručitelj studije bio je PPK Kutjevo. Izvedbom studije te njezinom prezentacijom stvoreni su uvjeti za izdavanje dozvole o zaštiti čuvenog vina kutjevačka graševina od strane Republičkog sekretarijata za poljoprivredu i šumarstvo Hrvatske, čime je kutjevačka graševina postala prvo vino sa zaštićenim geografskim podrijetlom na prostorima vinogradarske regije Kontinentalna Hrvatska (Mirošević i sur., 2013.).

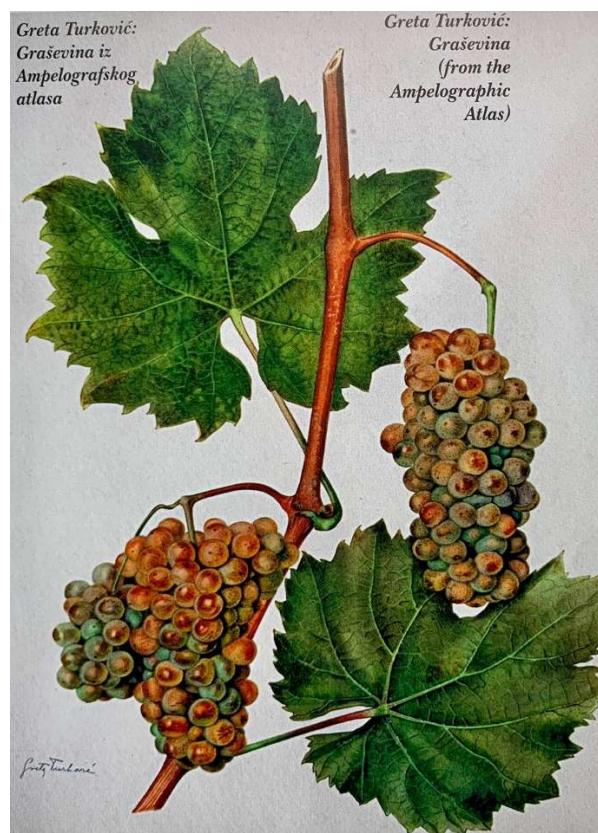
Danas je 'Graševina' najraširenija i najvažnija bijela sorta vinove loze u Hrvatskoj. Preporučena je sorta za sve kontinentalne podregije u Republici Hrvatskoj (Pravilnik o Nacionalnoj listi priznatih kultivara vinove loze NN 25/2020). Prema posljednjim podacima danas je u Hrvatskoj vinovom lozom zasađeno 17 600 hektara, od čega 4 347 hektara zauzima 'Graševina', što znači da zauzima gotovo 25% površina pod vinovom lozom (APPRRR, 2022.). Ukupan broj trsova u Hrvatskoj iznosi oko 89 milijuna, od čega je 21 milijun trsova 'Graševine', odnosno svaki četvrti zasađeni trs (APPRRR, 2022.). U 2022. proizvedeno je 210 tisuća hektolitara vina 'Graševina', što čini oko 40% proizvodnje vina u Republici Hrvatskoj. Spomenuti statistički podatci govore o važnosti 'Graševine' za hrvatsko vinogradarstvo i vinarstvo.

Osim u Hrvatskoj 'Graševina' se uzgaja i u susjednoj Srbiji, gdje je poznatija pod imenom 'Grašac'. Opisana je kao etabliрана sorta koja se uzgaja na Fruškoj gori početkom 19. stoljeća (Maletić 2023., prema Cindriću 2000.), što doprinosi hipotezi da je na ovim područjima poznata mnogo ranije. Također se uzgaja u Sloveniji, Mađarskoj, Austriji, Njemačkoj, Italiji, Bugarskoj i Makedoniji.

### **2.1.2. Botanička obilježja**

Naziv 'Graševina', ako ga razmatramo s etimološkog stajališta, proizlazi iz ampelografske značajke grozda koji se odlikuje sitnim bobicama nalik na grašak, dok se ime 'Grašica' izvodi iz naziva za grahoricu, kako su tu mahunarku zvali su sjeverozapadnoj Hrvatskoj (Mirošević i sur., 2013.). Zrele su bobice te sorte malene, okrugle, žutozelene, često s mrljama na strani koja je izložena suncu. Meso je bobice sočno, slatko, ugodna okusa. Karakteristično

je izražena pupčana točka. Zreo grozd je malen do srednje velik, zbijen, valjkast, često sa sugrozdicom koji može biti iste veličine kao i glavni grozd. Peteljka je duga do vrlo duga. Odrasli je list više dug nego širok, produženog središnjeg dijela, srednje velik, trodijelan do sedmerodijelan sa sinusom peteljke u obliku uskog slova „U“. Postrani sinusi su nejednaki i nesimetrično urezani, često duboki i proširena dna. Lice je lista golo, a na naličju s rijetkim pahuljastim dlačicama. Rebra naličja također su rijetko pahuljasta. Površina je plojke svjetlozelena, ravna ili malo naborana, glatka, zupci su oštri, dugi, nejednake veličine. Vršci mladica su pahuljasti, svjetlozeleni. Rozgva je srednje razvijena, dosta tanka, sitno prugaste kore, svjetlosmeđe boje s tamnijim dijelovima na koljencima. Internodiji su srednje dugački. Cvijet je hermafroditan, odnosno dvospolan (Mirošević i sur., 2003.).



Slika 1. Prikaz 'Graševine' iz Ampelografskog atlasa

Izvor: <https://www.kutjevo.hr/zanimljivosti/greta-turkovic-prva-hrvatska-dizajnerica-i-kiparica/>

### 2.1.3. Biološke karakteristike

Visoka zastupljenost 'Graševine' u ukupnim vinogradarskim površinama Hrvatske uvjetovana je njezinim brojnim dobrim karakteristikama. Prije svega karakterizira ju redovita, srednja ili natprosječna rodnost koja opada uslijed pomanjkanja hranjiva i loše obrade tla. Vrlo je dobre otpornosti prema niskim temperaturama (pripada grupi *Proles occidentalis*, *subproles galica* Nogr.) i mrazu jer vegetaciju započinje kasnije (Mirošević i sur., 2013.). Zbog otpornosti



na niske temperature i kasnijeg kretanja vegetacije često se sadi na lošijim položajima koji nisu prikladni zbog drugih svojstava, ponajprije zbog nedostatka svjetlosti. Takvi položaji često donose visoku rodnost zbog dobre kvalitete tla, no kvaliteta proizvedenog grožđa nije visoka. Umjerene je osjetljivosti prema bolestima i štetnicima. Kakvoća grožđa ovisi o mnogobrojnim čimbenicima, ali općenito sorta ima visok kvalitativni potencijal te može dati vina vrhunske kvalitete, bilo iz redovnih berbi ili berbi za proizvodnju predikatnih vina. Bujnost je srednja, a ovisi o položaju, klimatskim uvjetima, kvaliteti tla, gnojdbi i sustavu održavanja tla. Dozrijeva kasno u III. epohi prema Pulliatu (25 – 30 dana poslije 'Plemenke'), čime je jedna od kontinentalnih sorti s najkasnijim vremenom dozrijevanja (Maletić, 2023.). Za normalan tijek svih fenofaza potrebno joj je od 150 do 180 dana, odnosno prosječno oko 165 dana, što ovisi o sumi efektivnih temperatura u vegetaciji, koje su optimalne u granicama od 1450 °C do 1500 °C (Mirošević i sur., 2013.).

#### **2.1.4. Uzgojne i gospodarske karakteristike**

Graševina je sorta visoka potencijala rodnosti i kvalitete, no za uzgoj zahtijeva dobre položaje na kojima može izraziti svoj puni kvalitativni potencijal. Najprikladniji su položaji s južnom ekspozicijom, umjerena nagiba s propusnim, dobro obrađenim tlom (Mirošević i sur., 2013.). Svoj visoki kvalitativni potencijal može ostvariti u širokom rasponu okolišnih uvjeta, no najbolje rezultate kod te sorte možemo očekivati u vinogradarskoj zoni C1 koju nalazimo na području istočne kontinentalne Hrvatske u podregijama Slavonija i Podunavlje. U tim uvjetima kvaliteta vina te sorte može biti vrlo visoka i najbolji primjerci upravo dolaze odande (Preiner, 2022.). Nedostatak te sorte može biti njezino kasno vrijeme dozrijevanja pri čemu na lošijim položajima ne uspijeva u potpunosti dozoriti. Za uzgoj su prikladni povišeni sustavi uzgoja, a osobito se dobro pokazala primjena dvokrakog sustava s mješovitom dužinom reza (Mirošević i sur., 2013.), iako danas sve više proizvođača koristi jednokraki uzgojni oblik s jednim reznikom i jednim lucnjem (jednokraki Guyot). Srodnost s američkim vrstama roda *Vitis* vrlo je dobra, što je važno zbog potrebe za cijepljenjem loze nakon pojave filoksere. Kao podloge najčešće se koriste križanci *Berlandieri x Riparia* poput Kobera 5BB i SO<sub>4</sub>, a u manjoj mjeri koriste se križanci *Vitis berlandieri x Vitis rupestris*.

Graševina je u Hrvatskoj dobro prihvaćena od strane vinogradara i vinara, o čemu svjedoči činjenica da je postala najvažnija sorta po površinama i količini proizvedenog vina, iako je prije 150 godina jedva bila poznata u našim krajevima. Jedna je od rijetkih sorata koja zadovoljava dva važna kriterija u proizvodnji – kvalitetu i količinu, čime može biti konkurentna na tržištu. Vina su dostupna u različitim razredima kvalitete i cijene pri čemu svaki potrošač može odabrati ono što mu je najprihvatljivije. Osnovni problem u prodaji vina čini velika konkurencija te uvoz vina pod imenom 'Graševina' iz trećih zemalja upitne kakvoće. Stoga je potrebno raditi na daljnjem brendiranju ove sorte kako bi ju potrošači u Hrvatskoj i svijetu prepoznali.

S obzirom na rasprostranjenost populacije 'Graševine' u Hrvatskoj te njezinu važnost, pojavila se potreba za njezinim oplemenjivanjem, odnosno poboljšanjem proizvodnih

svojtava, što je i učinjeno postupkom klonske selekcije započetim 2004. na prostoru Vinogorja Kutjevo. Klonska selekcija postupak je koji se uobičajeno provodi u svim vinogradarskim zemljama radi dobivanja nekoliko klonova superiornih gospodarskih i tehnoloških karakteristika kako bi se unaprijedila proizvodnja grožđa i vina. Individualna klonska selekcija temelji se na pozitivnim mutacijama, odnosno trajnim promjenama koje nastaju pri vegetativnom razmnožavanju vinove loze (Mirošević i sur., 2013). U svakoj populaciji sorte tijekom vremena dolazi do pojave biljaka koje po svojim fenotipskim karakteristikama odstupaju od prosjeka. Ako su te promjene trajne, odnosno prenose se daljnjim razmnožavanjem, tada možemo govoriti o mutacijama. Na taj način povećava se unutarSORTNA varijabilnost te dolazi do pojave klonova koji mogu biti više ili manje divergentni (Mirošević i sur., 2013.). Cilj postupka klonske selekcije jest uočiti pozitivne promjene određenog svojstva, ispitati prenose li se one na potomstvo te nakon višegodišnjeg postupka praćenja i ispitivanja selekcioniranih genotipova priznati ih kao klonove ako zadovoljavaju sve uvjete. Važan je dio klonske selekcije i ispitivanje potencijalnih klonova na prisutnost najvažnijih virusa vinove loze. Ako je neki od trsova pozitivan na ispitivane viruse, nužno ga je isključiti iz postupka klonske selekcije. Klonska selekcija 'Graševine' provodila se u Italiji, Sloveniji, Austriji, Mađarskoj, Srbiji te danas ove zemlje imaju klonove 'Graševine' različitih karakteristika i provjerenog zdravstvenog stanja. Na području Hrvatske malo se radilo na postupku klonske selekcije sve do početka 21. stoljeća s iznimkom rada Zdenka Turkovića sredinom 20. stoljeća na klonskoj selekciji 'Graševine' koja tada nije završena (Potrebica, 1983.). Klonska selekcija 'Graševine' započela je pozitivnom masovnom selekcijom te je nakon pregleda 30 000 trsova izdvojeno njih 249 s različitim pozitivnim karakteristikama. Nakon provedenih seroloških testova na prisutnost četiri virusa od 249 uzoraka njih 114 se pokazalo bezvirusnima te su automatski postali klonski kandidati. Svaki klonski kandidat potrebno je razmnožiti i pratiti pa su u tu svrhu podignuta dva pokusna nasada s 87 najboljih selekcioniranih genotipova. Uz njih su posađeni i klonovi 'Graševine' iz inozemstva kako bi poslužili kao standard, odnosno kontrola karakteristika klonskih kandidata (Mirošević i sur., 2013.). Nakon ispitivanja i praćenja najvažnijih ampelografskih i gospodarskih karakteristika izdvojeno je ukupno 12 klonskih kandidata koji su ušli u završno ispitivanje. Završno ispitivanje provedeno je na lokaciji Radovanci na području Vinogorja Kutjevo. Nasad je podignut 2012., a ispitivanje je započelo nakon tri godine, tj. s berbom 2015., 2016. i 2017. U svim godinama ispitivanja utvrđeno je da postoje značajne razlike među klonskim kandidatima u svim svojstvima osim prosječne mase grozda (Preiner, 2022.). Također provedena je i mikroviniifikacija radi određivanja kemijskog sastava vina svakog pojedinog klona te senzorna evaluacija uzoraka. Nakon svih provedenih postupaka od 12 klonskih kandidata izdvojena su 4 koja su priznata kao klonovi sorte 'Graševina' (OB-412, OB-414, OB-435 i OB-445). Postupkom klonske selekcije omogućeno je podizanje novih vinograda kvalitetnim bezvirusnim sadnim materijalom s mogućnošću da vinogradari i vinari odaberu klon koji najbolje odgovara njihovim potrebama. Svi navedeni klonovi 'Graševine' te drugih sorata na kojima je završen proces klonske selekcije opisani su u *Katalogu registriranih klonova sorata vinove loze Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu* (Preiner i sur., 2022.).

### 2.1.5. Enološka svojstva

Vina 'Graševina' značajno se razlikuju u kemijskom sastavu i organoleptičkim svojstvima ovisno o podrijetlu grožđa od kojeg je vino proizvedeno. Najbolje rezultate ta sorta postiže u vinogradarskoj zoni C1 zbog povoljnih klimatskih uvjeta koji omogućuju da iskaže svoj puni potencijal. Međutim, uslijed klimatskih promjena i povećanja temperature koje je evidentno posljednjih godina, sve je teže postići ravnotežu osnovnih parametara vina (Preiner, 2022.). Zbog visokih temperatura u vremenu dozrijevanja dolazi do nakupljanja visokog sadržaja šećera u grožđu, dok sadržaj kiselina pada, a istovremeno pH-vrijednost raste. U uvjetima visokih temperatura dolazi i do negativnog utjecaja na sekundarne metabolite iz grupe hlapljivih organskih spojeva odgovornih za aromu vina, što se u konačnici negativno odražava i na tipične aromatske karakteristike ove sorte (Preiner, 2022.). U konačnici visok sadržaj šećera u berbi rezultira visokom alkoholnom jakosti vina, što uz nedovoljnu ukupnu kiselost dovodi do neharmoničnosti u okusu vina. Karakteristike vina proizvedenih od 'Graševine' na području sjeverozapadne Hrvatske, odnosno vinogradarske zone B nešto su drugačija s obzirom na niže temperature tijekom vegetacijskog razdoblja. Općenito ih karakterizira nešto niža alkoholna jakost, viši sadržaj organskih kiselina te nešto jednostavniji aromatski profil. S obzirom na klimatske promjene koje su prisutne posljednjih godina moglo bi se reći da dolazi do određenog pomaka od istoka prema zapadu u kontekstu optimalnih uvjeta za uzgoj 'Graševine', međutim zbog kasnijeg dozrijevanja ipak se može dogoditi, posebice na lošijim položajima, da ne postigne zadovoljavajuće kvalitativne parametre u grožđu (optimalan sadržaj šećera i kiselina), što rezultira vinima niže kvalitete (Preiner, 2022.).

Osim za proizvodnju vina redovnih kategorija 'Graševina' je pogodna za proizvodnju vina predikatnih kategorija, a posebno onih najviših poput izborne berbe bobica i ledenog vina. U posljednje vrijeme koristi se sve više i za proizvodnju pjenušavih vina bilo klasičnom ili *charmat* metodom. Vina redovne berbe prosječno sadrže 12 – 14 vol. % alkohola i 5 – 7 g/L ukupne kiselosti, a opisuju se kao vina zelenožute do žute boje s ugodno izraženim voćnim i cvjetnim aromama i karakterističnom blagom gorčinom na završetku (Mirošević i sur., 2013.). Danas pojedini proizvođači koriste i drvene bačve za odležavanje pa takva vina imaju specifična svojstva pri čemu se gubi dio sortnih aroma, a naglašenije su arome dozrijevanja. Također sve popularnija postaje i proizvodnja maceriranih vina od te sorte pri čemu se koriste različite duljine maceracije te različiti postupci dozrijevanja. Predikatna vina, proizvedena od dobro dozrelog ili prezrelog grožđa često zaraženog plemenitom plijesni, su slamnatožute do zlatnožute boje sa specifičnim intenzivnim voćno-cvjetnim mirisom u kojem prevladavaju zrelo voće, citrusi, medne i začinske note. Ta vina izražene su punoće i trajnosti u ustima, a većinom se proizvode u poluslatkim i slatkim varijantama (Mirošević i sur., 2013.).

## 2.2. Općenito o aromama

Aroma vina važan je faktor kvalitete vina te je počesto prvo što konzumenti percipiraju. Ona je sačinjena od stotina hlapljivih spojeva koje se u vinu nalaze u koncentracijama od nekoliko mg/L do nekoliko ng/L, a često i manje. Osjetilni prag percepcije, koji definiramo kao koncentraciju mirisno aktivne supstance koju možemo percipirati u nekom mediju, razlikuje se za pojedine aromatske spojeve. Ovisi prije svega o koncentraciji i tipu spoja prisutnog u vinu, pri čemu spojevi prisutni u manjoj koncentraciji mogu imati važniju ulogu u doživljaju arome od onih koji su zastupljeni u mnogo višim koncentracijama (Ribereau-Gayon i sur., 2006.). Aroma je rezultat interakcije spoja nositelja arome i osjetila odgovornih za percepciju okusa i mirisa, a sastoji od hlapljivih spojeva odgovornih za miris i nehlapljivih spojeva koji izazivaju podražaj osjetila okusa, uzrokujući različite okusne senzacije kao što je slano, slatko, gorko i kiselo. Miris je biološki i elektrofiziološki proces koji pretvara informaciju mirisnog spoja u percepcijski odgovor. Ljudski olfaktorni sustav sadržava milijune olfaktornih senzornih neurona koji su pridruženi receptorima, od kojih je svaki sposoban prepoznati višestruke mirisne spojeve sa sličnim funkcionalnim skupinama. Različiti receptori mogu prepoznati istu mirisnu komponentu ako je više funkcionalnih skupina prisutno (Robinson i sur., 2014.). Podrijetlo aroma grožđa i vina jedna su od glavnih tema istraživanja tijekom posljednjih 50-ak godina, pri čemu je do značajnog napretka došlo razvojem modernih analitičkih metoda poput plinske kromatografije. Kombinacija analitičkih i senzornih metoda osobito je važna u objašnjavanju interakcija između spojeva arome i ostalih nehlapljivih spojeva koje vino sadrži. Te interakcije mogu rezultirati različitim senzornim karakteristikama zbog pojave sinergijskog ili supresijskog efekta među različitim spojevima (Robinson i sur., 2014.).

Velik broj spojeva arome u vinu rezultat je različitih mehanizama uključenih u njihov nastanak. Najvažniji od njih jesu: metabolizam grožđa, koji ovisi o samoj sorti te o karakteristikama tla, klime i primjeni različitih ampelotehničkih zahvata; biokemijske reakcije koje se događaju tijekom fermentacije, maceracije i ostalih postupaka prilikom prerade grožđa; fermentacijski metabolizam, koji uključuje različite mikroorganizme uzročnike alkoholne i malolaktične fermentacije; kemijske i enzimatske reakcije koje se događaju nakon fermentacije tijekom dozrijevanja u bačvama ili bocama (Ribereau-Gayon i sur., 2006.).

Karakteristične arome sorte koje potječu iz grožđa nazivamo primarnim aromama. Njihova važnost ogleda se u davanju specifičnog karaktera vinima te imaju utjecaj na sortnu prepoznatljivost. U grožđu većinom se nalaze u vezanom obliku koji ne pridonosi mirisu, ali tijekom fermentacije i dozrijevanja dolazi do njihova oslobađanja pod utjecajem enzimske aktivnosti. Najvažnije grupe ovih spojeva jesu terpeni, metoksipirazini, norisoprenoidi, hlapljivi sumporni spojevi te C<sub>6</sub> spojevi (Ribereau-Gayon i sur., 2006.).

Sekundarne arome obuhvaćaju spojeve koji nastaju tijekom fermentacije pod utjecajem metabolizma mikroorganizama koji koriste šećere, masne kiseline i dušične spojeve za sintezu spojeva poput estera, viših alkohola, hlapljivih masnih kiselina i hlapljivih fenola.

Tercijarne arome nastaju tijekom dozrijevanja vina u bačvama ili bocama uslijed brojnih kemijskih transformacija. Povećava se koncentracija spojeva poput dietil-sukcinata,

furfurala, dolazi do hidrolize estera, razgradnje karotenoida i ostalih promjena koje utječu na senzorne karakteristike vina. Razvoj tercijarnih aroma ovisi o kemijskom sastavu samoga vina, uvjetima skladištenja, tipu zatvarača i prisutnosti kisika (Herjavec 2019., Zhang i sur., 2023.).

Dozrijevanje vina u boci važan je proces pri kojem dolazi do promjena u okusnim i mirisnim karakteristikama vina. Zhang i sur. (2023.) navode tri razine razvoja kvalitete vina tijekom dozrijevanja u boci. Prva razina obuhvaća razvoj vina pri čemu se okus i miris poboljšavaju. Druga razina označava vrijeme kada vino ima najbolje senzorne karakteristike te je na vrhuncu potencijala kvalitete koju može postići. Daljnjim dozrijevanjem vina nakon druge faze dolazi do postupnog pada kvalitete, što čini treću razinu ciklusa. Dozrijevanje u boci povezano je s reakcijama mikooksidacije, koje mogu biti korisne za crna vina zbog smanjenja astrigentnosti, dok za pojedina bijela vina to može biti nepoželjan proces uslijed niske koncentracije fenolnih spojeva koji imaju antioksidativni karakter (Zhang i sur., 2023.). Proces dozrijevanja u boci uključuje brojne reakcije poput oksidacije, esterifikacije, hidrolize i Steckerovih reakcija koje uz specifične uvjete dozrijevanja poput temperature, vlage i svjetlosti te vrste zatvarača imaju znatan utjecaj na miris i okus vina (Zhang i sur., 2023.).

Tijekom dozrijevanja, ovisno o propusnosti zatvarača, kisik može ulaziti u bocu i reagirati sa spojevima u vinu. Količina kisika koji uđe na taj način većinom je manja od one koju vino može potencijalno konzumirati te je nakon iskorištenja inicijalno prisutnog kisika njegova koncentracija vrlo niska (Ugliano i sur., 2013.). Kako vino reagira s kisikom, postupno dolazi do iscrpljenja supstrata za oksidaciju i posljedično do smanjenog oksidacijskog kapaciteta vina.

Oksidacija u vinu može biti enzimaska i neenzimska. Enzimске oksidacije događaju se odmah pri preradi grožđa i alkoholnoj fermentaciji uslijed aktivnosti različitih oksidoreduktaza. Oksidacijski mehanizam uključen u promjene vina tijekom dozrijevanja u boci jest neenzimski, a najvećim dijelom uključuje degradaciju polifenolnih spojeva (Echave i sur., 2021.). Reakcije oksidacije moraju biti katalizirane ionima metala poput željeza, bakra i mangana, među kojima željezo ima glavnu ulogu (Danilewicz, 2011.). Vino sadrži tanine, polifenole, etanol i druge nehlapljive spojeve koji lako reagiraju s kisikom, izazivajući oksidacijske reakcije koje uključuju polimerizaciju pigmenta, kondenzaciju tanina, hidrolizu, stvaranje novih aromatskih spojeva i degradaciju već prisutnih aroma, što može rezultirati promjenama u aromi i osjećaju u ustima (Zhang i sur., 2023.). U boci pod utjecajem mikooksidacije dolazi do oksidacije alkohola u aldehide poput furfurala i *trans*-2-nonenala koji doprinose mirisu kuhanog povrća i drva (Echave i sur., 2021.).

Reakcije redukcije javljaju se u vinima koja se skladište u anaerobnim uvjetima, pri čemu je koncentracija kisika niska, a stupanj redukcije visok. Sumporni spojevi kao SO<sub>2</sub> mogu biti reducirani do hidrogen sulfida (H<sub>2</sub>S), čiji miris podsjeća na pokvarena jaja. Daljnji procesi mogu dovesti do formiranja ostalih sumpornih spojeva poput metanetiola (MeSH), koji može vinu dati neugodan miris na pokvarena jaja i kuhano povrće, prikrivajući na taj način poželjne arome (Zhang i sur., 2023.).

Tijekom dozrijevanja vina u boci događaju se reakcije esterifikacije i hidrolize koje su usko povezane s temperaturom skladištenja i pH-vrijednošću vina. Organske kiseline (octena,

mliječna itd.) mogu esterificirati s etanolom pri čemu nastaje etil-acetat i drugi etilni esteri. Sadržaj nekih estera može se smanjiti reakcijama hidrolize. Istraživanja su pokazala da u vinu 'Sauvignon bijeli' nakon visoke temperature skladištenja (povišenje temperature do 45 °C) 3-merkaptotioheksil acetat (3MHA) hidrolizira u 3-merkaptotioheksanol (3MH), što rezultira smanjenjem sadržaja 3MHA (Scrimgeour i sur., 2015.). Postoje dokazi da se povećanje sadržaja 1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftalena (TDN) u vinu može pripisati hidrolizi višestruko glikoliziranih prekusora pod kiselim pH te da povišene temperature mogu ubrzati ovaj proces (Robinson i sur., 2010.).

Steckerove reakcije razgradnje rezultiraju formiranjem aldehida i aminoketona. Fenolni spojevi mogu biti oksidirani u *o*-kinone koji su sposobni razgraditi aminokiseline pri čemu dolazi do stvaranja Steckerovih aldehida, spojeva niskog mirisnog praga detekcije (Zhang i sur., 2023.).

## **2.3. Primarne arome**

Primarne su ili sortne arome hlapljivi spojevi prisutni u grožđu nastali različitim metaboličkim putevima. Imaju važnu ulogu u formiranju cjelokupnog aromatskog profila vina. Primarne arome pripadaju grupi spojeva u biljci koji se nazivaju sekundarni metaboliti, a obuhvaćaju monoterpene, norizoprenoide, antocijane, fenole, alifatske ugljikohidrate (esteri, aldehidi, ketoni, alkoholi), alkaloide i mnoge druge (Robinson i sur., 2014.).

### **2.3.1. Terpeni**

Terpeni su velika skupina spojeva široko rasprostranjena u biljnom carstvu. U mirisne terpene ubrajamo monoterpene (spojevi s 10 ugljikovih atoma) i seskviterpene (spojevi s 15 ugljikovih atoma), a nastaju iz dviju odnosno triju izoprenskih jedinica (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Monoterpeni i seskviterpeni sintetiziraju se iz izopentil-pirofosfata (IPP) i dimetilalil-pirofosfata (DMAPP) (Robinson i sur., 2014.). Monoterpeni se nalaze u bobicama za vrijeme zretanja, no njihova se koncentracija smanjuje do šare, nakon čega se koncentracija ponovno počinje povećavati. Monoterpeni se pojavljuju u obliku jednostavnih ugljikovodika (limonen, mircen i dr.), aldehida (linalal, geranial i dr.), ketona (geranil-aceton i dr.), alkohola (linalol, geraniol i dr.), kiselina (linolska i geranijska kiselina i dr.) pa čak i estera (linalil-acetat i dr.) (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). U grožđu je identificirano oko 40 terpenskih spojeva. Neki od monoterpenskih alkohola pripadaju među spojeve najizraženija mirisa, posebice linalol,  $\alpha$ -terpineol, geraniol, nerol, hotrienol i citronelol koji imaju cvjetnu aromu koja podsjeća na ružu. Najmirisniji su linalol i citronelol. Mirisni je učinak terpenskih spojeva sinergistički (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Monoterpeni su važni spojevi koji doprinose aromi bijelih vina proizvedenih od muškatinih sorata (npr. 'Muškat aleksandrijski', 'Muškat ottonel') i aromatskih nemuškatinih sorata (npr. 'Traminac', 'Rizling', 'Pinot sivi') (Robinson i sur., 2014.). Crne sorte ne sadržavaju visoke koncentracije terpena, iako su najčešće prisutne niske razine nekih terpena (npr. <1.5  $\mu$ g/kg citroneol, linalol, nerol i geranil/neril aceton u grožđu sorte 'Cabernet

sauvignon') (Robinson i sur., 2014.). Monoterpeni poliol (dioli i trioli), prisutni u grožđu u koncentracijama do jednog miligrama po litri ili nešto više, nisu jako mirisni. Međutim oni mogu tvoriti druge monoterpe hidrolizom u kiselom mediju, od kojih su neki mirisni. Tako kiselom hidrolizom 3,7-dimetilokta-1,5-dien-3,7-diola nastaje ho-trienol (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.).

Monoterpeni se u grožđu javljaju kao slobodni ili vezani (glikolizirani) na molekulu  $\beta$ -D-glukoze koja može biti povezana s jednom od sljedećih heksoza: apioza, arabinoza i ramnoza (Ribéreau-Gayon i sur., 2006). Glikozidno vezani spojevi arome predstavljaju važnu zalihu arome u vinu. Sve sorte grožđa sadržavaju slične glikozide, ali muškatna grupa sorata sadrži najviše koncentracije tih spojeva. Kožica grožđa sadrži više koncentracije slobodnih i glikoliziranih monoterpena nego meso i sok, međutim relativni omjeri slobodnih i vezanih spojeva ovise o sorti. Distribucija monoterpenih alkohola nije podjednaka za sve spojeve jer se nerol i geraniol pretežito nalaze u kožici, dok linalol nalazimo posvuda u bobi (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Smatra se da je glikozidni oblik monoterpena važan biljci zbog bolje topljivosti u vodi od aglikona, čime se omogućava transport i akumulacija monoterpena u biljci.

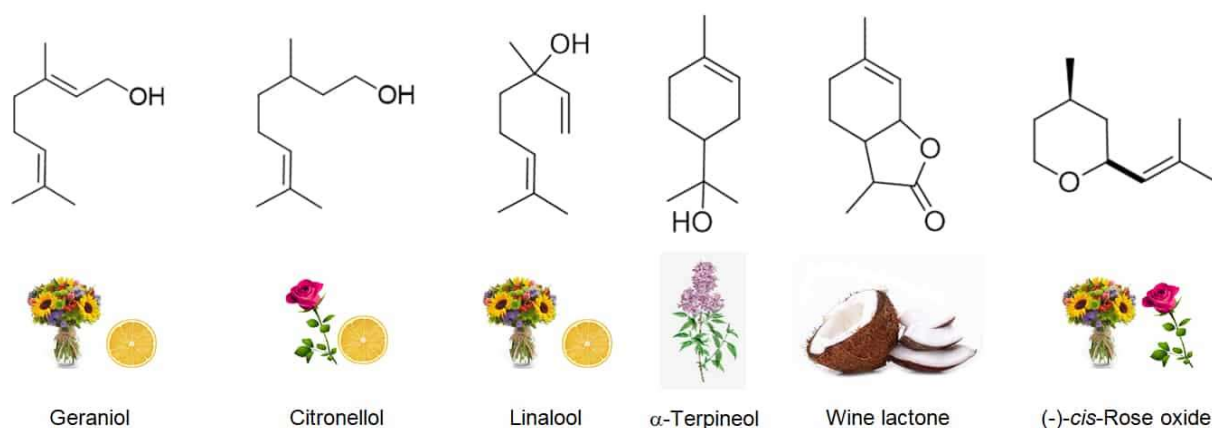
Grožđe sadržava enzim  $\beta$ -glukozidazu koji je sposoban osloboditi slobodne, mirisne terpe iz njihova vezanog, nemirisnog oblika. U normalnim uvjetima proizvodnje vina taj endogeni enzim ima ograničenu učinkovitost zbog toga što je optimalna pH-vrijednost za njegovo djelovanje oko 5 te iz razloga što bistrenje mošta inhibira njegovu aktivnost (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Proces alkoholne fermentacije ima neznatan utjecaj na otpuštanje terpena iz njihova vezanog oblika te je koncentracija glikozida u vinu slična onoj u grožđu. Kvasci koji se koriste u vinifikaciji imaju periplazmatske glikozidaze koji bi mogli osloboditi vezanu aromu iz glikozida, ali optimalni pH za njihovo djelovanje iznosi oko 5. Zbog slabog djelovanja enzima prirodno prisutnih u grožđu na oslobađanje slobodnih oblika terpena pojavila se potreba za korištenjem egzogenih enzima dobivenih iz kultura *Aspergillus niger*. Nekoliko je enzima uključeno u proces oslobađanja aglikona koji se odvija u dva koraka. Prvo  $\alpha$ -L-ramnozidaza,  $\alpha$ -L-arabinozidaza ili  $\beta$ -D-apiozidaza razdvoje disaharid, a onda  $\beta$ -D-glukozidaza oslobodi određeni mirisni aglikon (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Monoterpeni u grožđu mogu nastati i djelovanjem okolišnih čimbenika, odnosno pod utjecajem okruženja u kojem se vinograd nalazi. Dokazi sugeriraju da 1,8-cineol (eukaliptol) pronađen u bobicama 'Cabernet sauvignona' može potjecati iz stabala eukaliptusa koja se nalaze u i oko vinograda (Capone i sur., 2012.).

Seskviterpenima se u prošlosti nije pridavala velika pozornost u istraživanjima utjecaja različitih spojeva na arome vina. Seskviterpen  $\alpha$ -ylangen identificiran je u australskim vinima sorte 'Shiraz', no njegov doprinos aromi nije potvrđen (Parker i sur., 2007.). Seskviterpen rotundon naknadno je identificiran kao spoj koji utječe na aromu i odgovoran je za miris crnog papra u vinima proizvedenim od 'Shiraza' (Siebert i sur., 2008.).

Terpeni alkoholi imaju važnu ulogu u razvoju arome tijekom starenja vina u boci. Iako većina terpena potječe iz grožđa, oni također mogu nastati kiselom hidrolizom tijekom starenja u boci. Iz geraniola može nastati linalol i/ili  $\alpha$ -terpenol (Waterhouse i sur., 2016.).

Otkriveno je da na isti način linalol može ustupiti mjesto geraniolu redukcijom s hidroksilnim anionom (Yang i sur., 2019.). Zabilježeno je da se koncentracije linalola i  $\alpha$ -terpineola povećavaju nakon 18 mjeseci skladištenja, ali zatim pokazuju značajan pad koncentracije nakon 24 mjeseca (Vázquez-Pateiro i sur., 2020.). Ferreira i sur. (2002.) navode da se u kiselom mediju razgradnjom geraniola i linalola mogu formirati linalol oksid i  $\alpha$ -terpenol te da je reakcija brža pri višoj temperaturi kakva se može javiti tijekom transporta i skladištenja.

U istraživanju aromatskih značajki vina 'Graševina' Martelanc i sur. (2024.) uspoređivali su aromatske profile vina 'Graševina', 'Chardonnay' i 'Pinot sivi' analizirajući 60 aromatskih spojeva. Utvrdili su da se vina 'Graševina' u odnosu na vina 'Chardonnay' i 'Pinot sivi' istih proizvođača razlikuju u sadržaju četiri terpena ( $\alpha$ -terpinen,  $\gamma$ -terpinene, 1,4-cineol i 4-terpineol) koji su bili pretežito zastupljeni u višim koncentracijama u vinima 'Graševina'.



Slika 2. Primjeri terpena pristunih u vinu

Izvor: <https://bhftechnologies.com.au/an-observed-reduction-in-wine-cineole-content/>

### 2.3.2. Norisoprenoidi

Oksidativnom degradacijom karotenoida (terpena s 40 ugljikovih atoma) nastaju derivati s 9, 10, 11 ili 13 ugljikovih atoma. Među tim spojevima najzanimljivija mirisna svojstva imaju derivati s 13 ugljikovih atoma ( $C_{13}$ -norisoprenoidi). Norisoprenoidni derivati po kemijskoj se strukturi dijele na dvije glavne skupine: megastigmane i ne-megastigmane (Ribéreau-Gayon i sur., 2006), od kojih svaka skupina sadrži velik broj hlapljivih spojeva važnih za aromu vina. Megastigmane norisoprenoide karakterizira benzenski prsten supstituiran na položajima 1, 5 i 6 te nezasićeni alifatski lanac s četirima ugljikovim atomima koji je vezan na položaju 6 benzenskog prstena. Megastigmani su oksidirani  $C_{13}$ -norisoprenoidi, a dijele se na damaskenonsku (oksidirani na C7) i iononsku (oksidirani na C9) grupu (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Iz tih skupina najpoznatiji norisoprenoidi su  $\beta$ -damaskenon i  $\beta$ -ionon čiji miris se opisuje kao voćni i cvjetni, odnosno miris na ljubičice. Drugi oksigenirani  $C_{13}$ -norisoprenoidi



identificirani u vinu jesu 3-okso- $\alpha$ -ionol, 3-hidroksi- $\beta$ -damaskon i  $\beta$ -damaskon, no njihov utjecaj na aromu nije značajan zbog visokog olfaktivnog praga percepcije.

Najvažniji nemegastigmanski spoj u vinu je 1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftalen (TDN), koji se povezuje s mirisom kerozina (petroleja) u starim vinima sorte 'Rizling rajnski' (Simpson, 1978.). Međutim, pri niskim koncentracijama smatra se da daje aromu karamele te utječe na kompleksnost mirisa. TDN nije prisutan u grožđu i mladim vinima, ali se pojavljuje tijekom starenja dosežući koncentracije od 200  $\mu\text{g/L}$ , dok prag percepcije iznosi 20  $\mu\text{g/L}$  (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Ostali spojevi iz grupe nemegastigmata su 1-(2,3,6-trimetilfenil)buta-1,3 dien (TPB) koji se povezuje s cvjetnim, geranijskim i duhanski mirisom starijih 'Semillion' vina (Janusz i sur., 2003.), i vitispiran koji se povezuje s mirisom na kamfor (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Neki nemegastigmanski  $\text{C}_{13}$ -norisoprenoidi nastaju iz megastigmata kemijskom reakcijama u kiselom mediju (Sefton i sur., 1989.).

Norisoprenoidi su prisutni u svim sortama vinove loze, iako su najzastupljeniji u aromatskim sortama. Smatra se da igraju važnu ulogu u aromi mnogih vinskih sorata uključujući 'Semillon', 'Sauvignon bijeli', 'Chardonnay', 'Merlot', 'Syrah' i 'Cabernet sauvignon' (Robinson i sur., 2014.). Uglavnom se nalaze u kožici bobice, stoga su koncentracije u crnim vinima znatno veće zbog postupka maceracije.

$\text{C}_{13}$ -norisoprenoidi u grožđu su uglavnom prisutni u obliku nehlapljivih prekusora (karotenoida i glikozida).  $\text{C}_{13}$ -norisoprenoidi prisutni u grožđu u glikoliziranom obliku se ne mogu hidrolizirati glikozidazama grožđa i kvasaca, nego se mogu osloboditi egzogenim gljivičnim glikozidazama. Oslobodeni hlapljivi spojevi nisu jako mirisni (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.).

Karotenoidi se smatraju dijelom potencijala arome grožđa zbog toga što su biogenetski prekursori  $\text{C}_{13}$ -norisoprenoida. Kako norisoprenoidi nastaju iz karotenoida, proizlazi da na zastupljenost norisoprenoida utjecaj može imati karotenoidni profil bobice (Robinson i sur., 2014.). Karotenoidi zrelog grožđa imaju sve odgovarajuće bicikličke strukture karotenoida povezanih s fotosintetskim sustavima PSI i PSII, multiproteinskim kompleksima biljnih kloroplastnih membrana (Baumes, 2009.). Karotenoidi imaju važnu ulogu u zaštiti biljnog tkiva sprječavajući stvaranje radikala kisika, snažnog oksidansa koji može oštetiti staničnu membranu i proteine. Također utvrđeno je da karotenoidi pospješuju fotosintetsku aktivnost viših biljaka (Robinson i sur., 2014.). Više od 600 karotenoida i ksantofila, s raznolikim rasponom struktura, izolirano je iz prirodnih izvora, međutim samo je nekoliko njih izolirano iz grožđa i vina.  $\beta$ -karoten i lutein čine 85% ukupne količine karotenoida, dok su u manjoj mjeri zastupljeni neoksantin, neokrom, violaksantin, zeaksantin, luteoksantin i ostali (Robinson i sur., 2014.). Sunce potiče biosintezu karotenoida u bobici, od faze formiranja ploda do šare. Od faze šare do zrelosti potaknuta je njihova razgradnja u norisoprenoide kada klorofilni fotosintetski pigmenti degradiraju (Baumes, 2009.). U istraživanjima utjecaja dozrijevanja na sadržaj aromatskih spojeva i njihovih preteča utvrđeno je da se karotenoidi koji se nakupljaju prije fenofaze šare vrlo brzo razgrađuju poslije šare. Brza razgradnja utvrđena je posebice za  $\beta$ -karoten, lutein i violaksantin pri čemu je nakupljanje norisoprenoida proporcionalno

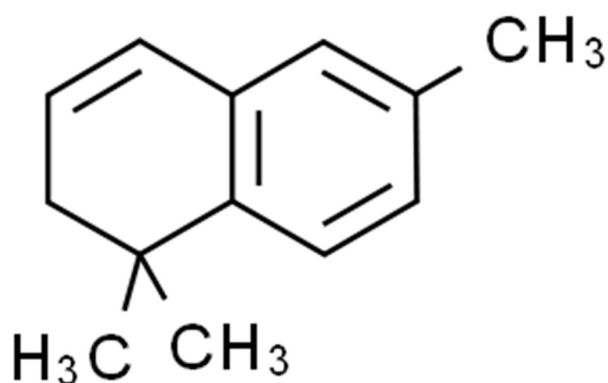
razgradnji karotenoida i pozitivno korelira s povećanjem koncentracije šećera (Strauss i sur., 1987.).

Norisoprenoidi nastaju biorazgradnjom roditeljskog karotenoida poslije koje slijedi enzimski pretvorba u preteče arome (glikolizirani ili neki drugi polarni intermedijar) te nakraju dolazi do kiselinom katalizirane pretvorbe u aromatski aktivni spoj (Robinson i sur., 2014.). Specifičnost regija enzimskog cijepanja karotenoida u grožđu objašnjava prevlast glikozidnih norisoprenoida s 13 ugljikovih atoma, ali je njihov ukupni sadržaj približno 10 puta manji od sadržaja karotenoida (Baumes, 2009.). Jednom kada se formiraju, ti spojevi podliježu daljnjoj kiseljoj reakciji tijekom odležavanja vina.

Za razliku od drugih C<sub>13</sub>-norisoprenoidnih prekursora mirisa u vinu, npr. β-damaskenona ili 1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftalena (TDN), glikozidni prekursor β-ionona nije identificiran u grožđu ili vinu. Unatoč tome β-ionon je sastavni dio vina te je njegova viša koncentracija pronađena u vinu od one u moštu od istog grožđa, što sugerira da β-ionon nastaje neenzimskom razgradnjom β-karotena tijekom proizvodnje vina (Baumes, 2009.).

Čini se da se koncentracije β-damaskenona i β-ionona, kao i koncentracija TDN-a, povećavaju tijekom dozrijevanja vina. Ovi norisoprenoidi rezultat su razgradnje karotena iz grožđa i uglavnom se pojavljuju tijekom alkoholne fermentacije, no skladištenjem u bocama dolazi do daljnje oksidativne razgradnje pigmenta što dovodi do oslobađanja ovih spojeva. Oba norisoprenoida, β-damaskenon i β-ionon, imaju cvjetni, voćni miris, a navodno β-damaskenon povećava i aromatski intenzitet drugih spojeva prisutnih u vinu (Echave i sur., 2021.).

U istraživanju utjecaja dozrijevanja vina 'Valpolicella' na sastav terpena, seskviterpena i norisoprenoida (Slaghenaufi, Ugliano, 2018.) dokazano je da se tijekom dozrijevanja povećava koncentracija TPB-a i megastigmanih izomera, što utječe na pojavu balzamičnih i duhanskih aroma u vinu.



Slika 3. Kemijska struktura TDN-a

Izvor: <https://www.synchem.de/product/116-trimethyl-12-dihydronaphthalene/>

### 2.3.3. Tioli

Tioli su sumporni spojevi koji su građeni od sulfhidrilne, odnosno tiolne skupine (-SH) vezane na C atom, a ujedno su i najzastupljeniji sumporni spojevi u moštu i vinu. Obično se smatraju nepoželjnima zbog njihove povezanosti s mirisnim nedostacima u vinu, međutim sortni tioli jedna su od najpoželjnijih skupina aromatskih spojeva u vinu te se povezuju s mirisom grejpa, tropskog voća, crnog ribizla, šimšira i citrusa. Tri najzastupljenija tiola u vinu su 4-merkapt-4-metilpentan-2-on (4MMP), 3-merkapt-3-heksil acetat (3MHA) i 3-merkapt-3-heksan-1-ol (3MH). Navedeni spojevi imaju izrazito nizak prag percepcije od svega nekoliko ng/L (Tominga i sur., 1998.). Sortni su tioli među posljednjim aromatskim spojevima otkrivenim u vinu s obzirom na prisutnost u izrazito niskim koncentracijama. Prvootkriveni 4-merkapt-4-metilpentan-2-on pronađen je kao karakterističan spoj arome vina 'Sauvignon' (Darriet i sur., 1993.). Manje značajan spoj 4-merkapt-4-metilpentan-1-ol povezuje se s mirisom kore citrusa, ali njegova koncentracija u vinu rijetko prelazi prag percepcije od 55 ng/L (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Hlapljivi tioli identificirani su i u vinima ostalih sorata poput 'Traminca', 'Graševine', 'Pinota' i 'Rizlinga', kao i u nekim crnim poput 'Grenacha', 'Merlota' i 'Cabernet sauvignona' (Roland i sur., 2011.).

Grožđe i mošt 'Sauvignona', kao i mnogih drugih sorata, nema izražene aromatske karakteristike za razliku od vina, što je sugeriralo da u grožđu postoje određeni prekusori aroma koji se oslobađaju tijekom fermentacije. Postojanje prekusora aroma 'Sauvignona' potvrđeno je 90-ih godina prošlog stoljeća u Francuskoj (Darriet i sur., 1993.). Činjenica da je nemoguće osloboditi 4MMP koristeći egzogene  $\beta$ -glukozidaze dovela je do saznanja da prekusori aromatskih spojeva na bazi sumpora nisu glikozidi. Upotrebom plinske kromatografije i masene spektrometrije dokazano je da su prekusori spojeva 4-merkapt-4-metilpentan-2-on (4MMP), 4-merkapt-4-metilpentan-2-ol (4MMPOH) i 3-merkapt-3-heksan-1-ol (3MH) prisutni u obliku S-cistein konjugata: S-3-(heksan-1-ol)-L-cistein, S-4-(4-metilpentan-2-on)-L-cistein i S-4-(4-metilpentan-2-ol)-L-cistein (Tominga i sur., 1993.).

Dodatno, nakon otkrića cistein konjugata kao prekusora sortnih tiola u vinu, otkriveno je kako su i glutation konjugati važan izvor, odnosno prekusor, ugodna mirisa polifunkcionalnih tiola (Roland i sur., 2010.). Istraživanja su pokazala kako je S-3-(heksan-ol)-glutacion 35 puta zastupljeniji od S-3-(heksan-1-ol)-L-cisteina u moštu 'Sauvignona' (Caprone i sur., 2010.). S-3-(heksan-ol)-glutacion može se smatrati pro-prekusorom iz kojeg reakcijama katabolizma u grožđu nastaje S-3-(heksan-1-ol)-L-cistein. Mogućnost da se S-3-(heksan-ol)-glutacion djelomično pretvara u S-3-(heksan-ol)-L-cistein pod utjecajem enzima grožđa tijekom prefermentacijskih operacija ne može se isključiti (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.).

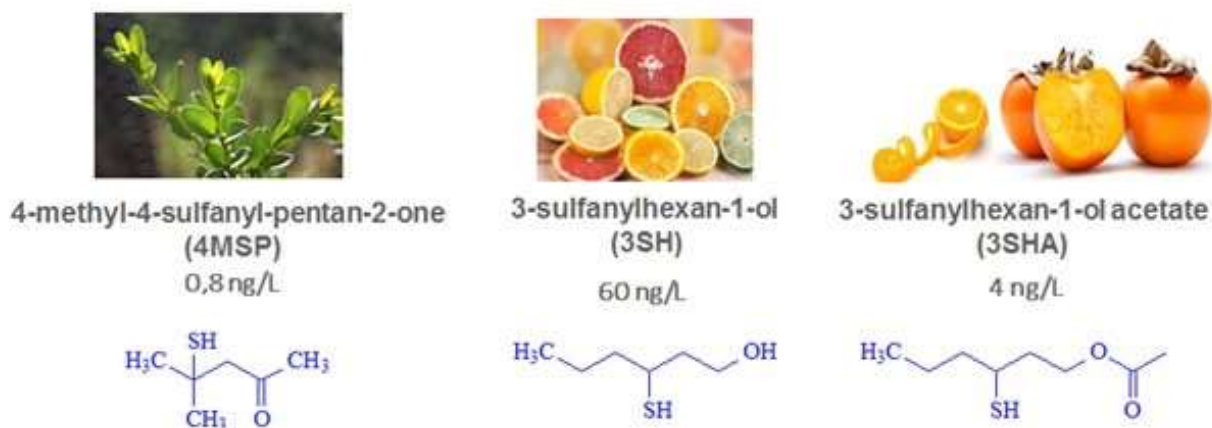
Prekusori spojeva 4MMP i 4MMPOH većinom se nalaze u mesu bobice (oko 80%), dok se prekusori 3MH nalaze u podjednakim koncentracijama u mesu i kožici bobice (Peyrot des Gachons i sur., 2002.). Takva raspodjela prekusora unutar bobice objašnjava zašto maceracijom (kontakt s kožicom) dolazi do poboljšanja aromatskog potencijala 'Sauvignona'.

Tijekom fermentacije dolazi do oslobađanja hlapljivih tiola iz njihovih prekusora pod utjecajem enzima  $\beta$ -liaze. Kako bi se preobrazio u aromu, prekusor mora ući u kvasac gdje

dolazi do cijepanja eliminacijom cisteiniliranog prekursora i konačno dolazi do izlučivanja hlapljivog spoja arome u medij gdje je više ili manje stabilan zbog potencijane reaktivnosti s drugim spojevima (Dubourdieu, Tominga, 2009.). Koncentracija tiola nastalih tijekom fermentacije mnogo je manja u odnosu na količinu prisutnih prekursora u grožđu i moštu, što znači da enzimi kvasaca nisu u mogućnosti osloboditi sve tirole iz njihovih prekursora. Literaturni podatci navode da stupanj konverzije iznosi svega od 0,1 do 12 %, a ovisi prije svega o vrsti i soju kvasca koji provodi fermentaciju, pri čemu u vinu ostaje znatna količina cisteinskih i glutationskih prekursora (Caprone i sur., 2010.). Kako razina aktivnosti  $\beta$ -liaze varira između različitih vrsta i sojeva kvasaca, selekcija kvasaca može poslužiti kako alat za moduliranje koncentracija tiola prisutnih u vinu, utječući pri tome na cjelokupni aromatski profil vina. Korištenje nekih *ne-Saccharomyces* kvasca poput *Metschnikowia pulcherrima* rezultira povećanjem koncentracija tiola i ugodnih voćnih mirisa u krajnjem proizvodu (Ruiz i sur., 2018.).

Osim utjecaja kvasca na koncentraciju tiola u vinu dokazano je da i različiti klonovi iste sorte mogu rezultirati različitim koncentracijama tiola u vinu. Većina se istraživanja odnosi na 'Sauvignon bijeli' kao glavnog predstavnika sorti s naglašenim tiolnim karakterom. Capone i sur. (2011.) pokazali su da se pet klonova 'Sauvignona' međusobno značajno razlikuju u koncentracijama sortnih tiola i tiolnih prekursora. Tomašević i sur. (2022.) potvrđuju da je klonska selekcija potencijalni modulator koncentracije sortnih tiola u vinima proizvedenim od 'Pošipa'. Tomašević i sur. (2022.) u istraživanju utjecaja klona i soja kvasca na koncentracije sortnih tiola u vinima 'Graševina' dolaze do zaključka da su tioli prisutni i u vinima ove sorte te, iako se nalaze u niskim koncentracijama, mogu doprinijeti ukupnom aromatskom profilu vina. Također dokazano je da njihova koncentracija ovisi o klonu sorte te soju kvasaca.

Tijekom fermentacije i dozrijevanja vina dolazi do promjena u koncentraciji pojedinih tiola. Sadržaj 4MMP, 4MMPOH i 3MH raste tijekom fermentacije zbog oslobađanja iz prekursora prisutnih u grožđu. 3-merkaptuheksil acetat (3MHA) nastaje tijekom fermentacije procesom esterifikacije octene kiseline s oslobođenim 3-merkaptuheksanolom (3MH) (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Dokazano je smanjenje sadržaja 3MH tijekom 12 mjeseci dozrijevanja crnog vina u drvenim bačvama. Uvjeti kontrolirane oksidacije tijekom starenja u bačvi odgovorni su za smanjenje 3MH, kao i činjenica da je visoko oksidabilan i izuzetno reaktivan s kinonima nastalim oksidacijom fenolnih spojeva (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Korištenje bakrova sulfata za uklanjanje  $H_2S$  iz vina na kraju fermentacije ili neposredno prije punjenja u boce može rezultirati smanjenjem koncentracije 3MH u buteljiranom 'Sauvignonu' (Ugliano i sur., 2010.). Ribéreau-Gayon i sur. (2006.) navode da tijekom starenja vina dolazi do smanjenja u koncentraciji 3-merkaptuheksil acetata (3MHA) koji hidrolizom prelazi u 3-merkaptuheksanol (3MH). Echave i sur. (2021.) navode da tijekom dozrijevanja dolazi do smanjenja u koncentraciji sortnih tiola, dok neki kompleksni tioli poput benzenmetantiola i 2-furanmetantiola mogu nastati. Za benzenmetantiol je karakteristično da ima aromu kremena ili pečenog. Smatra se da je benzaldehid prekursor nastanka benzenmetantiola, dok 2-furanmetantiol nastaje metabolizmom kvasca iz prekursora furfurala (Tominga i sur., 2006.).



Slika 4. Najvažniji tioli prisutni u vinu i njihove mirisne karakteristike  
Izvor: <https://bhftechnologies.com.au/increased-thiol-aromas-in-sauvignon-blanc/>

### 2.3.4. C<sub>6</sub> spojevi

U biljkama brojni alifatski alkoholi, aldehidi, ketoni, kiseline, esteri i laktoni potječu iz masnih kiselina koji su nastali putem  $\alpha$ -oksidacije ili  $\beta$ -oksidacije ili lipoksigenazom (Schwab i sur., 2008). Ukupan sadržaj nezasićenih masnih kiselina u grožđu iznosi oko 350 mg/kg bobica, gotovo ne ovisi o sorti i smanjuje se sa zrelošću. Ti spojevi, ponajprije smješteni u čvrstim dijelovima bobice, razgrađuju se enzimima grožđa u takozvane C<sub>6</sub> spojeve u trenutku gnječenja grožđa i u doticaju s kisikom (Baumes, 2009.). C<sub>6</sub> spojevi općenito nastaju aktivacijom enzima lipoksigenaze (LOX), hidroperoksidaze (HPL), (3Z)-(2E)-enalizomeraze i alkohol dehidrogenaze (ADH) koji se sintetiziraju, aktiviraju i(li) oslobađaju iz grožđa tijekom procesa muljanja (Robinson i sur., 2014.). Enzimatska aktivnost ovisi o dozrelosti grožđa. Najvažniji aromatski spojevi dobiveni iz masnih kiselina u grožđu su C<sub>6</sub> aldehidi i alkoholi koji pridonose karakterističnim aromama povrća i zelenog lišća (Schwab i sur., 2008.). Njihov utjecaj izraženiji je u soku grožđa gdje doprinose zelenim i vegetalnim aromama, dok je u vinu njihov utjecaj mnogo manji.

C<sub>6</sub> alkoholi (1-heksanol, Z-3-heksenol i E-2-heksenol) akumuliraju se u bobici do faze šare, nakon čega njihov sadržaj opada dok se C<sub>6</sub> aldehidi (heksanal i E-2-heksenal) povećavaju nakon faze šare. C<sub>6</sub> aldehidi mogu imati snažan utjecaj na miris mošta, ali njihov sadržaj se smanjuje tijekom alkoholne fermentacije pod utjecajem kvasaca (heksanal se reducira u heksanol) te rijetko njihova koncentracija prelazi mirisni prag percepcije. C<sub>6</sub> alkoholi poput 3-heksenola i 2-heksenola imaju jače izražena mirisna svojstva, no rijetko se javljaju u količinama koje bi imale utjecaj na aromu vina (Baumes, 2009.). C<sub>6</sub> spojevi također mogu poslužiti kao supstrati za proizvodnju estera radom kvasaca tijekom procesa fermentacije (Robinson i sur., 2014.).

## 2.4. Sekundarne arome

Sekundarne arome nastaju tijekom pretfermentacijskih postupaka, u procesima prerade grožđa (muljanje, maceracija, prešanje) i djelovanjem kvasaca i bakterija tijekom alkoholne i malolaktične fermentacije (Herjavec, 2011). Fermentacijske arome uglavnom su rezultat metabolizma kvasaca, ovisne o temperaturi fermentacije, kemijskom sastavu mošta te soju kvasaca koji provodi fermentaciju. Najvažnije skupine spojeva uključenih u stvaranje sekundarne arome su esteri, viši alkoholi, hlapljive masne kiseline, aldehidi i ketoni. Tu podjelu treba shvatiti uvjetno jer neki spojevi koji po svojoj kemijskoj strukturi pripadaju tim skupinama nisu karakteristični predstavnici sekundarnih aroma, već nastaju tijekom dozrijevanja vina, pa ih možemo smatrati i tercijarnim aromama (npr. dietil-sukcinat).

### 2.4.1. Esteri

Esteri čine skupinu spojeva koji imaju najveći utjecaj na aromu vina. Većinom se povezuju s voćnim i cvjetnim mirisima u vinu. Činjenica da je većina estera prisutna u koncentracijama oko njihova senzorskog praga osjetljivosti upućuje na to da i male promjene koncentracije mogu značajno utjecati na aromu vina (Jackson, 2008).

Dvije najvažnije skupine estera koje nastaju tijekom alkoholne fermentacije su acetatni esteri, koji se povezuju s voćnim mirisima, i etilni esteri masnih kiselina. Najvažniji predstavnici acetatnih estera su: etil acetat, 2-metilpropil acetat (izobutil acetat), 2- i 3-metilbutil acetat (amil i izoamil acetat), heksil acetat i 2-feniletil acetat (Ugliano, Henschke, 2009.). Neki od predstavnika etilnih estera su: etil butanoat, etil heksanoat, etil oktanoat i etil dekanoat. U grožđu je prisutno vrlo malo estera. Metil antranilat ester je čiji miris podsjeća na lisičje krzno, a nalazi se u grožđu vrste *Vitis labrusca* (Ribéreau-Gayon i sur. 2006.). Postoji velik broj različitih alkohola i kiselina u vinu, pa je broj mogućih estera također vrlo velik. Općenito, većina acetatnih i etilnih estera zastupljeni su u istim ili višim koncentracijama u bijelim vinima u usporedbi s crnim (Robinson i sur., 2014.).

Esteri se općenito smatraju produktima metabolizma kvasca putem metabolizma lipida i acetil-CoA. Acetatni esteri nastaju kondenzacijom viših alkohola s acetil-CoA, koju u stanici katalizira enzim alkohol acetiltransferaza. Konačna koncentracija tih spojeva rezultat je ravnoteže između enzima alkohol acetiltransferaze, koji potiču njihovu sintezu, i enzima esteraze koji potiču njihovu hidrolizu (Ugliano, Henschke, 2009.). Geni ATF1 i ATF2 kodiraju za enzime alkohol acetiltransferaze (Atf1p i Atf2p) koji su odgovorni za sintezu acetatnih estera od strane *Saccharomyces* kvasaca. Iako je koncentracija supstrata važna za formiranje acetatnih estera, uočeno je da odlučujući faktor koji utječe na razinu stvorenih acetanih estera je razina ekspresije alkohol acetiltransferaza ATF1 i ATF2 (Robinson i sur., 2014.). Vjeruje se da su varijacije u profilu ekspresije sintetskih i hidrolitičkih gena razlog modularane proizvodnje acetatnih estera između različitih sojeva kvasaca pod različitim uvjetima fermentacije. Etil acetat najzastupljeniji je ester u vinu koji u manjim količinama nastaje tijekom alkoholne

fermentacije, a veće količine mogu nastati aktivnošću aerobnih octenih bakterija, osobito tijekom odležavanja u bačvama. U vinu se najčešće nalazi u koncentracijama od 50 do 100 mg/L te može utjecati na aromatsku kompleksnost vina. U količini većoj od 150 mg/L uzrokuje miris laka za nokte koji negativno utječe na kvalitetu vina (Ribéreau-Gayon i sur. 2006.).

Etil esteri masnih kiselina srednjeg lanca produkt su enzimatski kataliziranih reakcija kondenzacije između aktiviranih masnih kiselina (acetil-CoA) i etanola. Smatra se da su razine prekursora masnih kiselina glavni faktor koji utječe na proizvodnju tih estera, za razliku od aktivnosti biosintetskih enzima koja je ograničavajući faktor za proizvodnju acetatnih estera (Robinson i sur., 2014.). Identificirana su dva enzima (Eht1p i Eeb1p) odgovorna za stvaranje etil estera masnih kiselina srednjeg lanca. Dokazano je da Eht1p katalizira stvaranje etil heksanoata, etil oktanoata i etil dekanoata koji doprinose voćnim aromama. Brisanje jednog ili obaju gena koji kodiraju enzime rezultiralo je smanjenim formiranjem etil estera, dok je njihova prekomjerna ekspresija imala ograničen ili nikakav učinak na konačne koncentracije tih metabolita (Saerens, 2006.). Moguće je da ti enzimi imaju bifunkcionalnu (sintetičku i hidrolitičku) aktivnost ili da je razina prekursora ograničavajući čimbenik.

Kvasci se razlikuju, kako između vrsta tako i unutar njih, u sposobnosti proizvodnje estera. Razlika je uočljiva u omjeru proizvodnje acetatnih i etilnih estera, kao i u ukupnoj koncentraciji estera. Mnoge *ne-Saccharomyces* vrste istaknule su se kao veći proizvođači estera u odnosu na *S. cerevisiae*. Sekvencijalne fermentacije s *L. thermotolerans* povezane su s višim koncentracijama 2-feniletalacetata i etil-laktata, što je razumljivo jer ova vrsta proizvodi mliječnu kiselinu koja esterificira s etanolom (Morata i sur., 2018.). Iako koncentracije pojedinih estera ne prelaze mirisni prag percepcije u vinu, oni mogu biti važni zbog sinergijskog međudjelovanja između različitih estera.

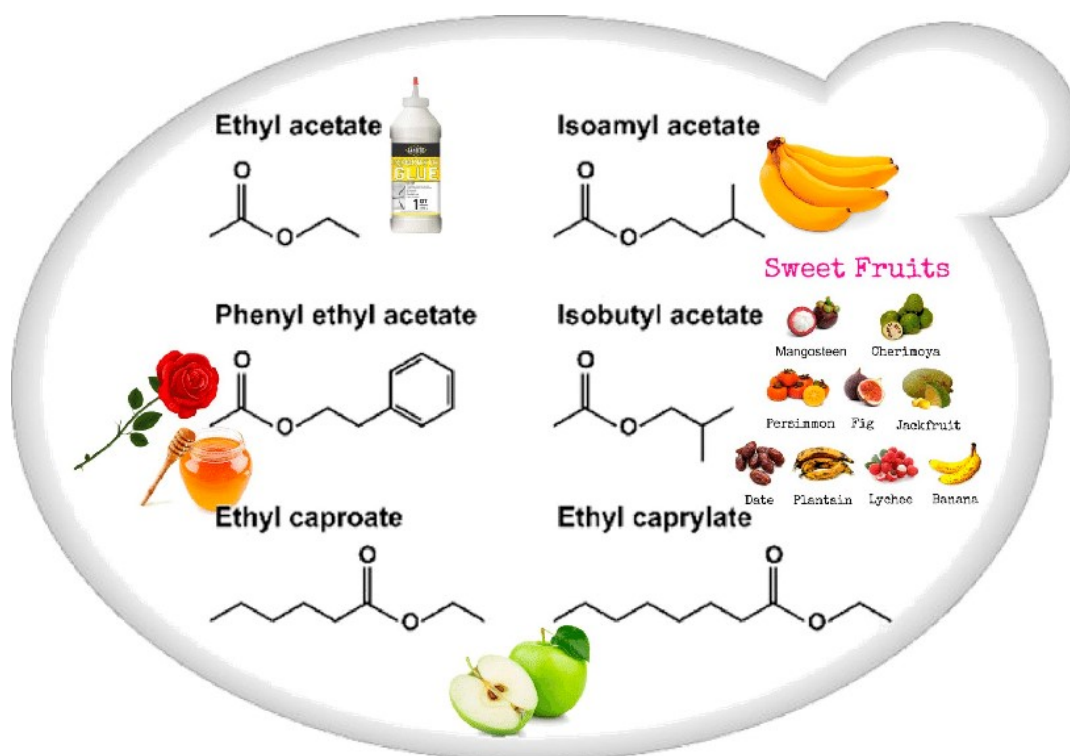
Proizvodnja estera ovisi o hranjivim tvarima prisutnima u moštu i o uvjetima fermentacije, pri čemu su optimalni uvjeti za proizvodnju acetatnih i etil ester razlikuju odražavajući pri tome njihove različite metaboličke načine nastanka (Ugliano, Henschke, 2009.). Neki od važnih čimbenika koji utječu na proizvodnju estera su sadržaj šećera, prisutnost kisika, lipida, bistroća mošta te količina kvascu dostupnog dušika. Zrelost grožđa pri berbi utječe na količinu različitih estera proizvedenih tijekom fermentacije pri čemu se acetatni esteri smanjuju, a etilni rastu s povećanjem zrelosti grožđa (Houtman i sur., 1980.). Dostupnost lipida također ima utjecaj na proizvodnju estera. Dodatak masnih kiselina i smjese triglicerida u fermentacijski medij potiče povećanje intracelularne koncentracije C<sub>8</sub>-C<sub>16</sub> masnih kiselina što rezultira povećanim koncentracijama acetatnih i etilnih estera masnih kiselina (Yunoki i sur., 2007.). Dodavanje ergosterola, glavnog sterola kvasca, u pročišćeni sok od grožđa značajno stimulira sintezu acetatnih estera, posebno 3-metilbutil, 2-feniletal i n-heksil acetata, ali u manjoj mjeri etil acetata. Vjeruje se da ergosterol stimulira stvaranje acetata stimuliranjem sinteze acetil-CoA (Houtman i sur., 1980.). Dostupnost kisika tijekom fermentacije važan je faktor koji utječe na formiranje estera. U slučaju acetatnih estera, prozračivanje fermentacijskog medija potiskuje ekspresiju gena ATF1 i posljedično smanjuje stvaranje acetata (Ugliano, Henschke 2009.). Temperatura utječe na sintezu estera tijekom fermentacije zbog utjecaja na sintezu masnih kiselina. Niža temperatura fermentacije (15°C)

utječe na povećanje sadržaja etilnih estera, dok viša temperatura (28°C) utječe na povećanu sintezu 2-metil acetata, etil-2-metilbutanoata i 2-feniletal acetata (Molina i sur., 2007.). Sadržaj dušika i sastav mošta mogu snažno utjecati na nakupljanje hlapljivih estera tijekom fermentacije. Povećanjem sadržaja dušika u moštu dolazi do povećanja u sadržaju ukupnih i pojedinačnih estera, iako još nije razjašnjena veza između prisutnosti određenih aminokiselina u moštu i stvorenih estera (Ugliano, Henschke, 2009.).

Nakon završenog procesa alkoholne fermentacije dolazi do smanjenja koncentracija estera tijekom dozrijevanja vina jer su podložni hidrolizi i hlapljenju (Herjavec, 2019.). Reakcije hidrolize odvijaju se dok se ne uspostavi kemijska ravnoteža, a njihova brzina ovisi o temperaturi i pH-vrijednosti medija. Brzina hidrolize veća je pri višoj temperaturi i nižoj pH-vrijednosti (Zhang i sur., 2023.). Zabilježeno je da koncentracije estera nastalih na bazi etanola mogu tijekom dozrijevanja opadati, ostati konstantne ili se povećati, a promjene ovise o sadržaju etanola u vinu pri čemu visok sadržaj etanola odgađa hidrolizu estera. Ling i sur. (2019.) navode da tijekom dozrijevanja dolazi do smanjenja koncentracija etilnih estera poput etil heksanoata, oktanoata i dekanata. Esteri s dugim ugljikovodičnim lancima brže će postizati ravnotežu, odnosno hidrolizirati. Di Bella i sur. (2022.) navode da tijekom dozrijevanja dolazi do smanjenja koncentracija izoamil acetata, heksil acetata, cis-3-heksil acetata, izobutil acetata i 2-feniletal acetata te da viša temperatura utječe na povećanu brzinu hidrolize. Ribéreau-Gayon i sur. (2006.) navode da se formiranje estera nastavlja tijekom dozrijevanja vina zbog prisutnosti različitih kiselina u vinu kao i visoke količine etanola. Njihova istraživanja pokazuju da pri normalnim uvjetima dozrijevanja nijedna kiselina ne može postići teorijski predviđenu točku ravnoteže. Ukupna koncentracija estera (nastalih kemijskim ili enzimskim reakcijama) ovisi o kemijskom sastavu i starosti vina.

Etil laktat ester je koji se povezuje s malolaktičnom fermentacijom. Njegova koncentracija može se povećavati tijekom dozrijevanja zbog kemijskih reakcija (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Dietil sukcinat nastaje reakcijom esterifikacije između jantarne kiseline i etanola uz prisutnost dehidrirajućeg reagensa (Herjavec, 2019.). Taj ester daje vinu karakterističnu aromu dozrijevanja te se dozrijevanjem njegova koncentracija povećava.





Slika 5. Neki od estera prisutnih u vinu i njihove mirisne karakteristike  
 Izvor: [https://www.researchgate.net/figure/Schematic-representation-of-the-most-important-wine-esters-ethyl-acetate-glue-like\\_fig2\\_339147260](https://www.researchgate.net/figure/Schematic-representation-of-the-most-important-wine-esters-ethyl-acetate-glue-like_fig2_339147260)

## 2.4.2. Viši alkoholi

Alkoholi s više od dva ugljikova atoma nazivaju se viši alkoholi ili fusel alkoholi (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). S kvantitativnog stajališta najvažnija su grupa hlapljivih spojeva koji nastaju tijekom alkoholne fermentacije. Ti spojevi nastaju kao sporedni produkt metabolizma kvasca te su sastavni dio svih alkoholnih pića. U više alkohole ne ubrajaju se spojevi kao što su glicerol, hlapljivi fenoli, šećerni alkoholi i monoterpenski alkoholi. Kvantitativno najvažniji viši alkoholi su: 1-propanol, 2-metilpropanol (izobutil alkohol), 2-metilbutanol i 3-metilbutanol (izoamil alkohol). Viši alkoholi razgranatog lanca su: 2-metilpropanol (izobutanol), 2-metilbutanol (amilni alkohol) i 3-metilbutanol (izoamilni alkohol). Aromatski viši alkoholi su 2-feniletanol i tirozol (Ugliano, Henschke, 2009.). Općenito imaju blag utjecaj na aromu vina te pridonose „vinskom“ mirisu s izuzetkom 2-feniletanola koji ima karakterističan miris ruže. Koncentracija viših alkohola ispod 300 mg/L smatra se poželjnom te doprinosi kompleksnosti vina, dok više koncentracije mogu imati negativan učinak na kvalitetu (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Koncentracije viših alkohola koje djeluju pozitivno ili negativno na aromu vina ovise o intenzitetu arome i stilu vina.

Viši alkoholi služe kao supstrat za nastanak spojeva jačeg i intenzivnijeg mirisa poput estera i aldehida. Sudjeluju u reakcijama esterifikacije pri čemu dolazi do spajanja s karboksilnim kiselinama, a također mogu sudjelovati u formiranju estera i neenzimatskim

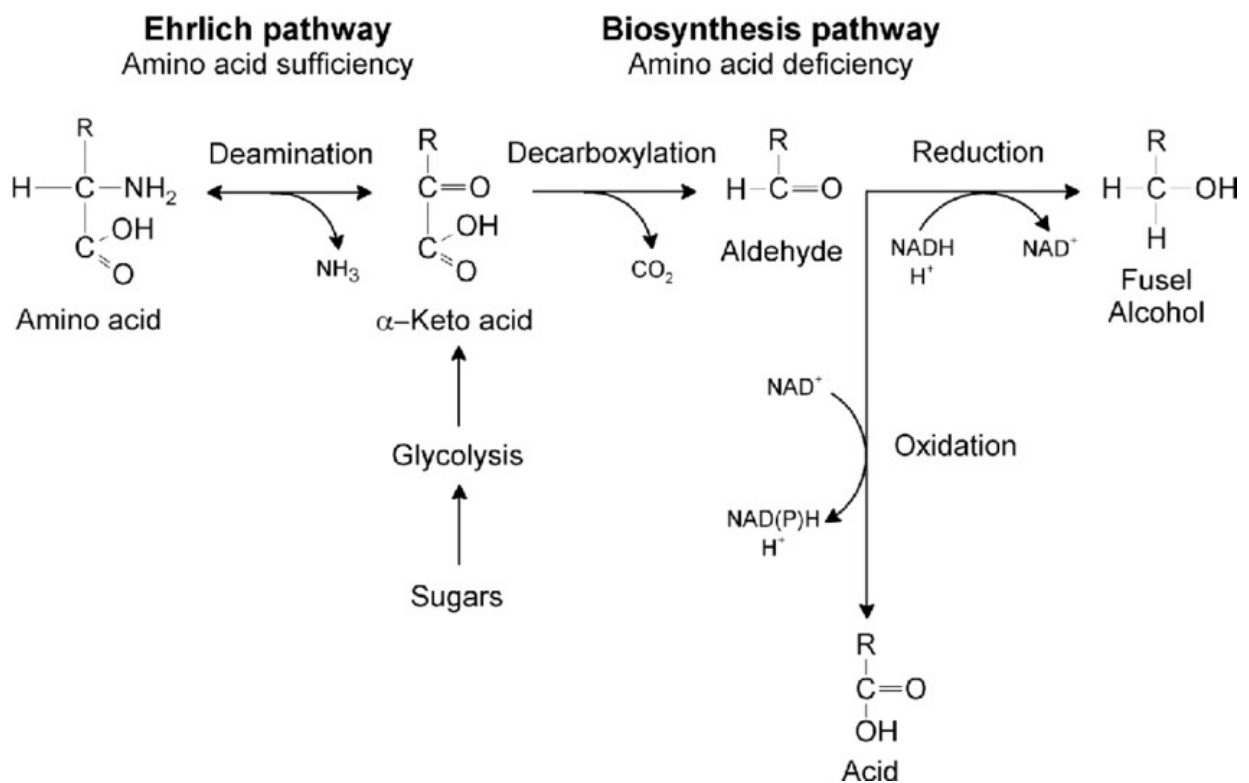
putem tijekom dozrijevanja vina. U procesima oksidacije služe kao supstrat za oksidaciju pri čemu nastaju odgovarajući aldehidi (Waterhouse i sur., 2016.).

Viši alkoholi nastaju dekarboksilacijom i naknadnom redukcijom  $\alpha$ -ketokiselina proizvedenih kao intermedijeri biosinteze i katabolizma aminokiselina. Navedeni put nastanka viših alkohola naziva se Ehrlichovim prema istraživaču koja ga je otkrio i opisao (Ugliano, Henschke, 2009.). Ovim putem aminokiseline su konzumirane od strane kvasaca tijekom njihove rane faze rasta što kasnije rezultira proizvodnjom odgovarajućih viših alkohola tijekom stacionarne faze (Robinson i sur., 2014.). Studije su pokazale da se veliki udio viših alkohola sintetizira iz  $\alpha$ -ketokiselina nastalih glikolizom i namijenjenih za biosintezu aminokiselina (Chen 1978.). Konzumacija strukturno srodnih aminokiselina od strane kvasaca nije u korelaciji s konačnom koncentracijom odgovarajućeg višeg alkohola. Viši alkoholi razgranatog lanca 2-metilpropanol, 2-metilbutanol i 3-metilbutanol sintetiziraju se iz aminokiselina razgranatog lanca valina, leucina i izoleucina. Aromatski alkoholi 2-feniletanol, tirozol i triptofol sintetiziraju se iz fenilalanina, tirozina i triptofana (Ugliano, Henschke, 2009.). Prvi korak u Ehrlichovu putu razgradnje uključuje transaminaciju za stvaranje  $\alpha$ -ketokiselina kataliziranu transferazama aminokiselina. Piruvat dekarboksilaze pretvaraju  $\alpha$ -ketokiseline u njihove odgovarajuće aldehide koji se zatim reduciraju u alkohole uz pomoć enzima alkohol dehidrogenaze. Nedostatak aminokiselina tijekom rasta kvasaca aktivira njihovu sintezu iz  $\alpha$ -ketokiselina, izvedenih iz šećera putem glikolize. Ako nema dovoljno dušika za reakcije transaminacije, višak  $\alpha$ -ketokiselina izlučuje se kao viši alkoholi (biosintetski put). U slučaju dovoljne količine aminokiselina transaminacija aminokiselina može proizvesti višak  $\alpha$ -ketokiselina, od kojih se neke dekarboksiliraju i reduciraju u alkohole (Ehrlichov put) (Ugliano, Henschke, 2009.).

Mnogi čimbenici utječu na stvaranje viših alkohola tijekom fermentacije, uključujući vrstu i soj kvasca, količinu šećera, temperaturu fermentacije, pH, sastav mošta, količinu dostupnog dušika, prozračivanje, sadržaj krutih čestica i vrijeme kontakta s kožicom (Houtman i sur., 1980.). Izbor kvasca ima značajan utjecaj na sadržaj viših alkohola zbog velike varijabilnosti među *Saccharomyces* sojevima, pri čemu *Saccharomyces cerevisiae* općenito proizvodi manje koncentracije viših alkohola od krotolerantnih sojeva *Saccharomyces bayanus/uvorum*. *Ne-Saccharomyces* vrsta *Metschnikowia pulcherrima* istaknule su se kao veći proizvođač 2-feniletanola (Clemente-Jimenez i sur., 2004.). U slučaju nedostatka dušika višak ketokiselina ne može se pretvoriti u aminokiseline te se stoga izlučuju kao viši alkoholi. Suprotno tomu, kod visokih početnih koncentracija dušika u moštu povećana dostupnost dušika uzrokuje smanjenje u proizvodnji viših alkohola jer se većina proizvedenih ketokiselina izravno pretvara u odgovarajuće aminokiseline. Prozračivanje i viša temperatura fermentacije mogu stimulirati proizvodnju viših alkohola, kao i prisutnost veće količine inertnih čestica u mutnijim moštovima. Crna vina, proizvedena fermentacijom u kombinaciji s maceracijom, obično sadrže veće koncentracije viših alkohola zbog izdvajanja aminokiselina iz krute frakcije masulja (Ugliano, Henschke, 2009.).

Nakon fermentacije viši alkoholi pokazali su se stabilnim tijekom skladištenja te nije uočena značajna promjena u koncentracijama izoamilnog, izobutilnog alkohola i 2-

feniletanola (Waterhouse i sur., 2016.). Zhang i sur. (2023.) navode da se viši alkoholi ne stvaraju tijekom dozrijevanja vina te da se njihove koncentracije smanjuju zbog reakcija esterifikacije i oksidacije. Di Bella i sur. (2022.) navode da sadržaj viših alkohola (kao što su izoamil alkohol, izobutanol i 2-feniletanol) ostaje isti kada se vina čuvaju u bocama na 5 – 18 °C godinu dana nakon fermentacije. Vazquez-Pateiro i sur. (2022.) u svojoj su studiji pokazali da je sadržaj heksenola, *cis*-3-heksen-1-ola i izobutanola stabilan tijekom dozrijevanja vina u bocama, dok sadržaj 1,3-butandiola postupno opada.



Slika 6. Prikaz nastanka viših alkohola u vinu

Izvor: [https://www.researchgate.net/figure/Formation-of-higher-alcohols-from-sugar-and-amino-acids-via-Ehrlich-pathway-13\\_fig1\\_270293015](https://www.researchgate.net/figure/Formation-of-higher-alcohols-from-sugar-and-amino-acids-via-Ehrlich-pathway-13_fig1_270293015)

### 2.4.3. Hlapljive masne kiseline

Vino sadrži mješavinu ravnolančanih masnih kiselina koje se obično dijele na kiseline s kratkim lancem ( $C_2$ - $C_4$ ), srednjim lancem ( $C_6$ - $C_{10}$ ) i dugim lancem ( $C_{12}$ - $C_{18}$ ) te skupinu masnih kiselina razgranatog lanca koja uključuje 2-metilpropanonsku, 2-metilbutansku i 3-metilbutansku kiselinu (Ugliano, Henschke, 2009.). Većina masnih kiselina koje proizvodi kvasac dugog su lanca (>12 ugljika), poput palmitinske ( $C_{16}$ ) i stearinske ( $C_{18}$ ) kiseline. Međutim te su kiseline nehlapljive i prevelike da bi doprinijele aromi vina (Robinson i sur., 2014.). Kratkolančana octena kiselina ( $C_2$ ) čini više od 90% hlapljivih masnih kiselina u vinu i nastaje kao metabolički intermedijer u sintezi acetyl-CoA iz pirogroždane kiseline. Koncentracije u kojima je prisutna variraju u širokom rasponu od 0,2 do 2,0 g/L. Suha bijela vina obično imaju najniže koncentracije, dok slatka bijela vina napravljena od grožđa zaraženog plemenitom plijesni obično imaju najviše koncentracije. Prag percepcije octene kiseline ovisi o vrsti i stilu vina te se kreće u rasponu od 0,4 do 1,1 g/L. Kako duljina masnog lanca raste, hlapljivost se smanjuje, a miris mijenja od kiselog do užeglog (Ugliano, Henschke 2009.).

Hlapljive masne kiseline mogu imati pozitivne i negativne učinke na miris i okus, ovisno o koncentraciji, vrsti i stilu vina. Kratkolančane masne kiseline koje potencijalno doprinose aromi vina uključuju izobutansku i izovalerijansku kiselinu te ravnolančanu propansku i butansku kiselinu. Izobutanska i izovalerijanska kiselina zabilježene su kao markeri kvarenja uzrokovanog kvascem *Brettanomyces bruxellensis* te se smatra da su sposobne maskirati miris na „Brett“ koji se pripisuje 4-etil fenolu i 4-etil gvajakolu. Masne kiseline srednjeg lanca, heksanska ( $C_6$ ), oktanska ( $C_8$ ), i dekanska kiselina ( $C_{10}$ ), također pridonose aromi vina, a njihove koncentracije ovise o anaerobnim uvjetima rasta, sastavu i mutnoći mošta, sorti grožđa, soju kvasca i temperaturi fermentacije (Robinson i sur., 2014.). Srednjolančane masne kiseline povezane su sa zaustavljenim i usporenim fermentacijama budući da imaju inhibitoran učinak na *S. cerevisiae* i neke bakterije. Inhibicijski učinak obično se javlja u uvjetima niskog pH, niske temperature i visoke koncentracije etanola.

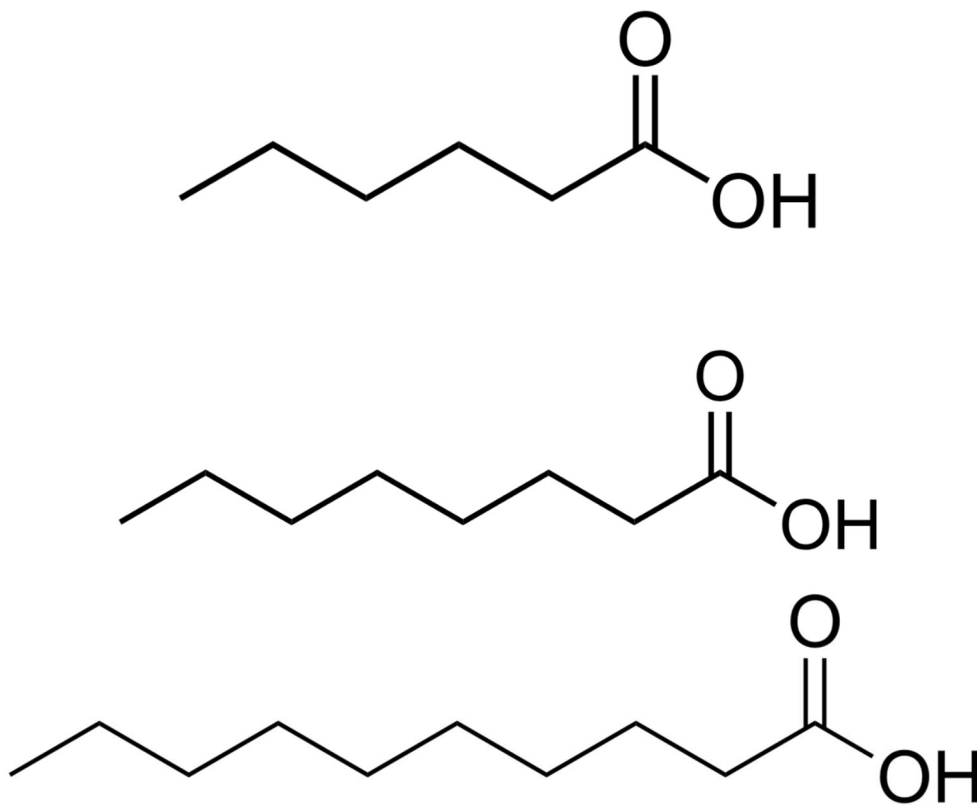
Nezasićene dugolančane masne kiseline ( $C_{18}$ ,  $C_{20}$ ) srodne su sterolima. Smatraju se aktivatorima fermentacije u anaerobnim uvjetima. Najvažnije su od njih oleinska ( $C_{18}$  s jednom dvostrukom vezom) i linolna kiselina ( $C_{18}$  s dvije dvostruke veze). Potječu iz voštane kutikule kože grožđa (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.).

Stvaranje octene kiseline ispunjava nekoliko metaboličkih uloga uključujući osiguravanje prekursora za sintezu acetyl-CoA. Acetat nastaje djelovanjem aldehyd dehidrogenaza iz acetaldehida, koji se dobiva dekarboksilacijom piruvata. Ravnolančane masne kiseline ( $C_4$ - $C_{12}$ ) nusprodukti su metabolizma zasićenih masnih kiselina. Malonil-CoA sintetizira se iz acetyl-CoA uz pomoć acetyl-CoA karboksilaze. Naknadne reakcije katalizira kompleks enzima sintaze, čime se povećava duljina lanca sekvencijalno za dvije C jedinice.  $C_{16}$  i  $C_{18}$  masne kiseline prevladavajući su konačni proizvod koji je ugrađen u fosfolipide, okosnice staničnih membrana. Faktori ograničavanja rasta koji inhibiraju acetyl-CoA karboksilaze, ključni enzim u regulaciji sinteze masnih kiselina, uzrokuju rano oslobađanje masne kiseline iz kompleksa sinteze masnih kiselina. To rezultira stvaranjem masnih kiselina kratkog i srednjeg

lanca. Masne kiseline razgranatog lanca, kao što su 2-metilpropanska, 2-metilbutanska i 3-metilbutanske kiseline, nisu proizvodi sintetskog puta masnih kiselina. One su umjesto toga nastale oksidacijom aldehida nastalih iz  $\alpha$ -ketokiselina tijekom metabolizma aminokiselina (Ugliano, Henschke, 2009.).

Sojevi *Saccharomyces cerevisiae* međusobno se razlikuju u proizvodnji octene kiseline, pa je selekcija sojeva koji su se istaknuli kao mali proizvođači octene kiseline najvažniji čimbenik za kontrolu njezina sadržaja u vinima. Proizvodnja octene kiseline među *ne-Saccharomyces* kvascima jako varira. Kao najveći proizvođači izdvojeni su neki sojevi iz roda *Brettanomyces* i vrste *Zygosaccharomyces bailii*.

Vázquez-Pateiro i sur. (2022.) navode da se koncentracije masnih kiselina, uključujući heksansku, oktansku i dekansku kiselinu, smanjuju tijekom dozrijevanja vina u boci.



Slika 7. Strukturne formule heksanske, oktanske i dekanske kiseline

Izvor: [https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_CB5227624.htm](https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB5227624.htm)

## 2.5. Karbonilni spojevi

Kvasci proizvode razne karbonilne spojeve iz metabolizma šećera, uključujući aldehide, ketone i ketokiseline. Aldehidi i ketoni ubrajaju se u karbonilne spojeve jer posjeduju karbonilnu (C=O) skupinu, s tim da je u molekuli aldehida karbonilna skupina na krajnjem atomu ugljika, dok je kod ketona na jednom od unutrašnjih atoma ugljika u molekuli.

### 2.5.1. Aldehidi

Acetaldehid (etanal) kvantitativno je najzastupljeniji i najvažniji aldehid u vinu. Brojni načini na koje može biti proizveden i njegova visoka reaktivnost (CHO radikal ima široke kemijske afinitete), kao i njegovo brzo spajanje sa sumpornim dioksidom na niskim temperaturama, čine ga važnim sastojkom vina (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Acetaldehid nastaje dekarboksilacijom pirogroždane kiseline i najvećim dijelom redukcijom prelazi u etanol. Ova reakcija osigurava održavanje redoks ravnoteže u stanici putem oksidacije NADH u NAD<sup>+</sup>, što je neophodno za metabolizam šećera (Ugliano, Henschke, 2009.). Acetaldehid također oksidira u octenu kiselinu pomoću aldehid dehidrogenaze. Acetaldehid može nastati i kao rezultat oksidacije fenolnih spojeva. Vodikov peroksid, produkt oksidacije fenola, oksidira etanol u acetaldehid. Čisti acetaldehid bezbojna je tekućina, topljiv je u vodi i alkoholu te izuzetno otrovan. Slobodni acetaldehid daje vinu miris i okus na oksidirano, izvjetreno i orašasto, a senzorno se može osjetiti već u količini od 2 do 5 mg/L (Herjavec, 2018.). Mlada vina sadrže prosječno 20-30 mg/L acetaldehida, a stara vina 30-40 mg/L. Veliku količinu slobodnog acetaldehida sadrže „Sherry“ vina u kojima kvasci oksidiraju etanol u acetaldehid (Herjavec, 2018.). U pravilno sulfitiranom vinu najveći dio acetaldehida nalazi se u kompleksu s sulfitima (CH<sub>3</sub>-CHOH-SO<sub>3</sub>H), koji je stabilan u kiselom mediju. Količina acetaldehida stvorena u fermentaciji u direktnoj je vezi s sulfitiranjem mošta, pri čemu jako sulfitiranje grožđa utječe na povećanu proizvodnju acetaldehida. Acetaldehid je važan spoj koji sudjeluje u kemijskim reakcijama kopolimerizacije između antocijana i flavanola tijekom odležavanja crnog vina pri čemu dolazi do stabilizacije boje i smanjenja sadržaja acetaldehida (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.).

Grožđe sadrži C<sub>6</sub> aldehide (heksanal, (E)-2-heksenal, (Z)-3-heksenal i (Z)-2-nonenal) koji su odgovorni za zelenu, zeljastu i ponekad gorku aromu vina. Oni su uglavnom posljedica enzimskog cijepanja oksidirane linoleinske i linolenske kiseline tijekom muljanja grožđa prije fermentacije (Panighel, Flamini 2014.).

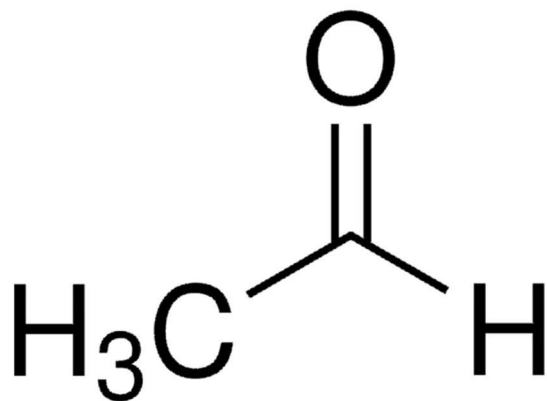
U vinu su prisutni i aromatski aldehidi među kojima se ističe vanilin. Njegov nastanak vezan je najvećim dijelom uz dozrijevanje u drvenim bačvama, a odlikuje se karakterističnim mirisom vanilije (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.).

Derivati furana, uključujući furfural i 5-metilfurfural, nastaju pirolizom ugljikohidrata tijekom tostiranja drvenih bačava ili Malliardovim reakcijama tijekom zagrijavanja grožđa i vina. Furfural nastao pirolizom ugljikohidrata u drvenim bačvama ekstrahira se u vino tijekom dozrijevanja. Furfural pridonosi prepečenim i karamelnim aromama u vinu te povećava

percepciju intenziteta drvenih aroma bez obzira na njegovu prisutnost u niskim koncentracijama (Robinson i sur., 2014.). Tijekom oksidativnog dozrijevanja dolazi do smanjenja koncentracije furfurala pod utjecajem razgradnje ili reagiranja s drugim spojevima poput kinona. Tijekom dozrijevanja vina u boci dolazi do razgradnje furfurala jer reagira s drugim komponentama vina pridonoseći stvaranju ksantilijum kationa ili aromatskih tiola (Tominga i sur., 2003.).

Nekoliko drugih aldehida, osim što su povezani s oksidacijom vina, mogu utjecati na ukupni aromatski profil vina ovisno o tome jesu li prisutni u koncentraciji ispod ili iznad praga percepcije. Aldehidi poput oktanala, dekanala ili nonenala, koji u umjerenim koncentracijama mogu doprinijeti kompleksnosti, u visokim koncentracijama mogu stvoriti neugodne mirise. Fenilacetaldehid, koji nastaje Steckerovim reakcijama razgradnje fenilalanina, u niskim koncentracijama doprinosi slatkim, cvjetnim aromama, dok u većim koncentracijama doprinosi aromi mahovine koja je češća u jako oksidiranim vinima (Echave i sur., 2021.).

Steckerove reakcije razgradnje stvaraju posebne aldehide ili amino ketone. Fenolni spojevi mogu biti oksidirani u *o*-kinone, koji su sposobni razgraditi aminokiseline, što dovodi do stvaranja Steckrovih aldehida niskog praga percepcije. Oksidacijom polifenolnih spojeva (katehin, epikatehin, kafeinska kiselina) od strane *o*-kinona u prisutnosti iona metala može doći i do degradacije metionina i fenilalanina u odgovarajuće aldehide (metional i fenilacetaldehid) (Monforte i sur., 2018.). Metional i fenilacetaldehid također mogu nastati oksidacijom odgovarajućih alkohola, koji su izvedeni iz aminokiselina metionina i fenilalanina (Di Zhang i sur., 2023.).



Slika 8. Strukturna formula acetaldehida

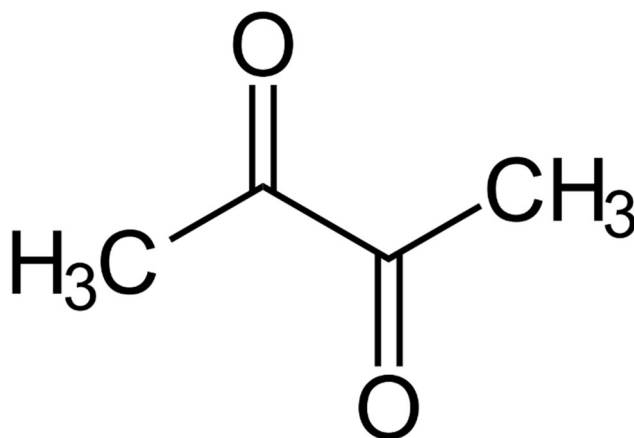
Izvor: <https://www.sigmaaldrich.com/HR/en/product/aldrich/w200379>

## 2.5.2. Ketoni

U vinu se ne nalazi mnogo hlapljivih ketona, ali oni koji su prisutni u grožđu većinom su prisutni i u vinu te se ne mijenjaju tijekom fermentacije. Primjeri su takvih ketona  $\beta$ -damaskenon,  $\alpha$ -ionon i  $\beta$ -ionon. Ti spojevi opisani su u poglavlju o norisoprenoidima. Još jedan karbonilni spoj (keton) od velike važnosti za cjelokupni aromatski profil vina jest diacetil (butan-2,3-dion). Diacetil ima karakterističan miris na maslac i orašasto te u umjerenim koncentracijama (oko 5 mg/L) pozitivno utječe na kvalitetu vina, dok u previsokim koncentracijama može doprinijeti jako izraženim aromama mliječnog i masnog. Senzorni prag percepcije iznosi od 0,2 do 2,9 mg/L, ovisno o tipu vina. Iako kvasci mogu sintetizirati diacetil u malim količinama (0,2-0,3 mg/L), najveća koncentracija potječe iz metaboličke aktivnosti mliječno-kiselih bakterija tijekom malolaktične fermentacije (Swiegers i sur., 2005.). Veće koncentracije diacetila sadrže crna vina u kojima se češće provodi postupak malolaktične fermentacije (Herjavec, 2019.). Acetoin (3-hidroksibutan-2-on) je neutralna molekula s četiri ugljikova atoma te karakterističnim mirisom na maslac. Nastaje djelomičnom redukcijom diacetla, a sam se reducira u 2,3-butandiol. Acetoin je obično prisutan u koncentracijama (<80 mg/L) mnogo nižim od senzornog praga, koji iznosi 150 mg/L (Ferreira, Cacho 2009.).

Diacetil proizvode mliječno-kisele bakterije kao intermedijar u metabolizmu limunske kiseline. U ovom putu pirogroždana kiselina se reduktivno dekarboksilira u diacetil preko  $\alpha$ -acetolaktata. Formiranje  $\alpha$ -acetolaktata ovisi o dostupnosti valina i treonina. Kada je količina asimilabilnog dušika niska, aktivira se sinteza valina, što dovodi do stvaranja  $\alpha$ -acetolaktata, koji se zatim može transformirati u diacetil putem spontane oksidativne dekarboksilacije. Treonin utječe na smanjenje unosa valina te u uvjetima dovoljne dostupnosti dušika dolazi do smanjenja sinteze diacetila (Ugliano, Henschke, 2009.).

Konačna koncentracija diacetila ovisi o mogućnosti njegove postupne redukcije u acetoin i 2,3-butandiol. Oba koraka ovisna su o dostupnosti NADH.



Slika 9. Strukturna formula butan-2,3-diona (diacetila)  
Izvor: <https://www.sigmaaldrich.com/HR/en/product/aldrich/b85307>



## 2.6. Acetali

Acetali nastaju reakcijom između alkohola i aldehida. Reakcija uključuje dvije molekule alkohola i jednu molekulu aldehida (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Nastaju u vinu tijekom razdoblja dozrijevanja, a više temperature i niži pH rezultiraju bržim formiranjem acetala (Herjavec, 2019.). Dosad je u vinu pronađeno 20-ak spojeva koji pripadaju acetalima, a najvažniji je od njih dietoksietan, koji nastaje reakcijom između acetaldehida (etanal) i etilnog alkohola. Reaktivnost acetaldehida ovisi o alkoholnoj jakosti vina pri čemu je reaktivnost veća u slučaju više alkoholne jakosti. U mirnim vinima koncentracije su slobodnog acetaldehida niske te u tom slučaju acetali gotovo nisu niti prisutni u vinu. Više koncentracije mogu sadržavati specijalna vina tipa „Sherry“ zbog prisutnosti slobodnog acetaldehida koji može reagirati s alkoholom (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.).

Acetali imaju ugodan biljni miris koji može doprinijeti aromatskoj kompleksnosti određenih vina. Dietoksietan je opisan kao spoj ugodnog, voćnog mirisa.

## 2.7. Laktoni

Laktoni mogu biti prisutni u grožđu, nastati tijekom alkoholne fermentacije i dozrijevanja vina ili biti ekstrahirani iz drvenih bačava. Nastaju unutarnjom esterifikacijom između karboksilne skupine i hidroksilne skupine iste molekule pri čemu kao krajnji produkt nastaje ciklički ester. Hlapljivi laktoni koji nastaju tijekom alkoholne fermentacije mogu doprinijeti aromi vina.  $\gamma$ -butirolakton prisutan je u vinu u koncentraciji od nekoliko mg/L. Taj spoj nastaje laktonizacijom  $\gamma$ -hidroksimaslačne kiseline, nestabilne molekule nastale deaminacijom i dekarboksilacijom glutaminske kiseline (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.).

Sotolon (3-hidroksi-4,5-dimetilfuranon) može biti formiran na više načina. Zabilježeno je da infekcija grožđa plemenitom plijesni (*Botrytis cinerea*) može proizvesti sotolon te doprinijeti mirisu na prepečeno i orašasto u vinima proizvedenim od takvog grožđa (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Sotolon također nastaje reakcijama kondenzacije između  $\alpha$ -ketobutnske kiseline i acetaldehida te je često prisutan u koncentraciji iznad senzornog praga percepcije (10  $\mu$ g/L) (Ferreira, Cacho 2009.). Robinson i sur. (2014.) navode da sotolon može nastati oksidativnom razgradnjom askorbinske kiseline koja se dodaje kao antioksidacijsko sredstvo nekim vinima.

Tijekom dozrijevanja vina u drvenim bačvama laktoni mogu biti ekstrahirani u vino te doprinijeti mirisu na kokos i drvenasto. Najpoznatiji su *cis* i *trans* izomeri 3-metil- $\gamma$ -oktalaktona, poznatiji kao „hrastov lakton“ ili „whisky lakton“ (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.).

Smith i sur. (2015.) otkrili su prisutnost  $\gamma$ -heksalaktona i  $\gamma$ -dekalaktona u svim zagrijavanim (slatkim i suhim) vinima „Madeira“. Di Zhang i sur. (2023.) navode da su studije pokazale stabilnost laktona tijekom dozrijevanja vina u bocama, no da su svakako potrebna dodatna istraživanja.

## 2.8. Hlapljivi fenoli

Hlapljivi fenoli predstavljaju skupinu spojeva koji zbog svojih mirisnih svojstva mogu imati velik utjecaj na senzorne karakteristike vina. Hlapljivi fenoli u vinu mogu potjecati iz dvaju različitih izvora. Njihov nastanak može biti enzimatskim putem iz prekusora prisutnih u vinu i oslobađanjem iz drveta tijekom dozrijevanja vina. Među hlapljivim fenolima 4-vinil i 4-etil fenol imaju najvažniju ulogu zbog izrazito neugodnog mirisa (Soledad Perez-Coello, Consuelo Diaz-Matoto, 2009.).

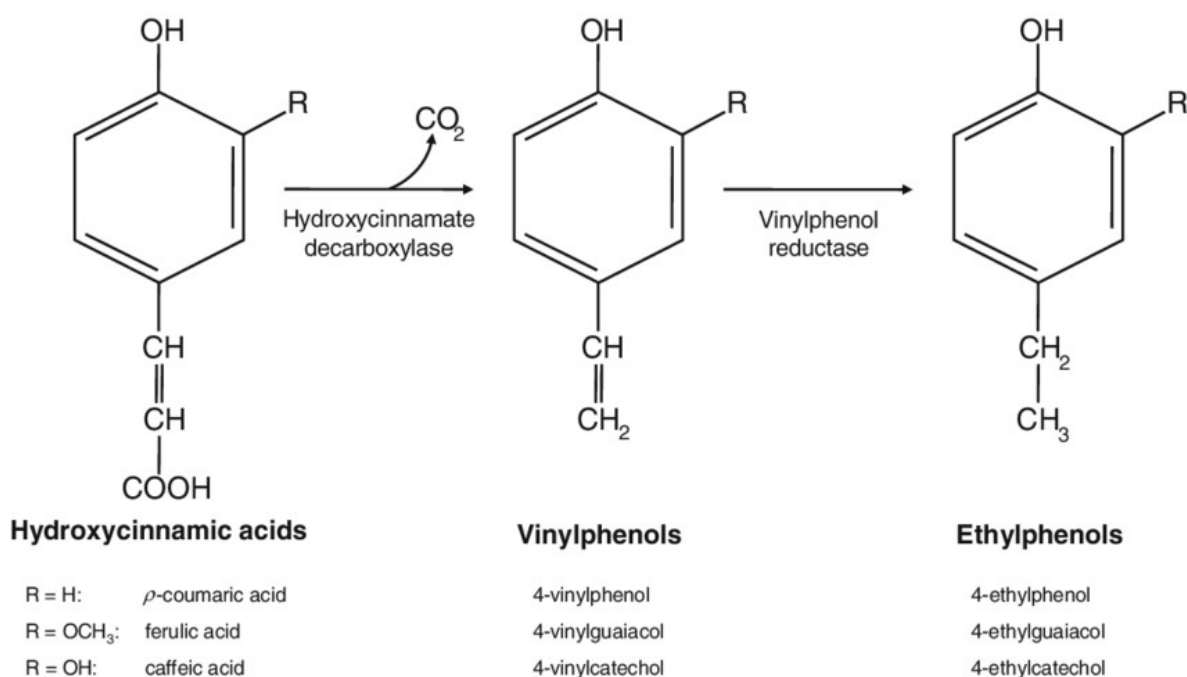
Prekusori hlapljivih fenola u vinu su fenolne kiseline, ponajprije hidroksicimetne kiseline koje se u grožđu uglavnom nalaze u obliku estera s vinskom kiselinom. Ti su esteri izrazito podložni oksidaciji te su odgovorni za posmeđivanje bijelih vina. U bobicama se većinom nalaze u čvrstim dijelovima te njihov sadržaj opada s dozrijevanjem grožđa. Sorte se međusobno razlikuju prema sadržaju fenolnih kiselina (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Samo slobodni oblici kiselina mogu biti prekusori nastanka hlapljivih fenola, no u vinu može doći do hidrolize esterificiranih oblika hidroksicimetnih kiselina i oslobađanja slobodnih oblika koji doprinose nastanku hlapljivih fenola. Kumarinska je kiselina prekursor nastanka 4-vinil fenola i 4-etil fenola, a ferulinska kiselina 4-vinil gvajakola i 4-etil gvajakola (Baumes, 2009.). Bijela vina sadrže različite koncentracije vinil fenola, ali ne sadrže etil fenole, dok su u crnim vinima uobičajeno prisutne male koncentracije vinil fenola, a koncentracije etil fenola mogu varirati u širem rasponu vrijednosti. Vinil fenoli i etil fenoli odgovorni su za određene olfaktorne nedostatke u vinu. 4-vinil fenol povezuje se s medicinskim mirisom, a 4-etil fenol s mirisom štale i znoja. 4-vinil gvajakol i 4-etil gvajakol imaju manje neugodan miris koji podsjeća na dim i začinsko te mogu u umjerenim koncentracijama doprinijeti kompleksnosti vina (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.).

Vinil fenoli u bijelom vinu nastaju enzimatskom dekarboksilacijom hidroksicimetnih kiselina (kumarinske i ferulinske) od strane kvasaca. Enzim cinamat dekarboksilaza kvasca *Saccharomyces cerevisiae* visoko je specifičan i zbog toga samo kumarinska i ferulinska kiselina mogu biti dekarboksilirane od strane kvasca. Sadržaj vinil fenola u bijelim vinima ovisi o koncentraciji prekusora (fenolnih kiselina) u moštu i aktivnosti cinamat dekarboksilaze određenog soja kvasca. Koncentracija hidroksicimetnih kiselina u moštu ovisi o sorti grožđa, zrelosti, maceraciji, prisutnosti kisika i korištenju pektolitičkih enzima. Uzrok niske koncentracija vinil fenola u crvenim je vinima inhibitorni učinak određenih fenola na enzim cinamat dekarboksilazu kvasca *Saccharomyces cerevisiae*. Tijekom dozrijevanja bijelog vina dolazi do smanjenja koncentracija vinil fenola zbog reakcija polimerizacije kojima nastaju bezmirisni polivinil fenoli (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.).

Stvaranje 4-etil fenola najčešće je povezano s razdobljem dozrijevanja crnih vina nakon alkoholne fermentacije. Pojava etil fenola učestalija je u vinima koja dozrijevaju u rabljenim bačvama, iako do razvoja može doći i u novim bačvama i ostalim tankovima. Prisutnost 4-etil fenola u nižim koncentracijama može prikriti voćne arome vina, dok veće koncentracije rezultiraju izrazito neugodnim aromama koje se opisuju kao miris štale, konja ili znoja. Uzročnik nastanka 4-etil fenola su kvasci iz roda *Brettanomyces/Dekkera* od kojih je

najzastupljenija vrsta *Brettanomyces bruxellensis*. Mehanizam nastanka 4-etil fenola uključuje sekvencionalnu aktivnost dvaju enzima. Prvi je od njih cinamat dekarboksilaza koji transformira hidroksicimetne kiseline u vinil fenole, a drugi vinil fenol reduktaza koji reducira vinil fenole u etil fenole. Enzim vinil fenol reduktaza nije prisutan u kvascu *Saccharomyces cerevisiae*, što objašnjava zašto ovaj kvasac nije u mogućnosti stvoriti velike količine hlapljivih fenola. Neke vrste mliječnih bakterija također imaju mogućnost stvaranja etil fenola, no u mnogo manjoj mjeri u odnosu na kvasac *Brettanomyces/Dekkera*. Taj rod kvasaca, osim stvaranja 4-etil fenola i 4-vinil gvajakola, može formirati i 4-etil siringol iz sinapinske kiseline (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Općenito hlapljivi fenoli nemaju značajnu ulogu u aromi većine vina osim u slučaju povišenih koncentracija kada je njihov utjecaj negativan.

Osnovni sastav drva obuhvaća celulozu, hemicelulozu i lignin koji su netopljivi, ali neki njihovi monomeri mogu se djelomično ekstrahirati u hidroalkoholnim otopinama poput vina. Preostale komponente drva čine frakciju koja se može ekstrahirati s različitim otapalima te uglavnom sadrži hlapljive i nehlapljive kiseline, šećere, steroide, tanine, hlapljive fenole, terpene i laktone. Gvajakol i njegovi derivati, zajedno s eugenolom i izoeugenolom, glavni su hlapljivi fenoli koji imaju senzorni učinak na vina dozrijevana u drvenim bačvama. Gvajakol doprinosi mirisu na dim i prepečeno, a eugenol mirisu na začine, klinčić i drvo. Ti spojevi u vinu potječu iz drvenih bačava iz kojih se ekstrahiraju tijekom vremena ovisno o njihovoj topljivosti. Glavni fenolni aldehidi, vanilin i siringaldehid i njihovi derivati (koniferilaldehid, sinapaldehid i drugi) potječu od fragmenata lignina i nastaju reakcijama hidrolize, pirolize i oksidacije. Vanilin ima značajan utjecaj na aromu vina te pridonosi karakterističnom mirisu vanilije (Soledad Perez-Coello, Consuelo Diaz-Matoto, 2009.).



Slika 10. Prikaz nastanka hlapljivih fenola

Izvor: [https://www.researchgate.net/figure/The-formation-of-volatile-phenols-from-their-hydroxycinnamic-acids-adapted-from\\_fig4\\_225859608](https://www.researchgate.net/figure/The-formation-of-volatile-phenols-from-their-hydroxycinnamic-acids-adapted-from_fig4_225859608)

### 3. Materijali i metode

#### 3.1. Uzorci vina

Za potrebe izrade ovog rada korištena su vina 'Graševina' Vinarije Galić iz Kutjeva (ZOI Slavonija, Vinogorje Kutjevo) i to deset boca vina različitih godina berbe (dvije boce od svake berbe: 2018., 2019., 2020., 2021., 2022.). Pet boca korišteno je za analizu hlapljivih spojeva, dok je preostalih pet boca korišteno za osnovnu fizikalno-kemijsku i senzornu analizu vina.



Slika 11. Uzorci vina

#### 3.2. Osnovna analiza vina

Sve fizikalno-kemijske analize obavljene su u Laboratoriju za grožđe, mošt i vino Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo Agronomskog fakulteta u Zagrebu.

Za osnovne analize vina korišten je uređaj *Anton Paar Lyza 5000 Wine Analyzer* na bazi FTIR spektrometrije. Uzorci vina prije mjerenja se filtriraju kroz naborani filter papir radi odstranjivanja čestica onečišćenja i CO<sub>2</sub>. Korišteni uređaj mjeri alkoholnu jakost (vol %), pH, ukupnu kiselost (g/L vinske kiseline), hlapivu kiselost (g/L octene kiseline), smjesu glukoze i fruktoze te reducirajućih šećera (g/L). Uređaj određuje i ekstrakt u vinu (g/L) računskim putem preko Tabarieove formule iz podataka za alkoholnu jakost i gustoću. Ekstrakt bez šećera dobiva se oduzimanjem vrijednosti ukupnog šećera (glukoza + fruktoza) od vrijednosti ukupnog ekstrakta.

Određivanje slobodnog sumporova dioksida (mg/L) u uzorcima vinima provedeno je metodom po Paulu. Metoda se temelji na oslobađanju sumporova dioksida iz zakiseljenog uzorka vina (dodatkom 25 %-tne ortofosforne kiseline) u struji zraka te njegovim vezanjem na vodik peroksid pri čemu nastaje sumporna kiselina. Kao indikator koristi se mješavina metilen crvenog i metilen plavog te se titrira sa 0,01 M NaOH do pojave maslinasto zelene boje. Slobodni SO<sub>2</sub> dobije se množenjem utroška NaOH s 32.

Vežani SO<sub>2</sub> (mg/L) određuje se iz uzorka vina koje je nakon određivanja slobodnog SO<sub>2</sub> ostalo u tikvici za kuhanje te se uz ponovno dodavanje indikatora zagrijava pod malim plamenom uz lagano vrenje točno 10 minuta. Množenjem utrošenog 0,01 M NaOH s 32 dobije se vežani SO<sub>2</sub>. SO<sub>2</sub> ukupni (mg/L) dobije se zbrajanjem vrijednosti slobodnog i vežanog SO<sub>2</sub>.



Slika 12. Uređaj Anton Paar Lyza 5000 Wine

### 3.3. Određivanje hlapljivih aromatskih spojeva

Razvoj modernih instrumentalnih tehnika, poput vežanog sustava plinska kromatografija-masena spektrometrija, omogućio je olakšano identificiranje i kvantificiranje različitih aromatskih spojeva prisutnih u grožđu, moštu i vinu, ali i u ostalim prehrambenim proizvodima. Općenito, GC-MS kombinacija je dviju analitičkih tehnika koje omogućuju identificiranje pojedinačnih spojeva u smjesi te njihovo kvantificiranje. Plinska kromatografija učinkovita je metoda razdvajanja i analize organskih spojeva koja se koristi razlikom koeficijenta distribucije različitih spojeva u mobilnoj fazi (plin nosač) i stacionarnoj fazi na određenoj temperaturi kako bi različiti spojevi istjecali iz kolone sukcesivno prema vremenu. Kako bi analiza bila uspješna, komponente moraju biti hlapljive i termički stabilne da se ne razgrade tijekom analize. Masena spektrometrija pretvara isparene molekule uzorka u nabijene ione u izvoru iona visokog vakuuma, koji se ioniziraju, induciraju i fokusiraju u analizator mase, gdje se odvajaju omjerom mase i naboja pod djelovanjem električnog ili magnetskog polja i u konačnici detektiraju ionskim detektorom. Prije same kromatografske analize nužno je provesti adekvatnu pripremu uzorka, odnosno ekstrakciju spojeva arome.

Analiza hlapljivih spojeva vina provedena je primjenom vežanog sustava plinske kromatografije (Thermo Scientific Trace 1300) – spektrometar masa (Thermo Scientific ISQ

7000) uz prethodnu izolaciju analita mikroekstrakcijom na čvrstoj fazi u izvedbi klina (engl. *Solid Phase Microextraction Arrow*) pomoću automatiziranog sustava za pripravu uzoraka. Kao čvrsta faza korišten je sustav CAR-PDMS-DVB. U posudicu za uzorke dodano je 5 mL vina i 2,5 g NaCl. Prije same adsorpcije na čvrstu fazu, uzorak je uravnotežen pri 55 °C u trajanju 10 min. Adsorpcija analita provedena je pri 55 °C u trajanju 60 min. Desorpcija je provedena u injektoru tekućinskog kromatografa pri 250 °C u trajanju 7 min. Kromatografska analiza provedena je pomoću TR-Wax kolone (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm) uz temperaturni program u rasponu temperatura od 40 do 210 °C. Snimanje spektara masa provedeno je praćenjem struje svih iona u rasponu od 20 do 500 m/z dok je energija elektrona bila 70 eV. Identifikacija je provedena pomoću usporedbe vremena zadržavanja, retencijskih indeksa te usporedbom spektara masa s onima u NIST 17 i Wiley 12 bazi podataka.



Slika 13. Uređaji plinska kromatografija i spektrometar masa korišteni za analizu hlapljivih aromatskih spojeva

### 3.4. Senzorna analiza vina

Senzorna ocjena vina provedena je na Zavodu za vinogradarstvo i vinarstvo Agronomskog fakulteta u Zagrebu od strane 11 ocjenjivača (10 studenata Diplomskog studija Vinogradarstvo i vinarstvo te jednog profesora). Vina su evaluirana opisnom (deskriptivnom) metodom i metodom redoslijeda. Prije ocjenjivanja svi su ocjenjivači bili upoznati s podacima o sorti, godinama berbe i zemljopisnom porijeklu vina. Za ocjenjivanje je korištena standardna ISO čaša, a vina su poslužena na optimalnoj temperaturi za bijela vina.

Ocjenjivanje deskriptivnom metodom provedeno je uz pomoć ocjenjivačkih listića (vidjeti u prilogu) na kojima je svako od navedenih svojstava trebalo ocijeniti jednom ocjenom na skali od 0 do 5 pri čemu ocjene 0 – 1 predstavljaju slabo izražen intenzitet svojstva, ocjene 2 – 3 srednje izražen intenzitet, a ocjene 4 – 5 jako izražen intenzitet određenog svojstva. Boja je opisana kroz intenzitet, nijansu i kakvoću. Kakvoća i karakteristike mirisa ocijenjene su izborom jednog ili više ponuđenih tipova mirisa (cvjetni, voćni, suho/prosušeno voće, orašasto voće, biljni, začinsko/aromatično bilje, ostali mirisi poput meda, voska, rogača i dr.). Kod svojstva okusa definirana je kiselost, gorčina, astrigencija, tijelo, harmoničnost i „aftertaste“ te je na kraju bilo potrebno ocijeniti opći dojam kakvoće vina temeljen na ukupnom doživljaju svih prethodnih stavki. Rezultati deskriptivne ocjene svakog pojedinog vina prikazani su u obliku grafikona.

Ocjenjivanje metodom redoslijeda primjenjuje se kada se žele utvrditi male razlike između vina. Metoda se provodi tako da se pri ocjeni N broja vina ocjena 1 dodjeljuje najboljem uzorku, a ocjena N uzorku najlošijih karakteristika. Zbrajanjem ocjena koje su dali svi degustatori za svaki uzorak dobiva se ukupan zbroj slijeda pri čemu uzorak s najmanjim zbrojem ocjena posjeduje najbolje karakteristike (Herjavec, 2019.). Za potrebe izrade ovog rada vina 'Graševina' različitih godina berbe ocijenjena su ovom metodom te su rezultati prikazani u obliku tablice.

## 4. Rezultati i rasprava

### 4.1. Osnovna analiza vina

Rezultati osnovne analize vina 'Graševina' različitih godina berbe prikazani su u tablici 1. Prikazani su rezultati analiza pri puštanju vina u promet (oznaka „P“ pored vina, podatke je ustupila Vinarija Galić) te rezultati analiza provedenih u trenutku izrade rada (oznaka „T“ pored vina, rezultati dobiveni metodama opisanima u poglavlju *Materijali i metode*). Analizom su određeni sljedeći parametri: alkoholna jakost (vol. %), ukupni ekstrakt (g/L), ukupni šećer (glukoza+fruktoza, g/L), ekstrakt bez šećera (g/L), ukupna kiselost (g/L), hlapljiva kiselost (g/L), pH, slobodni, vezani i ukupni SO<sub>2</sub> (mg/L).

Tablica 1. Rezultati osnovne analize vina

Parametar	GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR
	2022. T	2022. P	2021. T	2021. P	2020. T	2020. P	2019. T	2019. P	2018. T	2018. P
Alkohol vol. %	13,6	13,6	13,2	13,1	12,8	13,2	13,5	13,0	12,7	12,6
Ekstrakt ukupni g/L	22,4	22,4	22,9	22,9	21,6	22,7	19,8	20,9	20,3	20,6
Šećer ukupni (glukoza+fruktoza) g/L	2,7	3,5	3,2	3,6	2,1	2,2	1,6	1,7	1,0	1,1
Ekstrakt bez šećera g/L	19,7	18,9	19,7	19,3	19,5	20,5	18,2	19,2	19,3	19,5
Ukupna kiselost (kao vinska) g/L	5,3	5,3	5,7	5,7	6,0	6,5	5,4	5,8	5,5	5,6
Hlapljiva kiselost (kao octena) g/L	0,21	0,30	0,30	0,30	0,29	0,30	0,30	0,30	0,31	0,30
pH	3,32	3,31	3,32	3,29	3,26	3,20	3,31	3,25	3,32	3,25
SO <sub>2</sub> slobodni mg/L	32	27	18	25	14	30	18	30	22	38
SO <sub>2</sub> vezani mg/L	83	77	70	67	84	74	77	75	84	86
SO <sub>2</sub> ukupni mg/L	115	104	88	92	98	104	95	105	106	124

Oznaka „GR“ - 'Graševina', „T“ pored vina i godine berbe označava rezultate analiza provedenih u trenutku izrade rada, oznaka „P“ označava rezultate analiza provedenih pri puštanju vina u promet.



Nakon vode etanol je najzastupljeniji sastojak vina koji primarno nastaje u procesu alkoholne fermentacije. Najveći utjecaj na konačnu alkoholnu jakost vina ima sadržaj šećera u grožđu pri čemu je potrebno oko 18 g/L šećera kako bi nastao 1 vol. % etanola tijekom fermentacije (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Među analiziranim vinima najvišu koncentraciju alkohola imalo je vino iz berbe 2022. (13,6 vol. %), dok je najnižu imalo vino iz berbe 2018. (12,7 vol. %). Koncentracija alkohola u ostalim vinima kretala se u rasponu od 12,7 vol. % do 13,5 vol. %.

Ukupni suhi ekstrakt uključuje sve tvari koje nisu hlapljive pod specifičnim fizičkim uvjetima (šećeri, kiseline, minerali, tanini). Njegova koncentracija ovisi o sorti, klimatskim uvjetima, načinu berbe i tehnološkim postupcima tijekom prerade grožđa. Ekstrakt bez šećera vrijednost je ukupnog suhog ekstrakta umanjena za vrijednost ukupnog šećera. Koncentracija ukupnog ekstrakta u analiziranim vina kretala se od 19,8 do 22,9 g/L, dok je koncentracija ekstrakta bez šećera bila u rasponu od 18,9 do 20,5 g/L. Prema koncentraciji ekstrakta bez šećera sva analizirana vina pripadaju kategoriji „vrhunska“. U vinima iz berbe 2018., 2019. i 2020. koncentracija ukupnog ekstrakta bila je viša pri puštanju vina u promet u odnosu na sadašnje stanje, no rezultati analiza mogu varirati i ovisno o primijenjenoj metodi. Manje koncentracije ukupnog ekstrakta u navedenim vinima mogu biti povezane s promjenama u ukupnoj kiselosti vina koje su se dogodile tijekom dozrijevanja vina u boci.

Ukupna kiselost (izraženo kao vinska kiselina) u analiziranim vinima kretala se u rasponu od 5,3 do 6,5 g/L. U vinima iz berbe 2018., 2019. i 2020. došlo je do smanjenja ukupne kiselosti tijekom dozrijevanja (od 0,1 do 0,5 g/L) što je u skladu s navodima Di Zhang i sur. (2023.) da tijekom dozrijevanja može doći do smanjenja ukupne kiselosti vina uslijed fizikalno-kemijskih reakcija taloženja.

pH-vrijednost analiziranih vina kretala se u rasponu od 3,25 do 3,32. U svim vinima izmjeren je viši pH u odnosu na vrijednost pri puštanju vina u promet (od 0,01 do 0,06). pH-vrijednost važan je parametar koji utječe na ravnotežu između slobodne i vezane forme te koncentraciju molekularnog SO<sub>2</sub>.

Hlapljive kiseline nastaju tijekom procesa alkoholne i malolaktične fermentacije radom kvasaca i bakterija. Najzastupljenija komponenta hlapljive kiselosti jest octena kiselina, čija koncentracija u vinu ovisi o uvjetima fermentacije te vrsti i soju kvasaca i bakterija. U normalnim uvjetima kvasac sintetizira do 0,6 g/L octene kiseline, dok više koncentracije nastaju radom octenih bakterija. U analiziranim vinima koncentracija hlapljive kiselosti (izraženo kao octena kiselina) kretala se u rasponu od 0,21 do 0,31 g/L, što je značajno manje od najviše propisane vrijednosti za bijela vina (1,1 g/L). Koncentracija octene kiseline pri puštanju vina u promet bila je gotovo identična s iznimkom vina iz berbe 2022., gdje je zabilježena niža koncentracije (za 0,09 g/L) u odnosu na onu izmjerenu pri puštanju vina u promet.

Koncentracija slobodnog SO<sub>2</sub> kretala se u rasponu od 14 do 38 mg/L pri čemu je najviša koncentracije od 38 mg/L zabilježena pri puštanju vina iz 2018. u promet, dok je najniža koncentracija (14 mg/L) zabilježena u vinu iz berbe 2020. u trenutku izrade rada. U većini vina, s iznimkom vina iz berbe 2022., zabilježena je niža koncentracija slobodnog SO<sub>2</sub> u odnosu na

izmjerenu vrijednost pri puštanju vina u promet (od 7 do 16 mg/L). Količina slobodnog SO<sub>2</sub> s vremenom se smanjuje jer dijelom oksidira, a dijelom hlapi (Herjavec, 2019.). U vinu iz berbe 2022. zabilježen je viša koncentracija slobodnog SO<sub>2</sub> u odnosu na onu izmjerenu pri puštanju vina u promet, što može biti rezultat više količine dodanog sumporova dioksida za potrebe čuvanja vina u arhivi. Koncentracija vezanog SO<sub>2</sub> kretala se u rasponu od 67 do 86 mg/L. Njegova koncentracija ovisi o prisutnosti spojeva koji vežu sumpor (šećeri, acetaldehid, keto spojevi) te može biti pokazatelj određenih nepravilnosti tijekom procesa proizvodnje vina. Ukupni sadržaj SO<sub>2</sub> u vinu rezultat je zbroja koncentracija slobodnog i vezanog SO<sub>2</sub>. U analiziranim vinima koncentracija ukupnog SO<sub>2</sub> kretala se u rasponu od 88 do 124 mg/L pri čemu je najviša koncentracija zabilježena u vinu iz berbe 2018. pri puštanju vina u promet. Ni u jednom vinu nije zabilježena koncentracija viša od dopuštene. U svim vinima, s iznimkom vina iz berbe 2022., zabilježena je niža koncentracija ukupnog SO<sub>2</sub> u odnosu na onu izmjerenu pri puštanju vina u promet (od 4 do 18 mg/L).

## 4.2. Aromatski profil vina

Tablica 2. Koncentracije terpena u vinima 'Graševina' različitih godina berbe

Kemijski spoj (µg/L)	ODT	Graševina 2018.	Graševina 2019.	Graševina 2020.	Graševina 2021.	Graševina 2022.
<b>Terpeni</b>						
alfa-Terpinen		0,00	1,31	0,00	1,37	0,00
alfa-Terpineol	250	8,63	8,09	5,64	8,62	6,31
Citronelol	18	3,15	2,69	2,28	2,04	1,57
Hotrienol	110	6,19	5,30	1,76	3,75	2,81
Limonen	200	3,04	0,00	0,00	2,87	2,15
<i>trans</i> -Linalol-oksid		10,56	12,45	0,00	3,51	6,19
Nerol	400	16,86	11,44	5,44	7,57	6,16
Nerol oksid		29,48	32,31	27,86	22,67	13,45
<i>p</i> -Cimen		0,00	0,00	8,63	1,34	2,15
Terpinen-4-ol		3,64	7,28	4,03	3,57	3,58
<b>Σ</b>		<b>81,55</b>	<b>80,87</b>	<b>55,64</b>	<b>57,32</b>	<b>44,37</b>

ODT- odour detection treshold / prag detekcije mirisa

U tablici 2. prikazani su terpeni identificirani u vinima te njihove koncentracije izražene u µg/L. Terpeni doprinose cvjetnim aromama vina te su posebno važni spojevi arome u bijelim vinima muškarnih sorata (Robinson i sur., 2014.). Ukupno najvišu koncentraciju terpena sadržavalo je vino iz berbe 2018. (81,55 µg/L), a najnižu vino iz berbe 2022. (44,37 µg/L). Ostala vina sadržavala su od 55,64 do 80,87 µg/L terpena. Na koncentraciju terpena utječu genetske karakteristike sorte, tlo, klima (temperatura, Sunčeva svjetlost, opskrba vodom), agrotehničke

mjere i postupci tijekom proizvodnje i dozrijevanja vina. Tijekom dozrijevanja zbog reakcija hidrolize može doći do povećanja koncentracije pojedinih terpena, što je vjerojatno slučaj i u analiziranim vinima, iako direktna usporedba nije moguća jer su vina iz različitih godina berbe. Robinson i sur. (2014.) navode da razgradnjom geraniola i linalola nastaju linalol oksid i  $\alpha$ -terpineol. Echave i sur. (2021.) također navode da, iako većina terpena potječe iz grožđa, jedan dio može nastati tijekom starenja pod utjecajem kisele hidrolize te da primjerice hidrolizom geraniola nastaje linalol i/ili  $\alpha$ -terpineol. Među analiziranim vinima najvišu koncentraciju  $\alpha$ -terpineola sadržavalo je vino iz berbe 2018. (8,63  $\mu\text{g/L}$ ), a najmanju vino iz berbe 2020. (5,64  $\mu\text{g/L}$ ). Terpinen-4-ol pronađen je u najvišoj koncentraciji u vinu iz berbe 2019. (7,28  $\mu\text{g/L}$ ), a u najnižoj u vinu iz berbe 2021. (3,57  $\mu\text{g/L}$ ). Carlin i sur. (2022.) navode da koncentracija terpinen-4-ola može rasti tijekom dozrijevanja vina. Hotrienol, čiji miris podsjeća na cvjetove ruže, pronađen je u najvišoj koncentraciji u vinu iz berbe 2018. (6,19  $\mu\text{g/L}$ ), a u najnižoj u vinu iz berbe 2020. (1,76  $\mu\text{g/L}$ ). Ribéreau-Gayon i sur. (2006.) navode da hotrienol nastaje kiselom hidrolizom iz 3,7-dimetilokta-1,5-dien-3,7-diola. *p*-cimen, čiji miris podsjeća na smolu, nije identificiran u vinima iz berbe 2018. i 2019., dok je u ostalim vinima bio prisutan u koncentraciji od 1,34 do 8,63  $\mu\text{g/L}$ . Iako nijedan od terpenskih spojeva nije identificiran u koncentraciji iznad mirisnog praga detekcije, oni zbog svojeg sinergističkog djelovanja mogu doprinijeti ukupnoj kompleksnosti arome vina (Ferreira, 2010.).

Tablica 3. Koncentracije  $\text{C}_{13}$ -norisoprenoida u vinima 'Graševina' različitih godina berbe

Kemijski spoj ( $\mu\text{g/L}$ )	ODT	Graševina 2018.	Graševina 2019.	Graševina 2020.	Graševina 2021.	Graševina 2022.
<b><math>\text{C}_{13}</math>-norisoprenoidi</b>						
4-Hidroksi- $\beta$ -ionon		2,45	2,40	1,86	2,26	1,59
beta-Ionon	0,09	9,63	7,23	8,80	7,45	5,85
beta-Damaskenon	0,05	1,71	3,10	1,35	1,70	2,34
TDN	20	10,44	11,40	8,51	8,56	6,68
TPB	0,4	7,25	7,90	5,24	5,72	1,43
Vitispiran A		12,58	11,79	9,33	11,10	7,00
Vitispiran B		17,13	12,58	9,15	10,84	7,93
$\Sigma$		61,19	56,40	44,25	47,63	32,81

ODT- odour detection treshold / prag detekcije mirisa

U tablici 3. prikazani su  $\text{C}_{13}$ -norisoprenoidi identificirani u vinima i njihove koncentracije u  $\mu\text{g/L}$ . Norisoprenoidi mogu imati snažan utjecaj na aromu vina, iako su prisutni u malim koncentracijama. Nastaju razgradnjom karotenoida poput  $\beta$ -karotena i neoksantina ili mogu biti prisutni u obliku glikokonjugata koji otpuštaju svoje hlapljive aglikone tijekom fermentacije ili dozrijevanja putem procesa enzimatske i kisele hidrolize. Čimbenici poput sadržaja karotenoida u grožđu, uvjeta vinifikacije i čuvanja vina utječu na promjene u koncentracijama norisoprenoida, a samim time i aromatskog profila vina (Carlin i sur., 2022.).

Najveću ukupnu koncentraciju norisoprenoida sadržavalo je vino iz berbe 2018. (61,19 µg/L), a najmanju vino iz berbe 2022. (32,81 µg/L), što je u skladu s navodima da tijekom dozrijevanja dolazi do povećanja u njihovoj koncentraciji (Echave i sur., 2021.). β-damaskenon, čiji miris podsjeća na jabuku, ružu i med, pronađen je u najvišoj koncentraciji u vinu iz berbe 2019. (3,10 µg/L), a u najnižoj u vinu iz berbe 2020. (1,35 µg/L). U svim vinima pronađen je u koncentracijama iznad mirisnog praga detekcije (0,05 µg/L). β-ionon, čiji miris podsjeća na cvijet ljubice, pronađen je u najvišoj koncentraciji u vinu iz berbe 2018. (9,63 µg/L), a u najnižoj u vinu iz berbe 2022. (5,85 µg/L). Echave i sur. (2021.) navode da tijekom dozrijevanja vina može doći do povećanja u koncentraciji β-damaskenona i β-ionona. 1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftalena (TDN) pronađen je u najvišoj koncentraciji u vinu iz berbe 2019. (11,40 µg/L), a u najnižoj u vinu iz berbe 2022. (6,68 µg/L), što je u skladu s dosadašnjim istraživanjima koja navode da tijekom vremena dolazi do povećanja njegove koncentracije u vinu i pojave specifičnog mirisa na petrolej (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Ni u jednom vinu nije bio prisutan u koncentraciji većoj od mirisnog praga detekcije (20 µg/L). 1-(2,3,6-trimetilfenil)buta-1,3 dien (TPB) koji se povezuje s cvjetnim, geranijskim i duhanski mirisom pronađen je u najvišoj koncentraciji u vinu iz berbe 2019. (7,90 µg/L), a u najnižoj u vinu iz berbe 2022. (1,43 µg/L). Vitispiran A i B pronađeni su u najvišoj koncentraciji u vinu iz berbe 2018. (12,58 i 17,13 µg/L), a u najnižoj u vinu iz berbe 2022. (7,00 i 7,93 µg/L). Njihov miris podsjeća na kamfor i mogu doprinijeti aromi starenja.

Tablica 4. Koncentracije masnih kiselina u vinima 'Graševina' različitih godina berbe

Kemijski spoj (µg/L)	ODT	Graševina 2018.	Graševina 2019.	Graševina 2020.	Graševina 2021.	Graševina 2022.
<b>Kiseline</b>						
2-Etil-heksanska kiselina		83,25	75,21	71,39	77,86	82,49
2-Metilpropanska kiselina		69,02	33,28	35,04	58,37	32,56
3-Metilbutanska kiselina	50	27,16	40,09	40,33	55,12	42,62
Butanska kiselina	173	15,72	20,64	17,24	19,49	22,12
Dekanska kiselina	1000	577,93	720,52	1465,58	1248,80	1886,72
Dodekanska kiselina		3,67	6,62	10,13	8,93	31,06
Heksanska kiselina	420	5878,61	4190,04	5421,62	5697,29	5770,53
Oktanska kiselina	500	9463,40	6798,40	11854,22	11045,43	10761,42
<b>Σ</b>		16118,76	11884,81	18915,54	18211,30	18629,51

ODT- odour detection treshold / prag detekcije mirisa

U tablici 4. prikazane su hlapljive masne kiseline identificirane u vinima i njihove koncentracije u µg/L. Masne kiseline treća su najzastupljenija skupina hlapljivih spojeva identificirana u uzorcima vina nakon viših alkohola i estera. Masne kiseline, prisutne u umjerenim koncentracijama, mogu doprinijeti kompleksnosti vina, dok u visokim koncentracijama negativno utječu na aromatska svojstva (Swiegers i sur., 2005.). Nastaju

tijekom procesa alkoholne fermentacije i doprinose negativnim aromama na sir, maslac i kiselo, ali su važne kao prekusori nastanka poželjnih spojeva poput estera. Najvišu koncentraciju masnih kiselina sadržavalo je vino iz berbe 2020. (18915,54 µg/L), a najnižu vino iz berbe 2019. (11884,81 µg/L). Vina iz berbe 2020., 2021. i 2022. imala su vrlo slične koncentracije masnih kiselina u rasponu od 18211,30 do 18915,54 µg/L. Di Zhang i sur. (2023.) navode da tijekom dozrijevanja dolazi do smanjenja u koncentraciji heksanske, oktanske i dekanske kiseline, što može biti razlog manjim koncentracijama masnih kiselina u vinima iz berbe 2018. i 2019.

Tablica 5. Koncentracije alkohola u vinima 'Graševina' različitih godina berbe

Kemijski spoj (µg/L)	ODT	Graševina 2018.	Graševina 2019.	Graševina 2020.	Graševina 2021.	Graševina 2022.
<b>Alkoholi</b>						
4-Metil-1-pentanol		25,58	25,83	20,26	24,61	29,65
1-Butanol	150000	117,60	257,08	176,71	185,44	391,10
1-Dekanol	5000	2,05	2,11	2,23	2,15	2,95
1-Heksanol	8000	872,66	880,36	839,05	1152,67	987,62
2-Nonanol		0,38	0,00	0,59	0,33	1,31
1-Oktanol	120	6,57	8,68	5,80	6,34	7,13
1-Okten-3-ol		5,86	5,20	0,00	3,77	4,06
1-Propanol	830	1734,75	2326,75	2254,28	2021,95	4397,26
2,3-Butandiol		2020,72	3755,14	1792,26	2100,84	2883,30
2-Etil-1-heksanol		3,35	8,91	3,96	6,05	10,87
3-Etil-4-metilpentan-1-ol		5,93	0,00	0,00	0,00	0,00
3-Metilpentan-1-ol	1000	32,68	80,65	50,98	67,11	70,81
3-Oktanol		6,76	0,00	0,00	4,30	0,00
4-Etilfenol	440	0,00	0,00	0,00	5,26	0,00
4-Vinilfenol	180	0,00	0,00	118,50	0,00	0,00
Benzil alkohol		201,83	103,81	91,47	138,77	55,93
cis-3-Heksen-1-ol	40	38,12	92,87	32,07	53,57	49,24
Eugenol	15	13,20	12,23	11,86	12,27	9,67
Feniletanol	14000	15771,66	11557,77	19664,74	18880,86	12144,10
Gvajakol	23	125,91	157,57	119,43	46,06	36,88
Izoamil alkohol	30000	59857,48	55154,98	86870,70	80997,99	99235,98
Izobutanol	40000	12693,52	24680,93	10750,45	10038,95	21928,49
trans-3-Heksen-1-ol	1000	64,52	79,33	67,94	80,13	14,22
<b>Σ</b>		<b>93601,14</b>	<b>99190,18</b>	<b>122873,30</b>	<b>115829,43</b>	<b>142260,55</b>

ODT- odour detection treshold / prag detekcije mirisa

U tablici 5. prikazani su alkoholi identificirani u vinima i njihove koncentracije u  $\mu\text{g/L}$ . Alkoholi su najzastupljenija skupina hlapljivih spojeva identificirana u uzorcima vina. Ta skupina spojeva većinom nastaje tijekom procesa alkoholne fermentacije, a u previsokim koncentracijama mogu imati negativan utjecaj na aromatska svojstva vina (Morreno-Arribas, Polo, 2009.). Najvišu koncentraciju alkohola utvrđena je u vinu iz berbe 2022. ( $142260,55 \mu\text{g/L}$ ), a najnižu vino iz berbe 2018. ( $93601,14 \mu\text{g/L}$ ). Na koncentraciju ukupnih i pojedinačnih alkohola utjecaj imaju brojni čimbenici poput sorte, klona, zrelosti grožđa, sadržaja šećera i dušičnih spojeva, načina berbe, mutnoće mošta, temperature u fermentaciji, vrste i soja kvasca (Herjavec, 2019.). Od pojedinačnih spojeva u svim vinima najzastupljeniji je bio izoamilni alkohol koji doprinosi oštrim aromama na alkohol koje u previsokim koncentracijama mogu biti neugodne. Najvišu koncentraciju izoamilnog alkohola sadržavalo je vino iz berbe 2022. ( $99235,98 \mu\text{g/L}$ ), a najnižu vino iz berbe 2019. ( $55154,98 \mu\text{g/L}$ ). Feniletanol ima ugodan miris koji doprinosi aromama ruže i meda (Swiegers i sur., 2005.). Najviše ga je imalo vino iz berbe 2020. ( $19664,74 \mu\text{g/L}$ ), a najmanje vino iz berbe 2019. ( $11557,77 \mu\text{g/L}$ ). Izoamilni je alkohol u svim vinima bio prisutan iznad mirisnog praga percepcije ( $30000 \mu\text{g/L}$ ), a feniletanol je bio prisutan iznad mirisnog praga percepcije ( $14000 \mu\text{g/L}$ ) u vinima iz berbi 2018., 2020. i 2021. Izobutanol u vinu nastaje kataboličkim putem tijekom fermentacije iz aminokiselina valin i metionin. Posjeduje neugodan i oštar miris po alkoholu (Song i sur., 2013.). Najviše koncentracije izobutanol pronadene su u vinu iz berbe 2019. ( $24680,93 \mu\text{g/L}$ ), a najmanje u vinu iz berbe 2021. ( $10038,95 \mu\text{g/L}$ ). Ni u jednom vinu nije bio prisutan iznad mirisnog praga percepcije, koji iznosi  $40000 \mu\text{g/L}$ . 2,3-butandiol nastaje tijekom alkoholne i malolaktične fermentacije. Njegov je miris blago slatkast, no nema značajan utjecaj na ukupni aromatski profil vina. Najznačajnija je uloga 2,3-butandiola održavanje oksidacijsko-redukcijske ravnoteže s acetoinom i diacetilom (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Među analiziranim vinima najzastupljeniji je bio u vinu iz berbe 2019. ( $3755,14 \mu\text{g/L}$ ), a najmanje zastupljen u vinu iz berbe 2020. ( $1792,26 \mu\text{g/L}$ ). U svim vinima koncentracija 1-propanola bila je iznad mirisnog praga percepcije, koji iznosi  $830 \mu\text{g/L}$ . Najveću koncentraciju sadržavalo je vino iz berbe 2022. ( $4397,26 \mu\text{g/L}$ ), a najnižu vino iz berbe 2018. ( $1734,75 \mu\text{g/L}$ ). 1-heksanol doprinosi zelenoj i travnatoj aromi u vinu, no ni u jednom vinu nije pronađen u koncentraciji iznad mirisnog praga percepcije ( $8000 \mu\text{g/L}$ ). 4-vinil fenol, koji posjeduje medicinski miris, nastaje tijekom fermentacije radom kvasaca iz hidroksicimetnih kiselina (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Identificiran je samo u vinu iz berbe 2020. u koncentraciji od  $118,50 \mu\text{g/L}$ , što je vrijednost ispod mirisnog praga percepcije ( $180 \mu\text{g/L}$ ). 4-etil fenol, čija je prisutnost najčešće povezana s crnim vinima, identificiran je samo u vinu iz berbe 2021. u koncentraciji od  $5,26 \mu\text{g/L}$ , daleko manjoj od mirisnog praga percepcije ( $440 \mu\text{g/L}$ ). 4-etil fenol posjeduje neugodan miris koji podsjeća na konja, štalu i znoj (Morreno-Arribas, Polo, 2009.). Eugenol i gvajakol pronađeni su u svim vinima u rasponu koncentracija od  $9,67$  do  $13,20 \mu\text{g/L}$ , odnosno  $36,88$  do  $157,57 \mu\text{g/L}$ . Prisutnost tih spojeva u vinu povezuje se s dozrijevanjem u drvenim bačvama, a njihov miris podsjeća na klinčiće, dim, tostirano i zapečeno. Eugenol ni u jednom vinu nije identificiran u koncentraciji iznad mirisnog praga percepcije ( $15 \mu\text{g/L}$ ), dok je gvajakol u svim vinima bio prisutan iznad mirisnog praga percepcije ( $23 \mu\text{g/L}$ ) (Waterhouse i sur., 2016.).

Tablica 6. Koncentracije estera u vinima 'Graševina' različitih godina berbe

Kemijski spoj (µg/L)	ODT	Graševina 2018.	Graševina 2019.	Graševina 2020.	Graševina 2021.	Graševina 2022.
<b>Esteri</b>						
2-Feniletil-acetat	250	1,44	2,28	5,78	7,89	20,37
2-Metilbutil-oktanoat		2,45	3,38	3,48	3,90	4,05
Dietil-malat		665,45	250,85	421,34	389,69	88,35
Dietil-sukcinat	200000	12622,86	9156,69	10108,67	7587,12	3332,15
Etil-2-heksanoat		1,84	4,25	0,72	1,07	1,60
Etil-2-hidroksipropanoat		3967,95	9208,09	4665,39	5620,35	9839,38
Etil-2-hidroksi-4-metilpentanoat		7,45	0,00	8,25	9,23	0,00
Etil-3-hidroksibutanoat	20000	145,62	181,20	167,87	179,46	191,25
Etil-3-hidroksiheksanoat		2,25	1,49	1,74	1,89	1,80
Etil-2-dekenoat		0,00	0,00	0,00	5,52	5,65
Etil-heksadekanoat		2,51	8,97	11,92	14,84	14,37
Etil-2-metilbutanoat	18	54,10	79,65	53,03	52,87	33,65
Etil-3-metilbutanoat	3	116,44	189,62	143,55	138,72	87,01
Etil-butanoat	20	240,80	251,09	292,56	311,71	450,90
Etil-pentanoat		0,00	0,00	0,00	0,00	42,07
Etil-dekanoat	200	94,16	183,17	225,33	322,85	408,14
Etil-dodekanoat		0,60	1,86	2,48	4,37	11,67
Etil-heksanoat	14	530,98	692,20	515,34	538,83	842,57
Etil-heptanoat		0,00	0,00	0,26	0,39	0,31
Etiloktil-sukcinat		572,68	452,62	690,01	485,97	234,46
Etil-pentadekanoat		0,00	1,59	2,17	2,72	2,54
Etil-nonanoat		1,57	0,29	1,35	1,73	0,84
Etil-oktanoat	5	761,89	1063,64	1003,84	1034,91	1318,87
Heksil-acetat	1800	1,13	2,16	1,05	1,65	20,62
Izopentil-heksanoat		4,91	5,27	5,40	5,62	5,55
Izoamil-acetat	30	81,90	250,21	254,50	418,77	1480,02
Oktil oktanoat		1,39	1,16	1,04	0,65	1,08
<b>Σ</b>		19882,36	21991,74	18587,04	17142,72	18439,27
<b>Σ bez dietil-sukcinata</b>		7259,50	12835,05	8478,37	9555,60	15107,12

ODT- odour detection treshold / prag detekcije mirisa

U tablici 6. prikazani su esteri identificirani u vinima i njihove koncentracije u  $\mu\text{g/L}$ . Esteri su među najvažnijim hlapljivim spojevima koji nastaju tijekom alkoholne i malolaktične fermentacije te dozrijevanja vina (Di Zhang i sur., 2023.). Nosioци su cvjetnih i voćnih aroma u vinu te imaju velik utjecaj na cjelokupni aromatski profil bez obzira na to nalaze li se u koncentracijama iznad mirisnog praga percepcije. Ukupno najvišu koncentraciju estera sadržavalo je vino iz berbe 2019. (21991,74  $\mu\text{g/L}$ ), a najnižu vino iz berbe 2021. (17142,72  $\mu\text{g/L}$ ). Razlika u ukupnoj koncentraciji estera posljedica je prije svega povećanja koncentracije dietil-sukcinata tijekom dozrijevanja, pa je tako kod vina iz berbe 2018. zabilježena najviša koncentracija (12622,86  $\mu\text{g/L}$ ), a kod vina iz 2022. najniža koncentracija (3332,15  $\mu\text{g/L}$ ) dietil-sukcinata. Carlin i sur. (2022.) navode da koncentracija dietil-sukcinata raste tijekom dozrijevanja te da se ponekad koristi kao marker dozrijevanja. Ako dietil-sukcinat izuzmemo iz izračuna, najvišu koncentraciju ukupnih estera sadržavalo je vino iz berbe 2022. (15107,12  $\mu\text{g/L}$ ), a najnižu vino iz berbe 2018. (7259,50  $\mu\text{g/L}$ ). Koncentracija svih etil estera bila je najviša u vinu iz berbe 2022. (2569,58  $\mu\text{g/L}$ ), a najniža u vinu iz berbe 2018. (1387,03  $\mu\text{g/L}$ ). Izoamil-acetat, čiji miris podsjeća na banane, pronađen je u najvišoj koncentraciji u vinu iz berbe 2022. (1480,02  $\mu\text{g/L}$ ), a u najnižoj u vinu iz berbe 2018. (81,90  $\mu\text{g/L}$ ). U svim je vinima izoamil-acetat pronađen u koncentraciji iznad mirisnog praga percepcije (30  $\mu\text{g/L}$ ). 2-feniletal-acetat nositelj je cvjetne arome (ruža). Pronađen je u najvišoj koncentraciji u vinu iz berbe 2022. (20,37  $\mu\text{g/L}$ ), a u najnižoj u vinu iz 2018. (1,44  $\mu\text{g/L}$ ). Iako je u svim vinima identificiran u koncentracijama mnogo nižima od mirisnog praga percepcije (250  $\mu\text{g/L}$ ), moguće je da zbog sinergijskog učinka ima utjecaj na ukupni aromatski profil vina. Najviše koncentracije etil-oktanoata i etil-dekanoata pronađene su u vinu iz berbe 2022. (1318,87 i 408,14  $\mu\text{g/L}$ ), a najniže u vinu iz berbe 2018. (761,89 i 94,16  $\mu\text{g/L}$ ). Ti esteri posjeduju izuzetno ugodne voćne (ananas, kruška) i cvjetne arome (Lambrechts i Pretorius, 2000.). Carlin i sur. (2022.) navode da tijekom dozrijevanja dolazi do brzog smanjenja u koncentraciji etil-oktanoata, etil-dekanoata, izoamil-acetata i drugih acetatnih i ravnolančanih etilnih estera. Primjerice heksil-acetat je u vinu iz berbe 2022. pronađen u koncentraciji od 20,62  $\mu\text{g/L}$ , a u svim ostalim vinima u rasponu koncentracija od samo 1,05 do 2,16  $\mu\text{g/L}$ . Di Zhang i sur. (2023.) također navode da tijekom dozrijevanja dolazi do smanjenja u koncentraciji izoamil-acetata, heksil-acetata, izobutil-acetata i 2-feniletal-acetata. Najviše koncentracije etil-2-metilbutanoata i etil-3-metilbutanoata pronađene su u vinima iz berbe 2019. (79,65 i 189,62  $\mu\text{g/L}$ ), a najniže u vinima iz berbe 2022. (33,65 i 87,01  $\mu\text{g/L}$ ). Carlin i sur. (2022.) navode da tijekom dozrijevanja dolazi do povećanja u koncentraciji etil-2-metilbutanoata i etil-3-metilbutanoata i nekih ostalih etilnih estera razgranatih kiselina.



Tablica 7. Koncentracije ostalih spojeva u vinima 'Graševina' različitih godina berbe

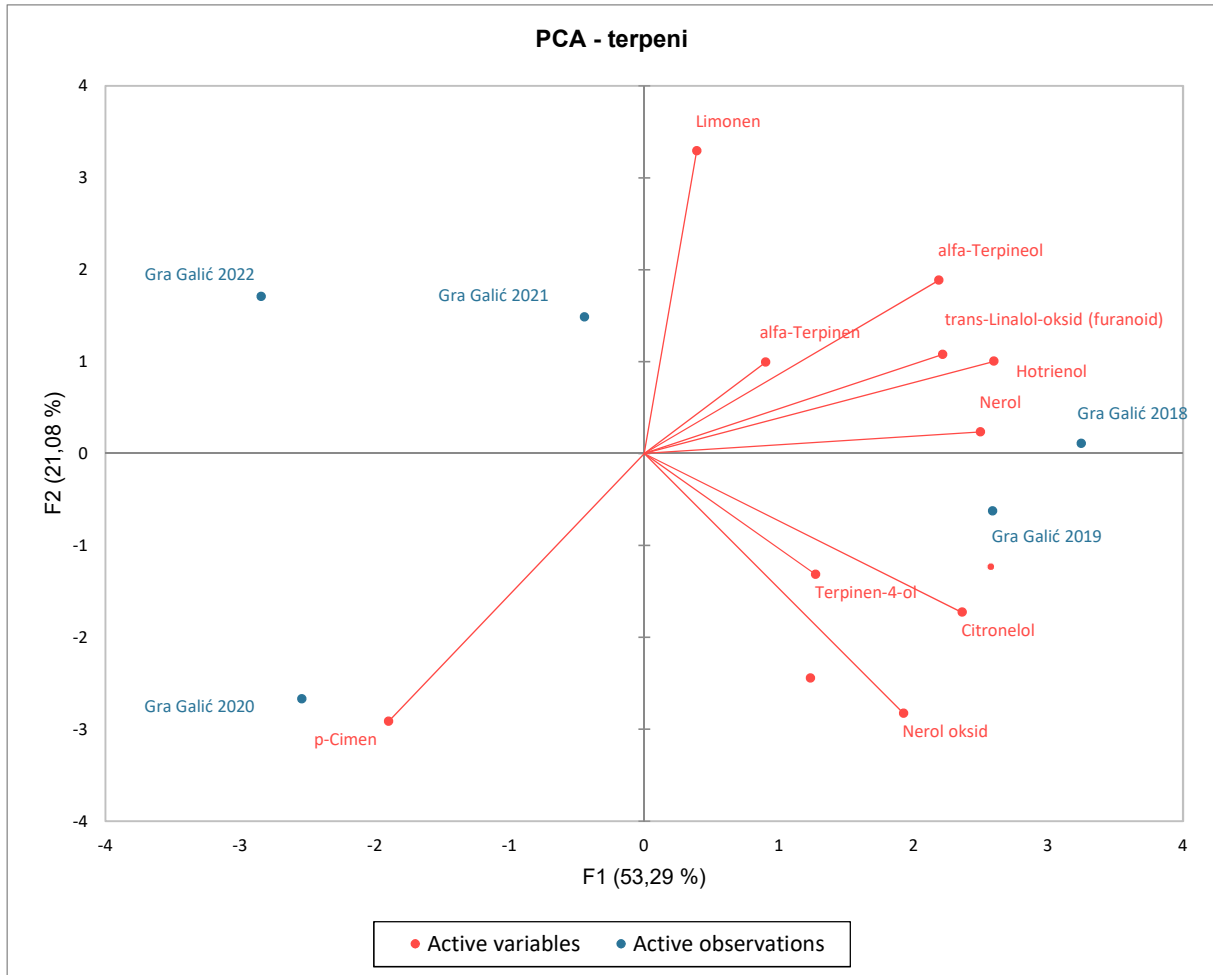
Kemijski spoj ( $\mu\text{g/L}$ )	ODT	Graševina 2018.	Graševina 2019.	Graševina 2020.	Graševina 2021.	Graševina 2022.
<b>Ostali spojevi</b>						
Furfural	14000	55,60	45,76	26,88	28,68	21,86
Metionol	1000	99,51	62,22	86,78	116,59	83,46
$\Sigma$		155,11	107,97	113,66	145,27	105,32

ODT- odour detection treshold / prag detekcije mirisa

U tablici 7. prikazani su ostali spojevi identificirani u vinima i njihove koncentracije u  $\mu\text{g/L}$ . Furfural, čiji miris podsjeća na tostirano, prženo i bademe, pronađen je u najvišoj koncentraciji u vinu iz berbe 2018. (55,60  $\mu\text{g/L}$ ), a u najnižoj u vinu iz berbe 2022. (21,86  $\mu\text{g/L}$ ). U svim vinima njegova koncentracija bila je daleko niža od mirisnog praga percepcije (14000  $\mu\text{g/L}$ ). Robinsn i sur. (2014.) navode da derivati furana, uključujući furfural, nastaju pirolizom ugljikohidrata tijekom tostiranja drva za proizvodnju bačava (na taj se način ekstrahira u vinu tijekom dozrijevanja u bačvama) ili Maillardovim reakcijama tijekom zagrijavanja grožđa i vina. Metionol je sumporni spoj odgovoran za reduktivne arome u vinu s mirisom koji podsjeća na kuhani kupus. Metionol nastaje djelovanjem kvasaca iz metionina u moštu putem reakcija deaminacije i dekarboksilacije (Ehrichova reakcija). Tako nastali aldehid (metional) reducira se enzimatskom reakcijom u alkohol metionol (Ribéreau-Gayon i sur., 2006.). Najviša koncentracija metionola pronađena je u vinu iz berbe 2021. (116,59  $\mu\text{g/L}$ ), a najniža u vinu iz berbe 2019. (62,22  $\mu\text{g/L}$ ). U svim vinima pronađena je koncentracija mnogo niža od mirisnog praga percepcije (1000  $\mu\text{g/L}$ ), stoga u ovom slučaju ne bi trebao imati negativan utjecaj na aromatske karakteristike analiziranih vina 'Graševina'.

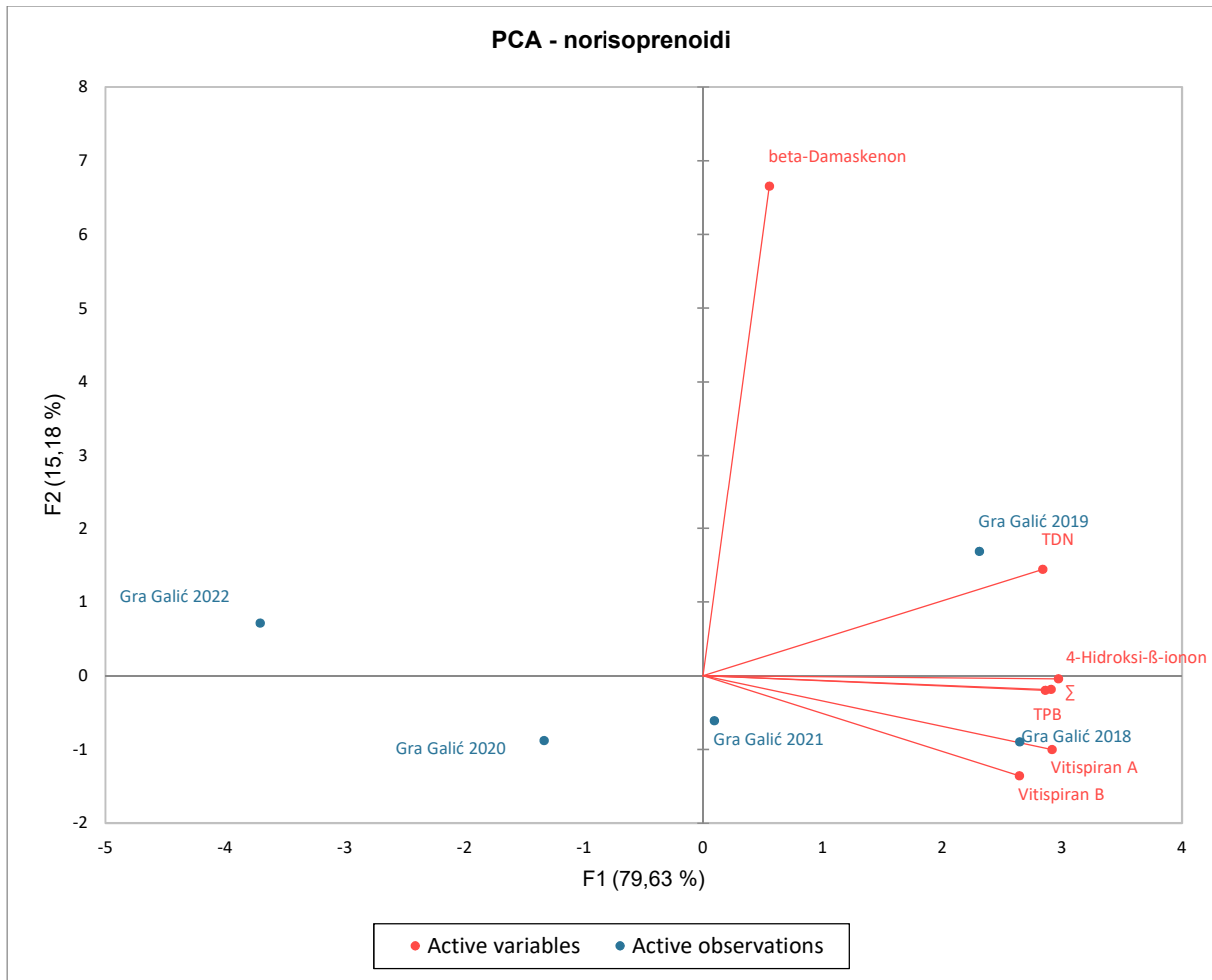
### 4.3. Analiza glavnih komponenta (PCA)

Dobivene vrijednosti terpena, norisoprenoida, estera i alkohola podvrgnuti su analizi glavnih komponenta (PCA) kako bi se izdvojili spojevi koji najviše koreliraju s vinom iz određene berbe.



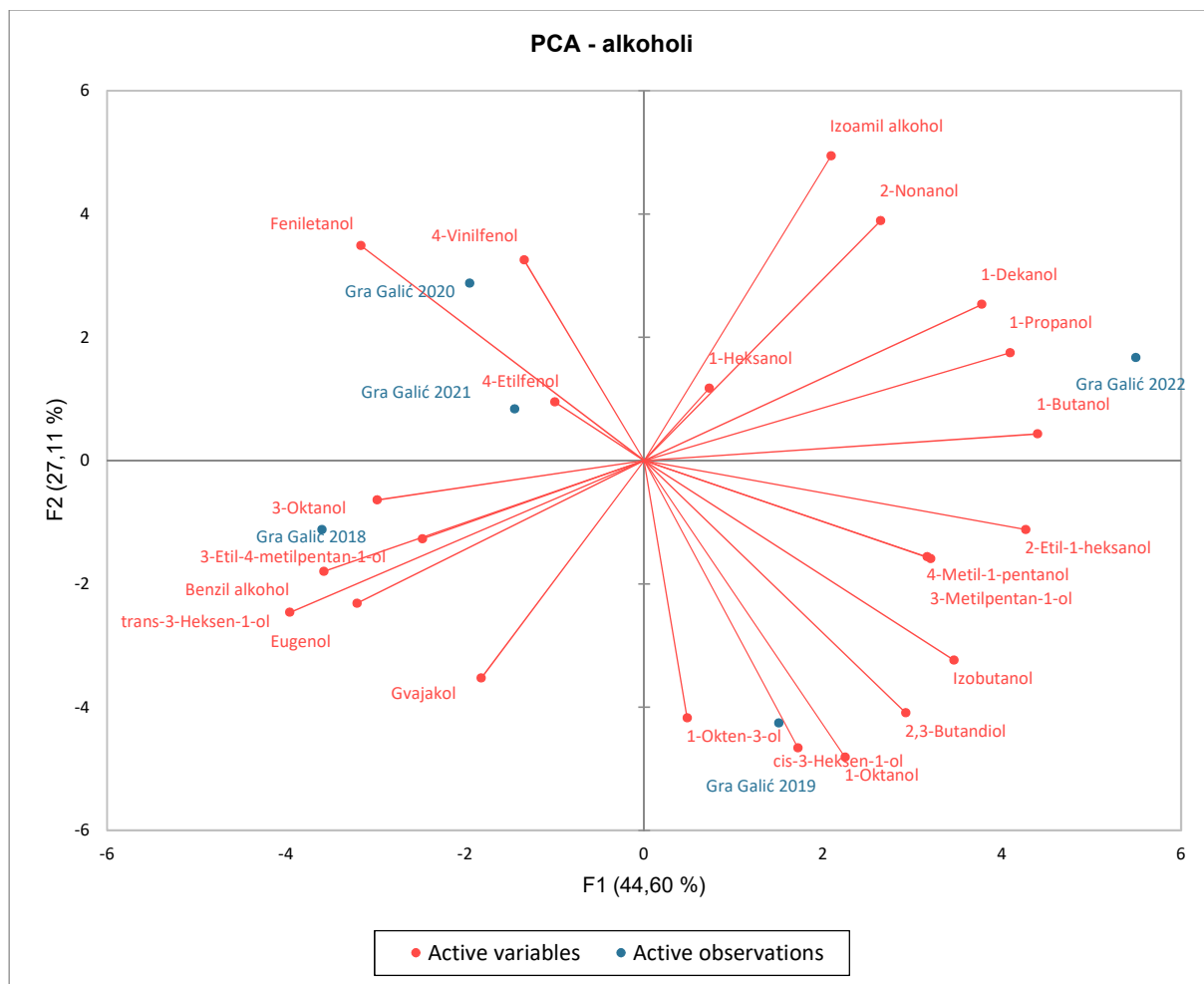
Grafikon 1. PCA - terpeni

Grafikon 1. prikazuje kvantificirane terpeene i njihovu povezanost s vinima različitih godina berbe. Plave točke na grafikonu predstavljaju različite uzorke vina, a crvene linije (vektori) predstavljaju kemijske spojeve. Postoji pozitivna korelacija između vina iz berbi 2018. i 2019. i koncentracija većine terpena (alfa-terpineol, *trans*-linalol-oksidi, nerol, citronelol). Prema usmjerenju vektora *p*-cimen karakterističan je za vino iz berbe 2020. te postoji negativna korelacija između koncentracije *p*-cimena i vina iz berbi 2018. i 2019. Prema usmjerenju vektora postoji negativna korelacija između koncentracija alfa-terpineola i alfa-terpinena te koncentracije *p*-cimena. Gledajući duljinu vektora može se utvrditi da spojevi *p*-cimen, limonen, citronelol i nerol oksid najviše doprinose varijabilnosti među uzorcima. Prema blizini točaka najveća je sličnost između vina iz berbi 2018. i 2019. te vina iz berbi 2021. i 2022.



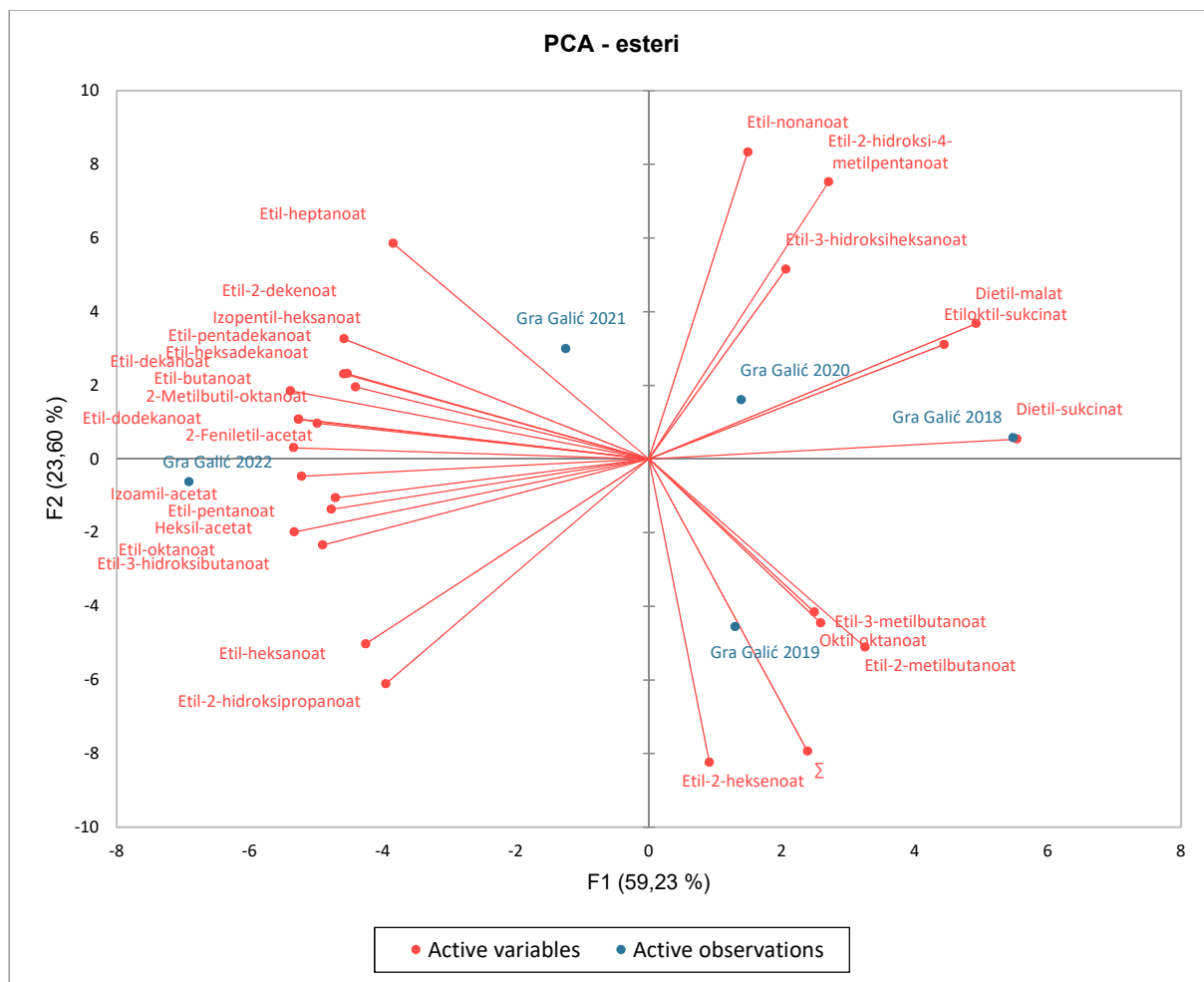
Grafikon 2. PCA - norisoprenoidi

Grafikon 2. prikazuje kvantificirane norisoprenoide i njihovu povezanost s vinima različitih godina berbe. Za vina iz berbe 2018. i 2019. karakteristični su spojevi poput TDN-a, TPB-a i vitispirana A te postoji pozitivna korelacija između tih spojeva i navedenih vina. Vektor TDN-a usmjeren je prema vinu iz berbe 2019., što sugerira da to vino sadržava najvišu koncentraciju tog spoja. Prema kutu između vektora postoji pozitivna korelacija između TPB-a, 4-hidroksi-β-ionona i ukupne koncentracije svih norisoprenoida. Vina iz berbi 2022. i 2020. nalaze se na negativnoj strani F1 ravnine, što sugerira manju koncentraciju većine norisoprenoida u vinima iz navedenih berbi. Gledajući duljinu vektora može se utvrditi da spoj beta-damaskenon najviše doprinosi varijabilnosti između uzoraka.



Grafikon 3. PCA - alkoholi

Grafikon 3. prikazuje izdvojene alkohole i njihovu povezanost s vinima različitih godina berbe. Za vino iz berbe 2018. karakteristični su spojevi poput 3-oktanola, benzil alkohola, *trans*-3-heksen-1-ola i 3-etil-4-metilpentan-1-ola te postoji negativna korelacija s F1. Za vino iz berbe 2022. karakteristični su spojevi poput 1-butanola, 1-propanola i 1-dekanola. Varijable poput 1-heksanola i 4-etil fenola posjeduju kraće vektore, što sugerira njihov manji doprinos ukupnoj varijaciji, odnosno manje doprinose razlikama među uzorcima. Prema blizini točaka najveća je sličnost između vina iz berbi 2020. i 2021., za koje su karakteristični spojevi poput feniletanola, 4-vinilfenola i 4-etilfenola.

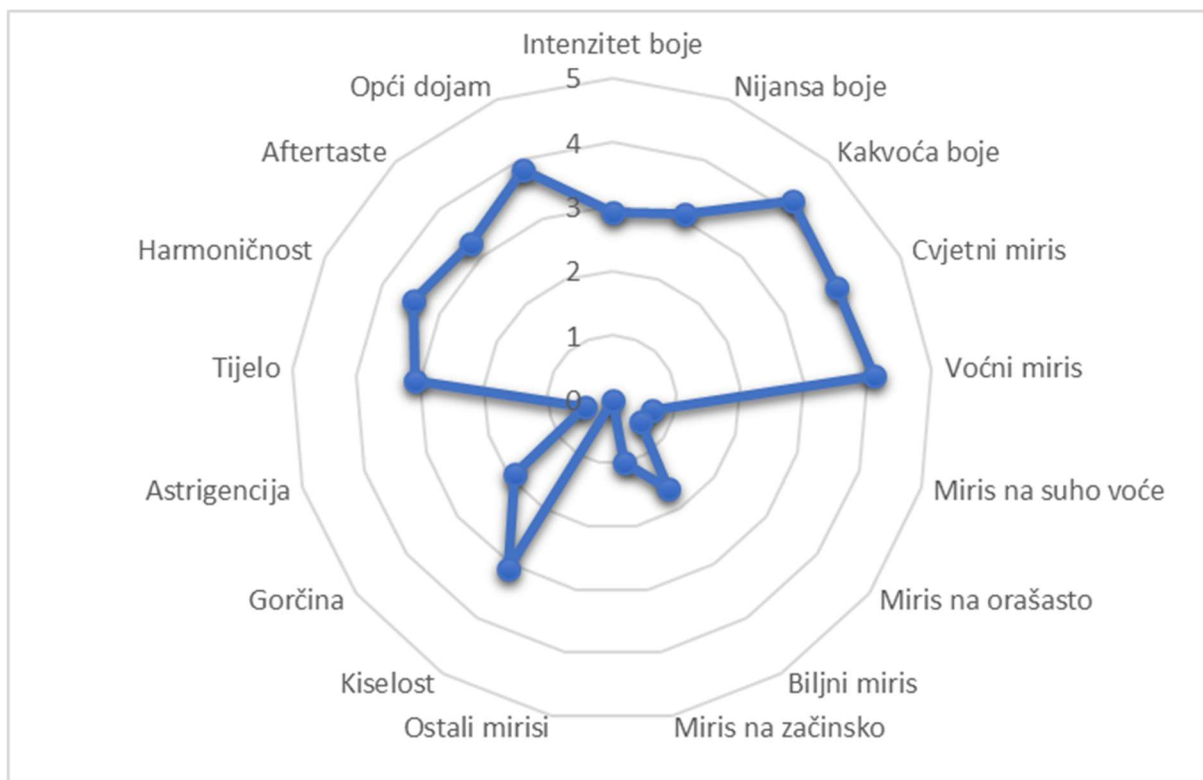


Grafikon 4. PCA - esteri

Grafikon 4. prikazuje izdvojene estere i njihovu povezanost s vinima različitih godina berbe. Većina je estera na negativnoj strani F1 ravnine te pozitivno korelira s vinima iz berbi 2021. i 2022., a negativno s vinima iz berbi 2018., 2019. i 2020. Esteri karakteristični za vino iz berbe 2022. su 2-feniletil-acetat, etil-dodekanoat, izoamil-acetat, etil-pentanoat i etil butanoat, dok je za vino iz berbe 2018. naglašeno karakterističan dietil-sukcinat, koji prema dužini vektora značajno doprinosi varijaciji među uzorcima. Postoji pozitivna korelacija između koncentracija etil-dodekanoata i 2-feniletil-acetata ili primjerice između koncentracija dietil-malata i etiloktil-sukcinata. Očito je da postoji negativna korelacija između koncentracije većine ravnolančanih i acetatnih estera (poput etil-pentanoata, etil-dodekanoata, 2-feniletil-acetata i dr.) te koncentracije estera razgranatog lanca (poput etil-2-metilbutanoata, etil-3-hidroksiheksanoata i dr.) i estera poput dietil-sukcinata, dietil-malata i etiloktil-sukcinata. Prema blizini točaka, koje predstavljaju vina iz različitih godina berbe, može se vidjeti određeno grupiranje vina iz berbe 2021. i 2022. te vina iz ostalih „starijih“ berbi.

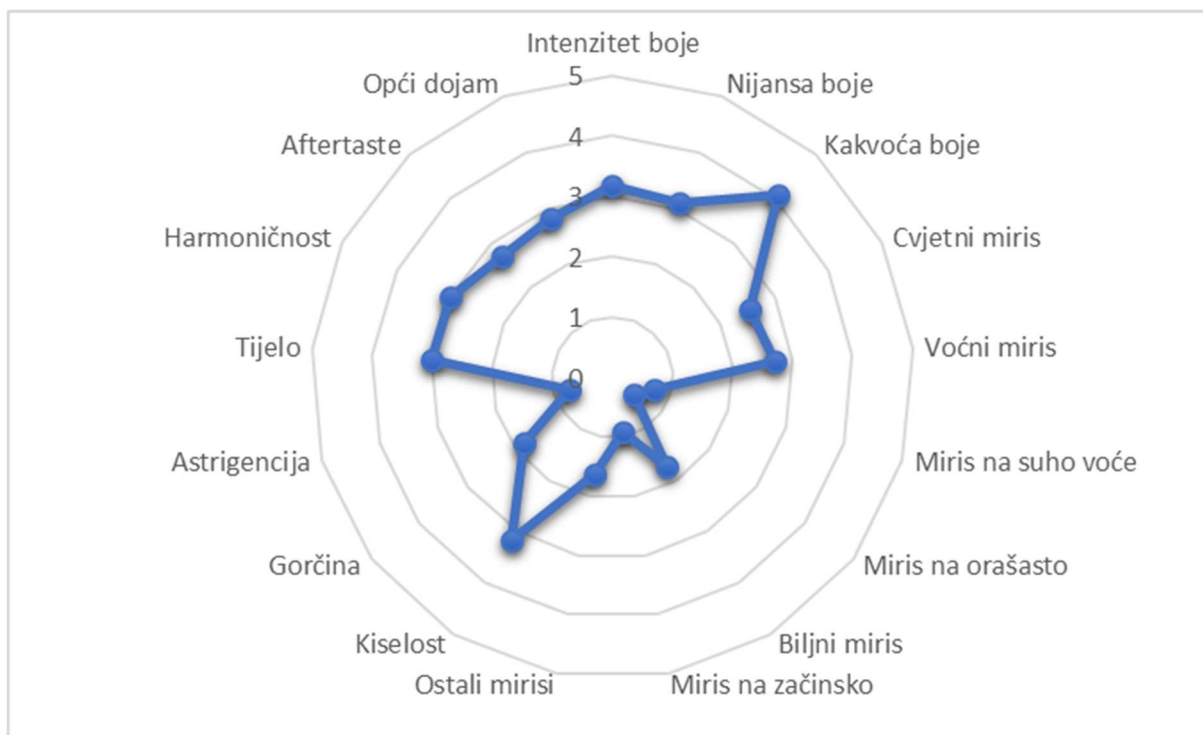
#### 4.4. Senzorna analiza vina

Kako bi se ocijenila kvaliteta vina, osim osnovne kemijske analize i analize aromatskih spojeva, provedeno je i deskriptivno senzorno ocjenjivanje te ocjenjivanje vina metodom redosljeda. Rezultati deskriptivnog senzornog ocjenjivanja prikazani su na grafikonima 5 – 9, a rezultati ocjenjivanja metodom redosljeda u tablici 8. Ocjena pojedinog svojstva predstavlja aritmetičku sredinu ocjena svih ocjenjivača.



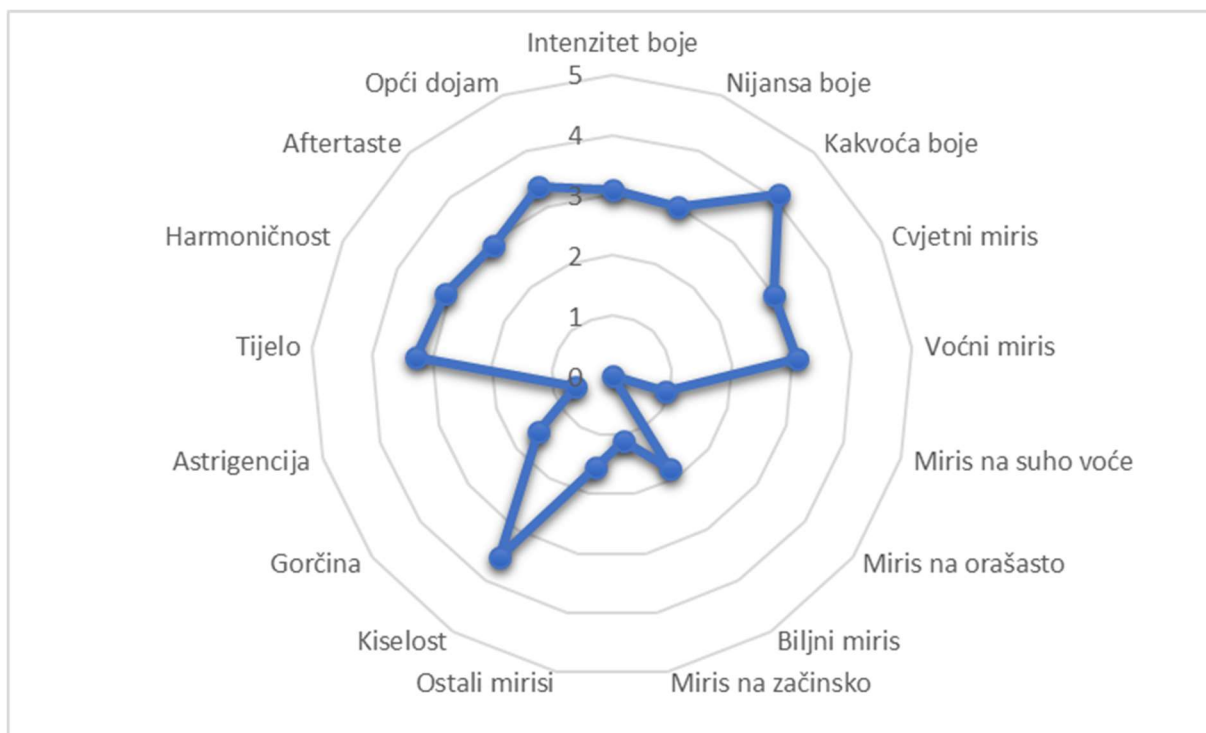
Grafikon 5. Rezultati senzornog ocjenjivanja vina 'Graševina' berbe 2022.

Prvo svojstvo pri ocjenjivanju vina bio je vanjski izgled, odnosno boja. Intenzitet boje vina iz berbe 2022. ocjenjen je kao dobar (2,91), nijansa boje također kao dobra (3,09), a kakvoća boje kao vrlo dobra (4,18). Kakvoća boje opisana je kao živa i otvorena, a nijansa boje kretala se od žuto-zelene do vodeno-žute. Kod ocjene mirisnih svojstava najviše ocjene dobile su cvjetne (3,91) i voćne (4,09) arome, što je vjerojatno posljedica najviše koncentracije etilnih estera. Od ostalih mirisa prepoznati su biljni (1,64), miris na začinsko (1,00), miris na suho voće (0,64) i miris na orašasto (0,55). Najizraženije okusno svojstvo bila je kiselost, koje je ocjenjena kao srednje izražena (3,09). Gorčina je prepoznata u tragovima (1,91), dok je astrigencija bila gotovo nepostojana (0,45). Gorčina je svojstvo koje se često navodi kod senzornog ocjenjivanja vina 'Graševina' i često se osjeti kao zadnje okusno svojstvo. Tijelo je ocijenjeno kao dobro (3,09), kao i harmoničnost (3,45). „Aftertaste“ je ocijenjen kao dobar (3,27) i umjereno dugotrajan, a opći je dojam dobio vrlo dobru ocjenu (3,82).



Grafikon 6. Rezultati senzornog ocjenjivanja vina 'Graševina' berbe 2021.

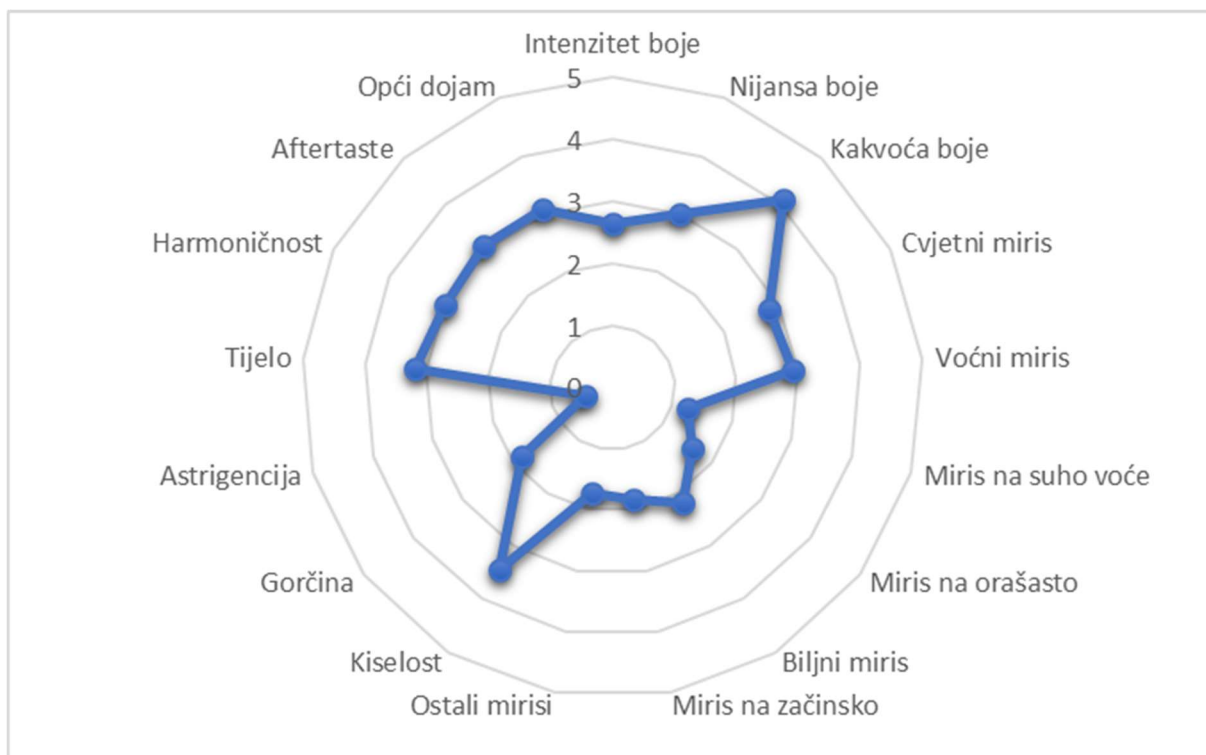
Intenzitet boje vina iz berbe 2021. ocijenjen je kao dobar (3,18), slično kao i kod vina iz berbe 2022. Nijansa boje ocijenjena je također kao dobra (3,09), a kakvoća boje kao vrlo dobra (4,09). Kakvoća boje opisana je kao zagastija i umorna, a nijansa boje opisana je kao žuta s blagim zelenim nijansama. Kod ocjene mirisnih svojstava najviše ocjene dobile su voćne (2,72) i cvjetne (2,54) arome. Većina ocjenjivača naglasila je postojanje umjerenih reduktivnih aroma (kuhano povrće) koje mogu biti posljedica najviše koncentracije metionala među analiziranim vinima te prisutnosti 4-etil fenola, koji je identificiran samo u vinu iz ove berbe. Od ostalih mirisa prepoznati su biljni (1,73), miris na začinsko (0,91), miris na suho voće (0,73), miris na orašasto (0,45) te ostali mirisi (1,64). Među okusnim svojstvima kiselost je ocijenjena kao srednje izražena (3,18), a gorčina kao slabo izražena (1,82). Astrigencija je bila gotovo nepostojana (0,73). Tijelo je ocijenjeno kao dobro (3,00), kao i harmoničnost. „Aftertaste“ je ocijenjen kao najmanje izražen među svim ocjenjivanim vinima (2,72). Opći dojam je također dobio najmanju ocjenu među svim vinima (2,82), vjerojatno zbog prisutnosti nepoželjnih aroma.



Grafikon 7. Rezultati senzornog ocjenjivanja vina 'Graševina' berbe 2020.

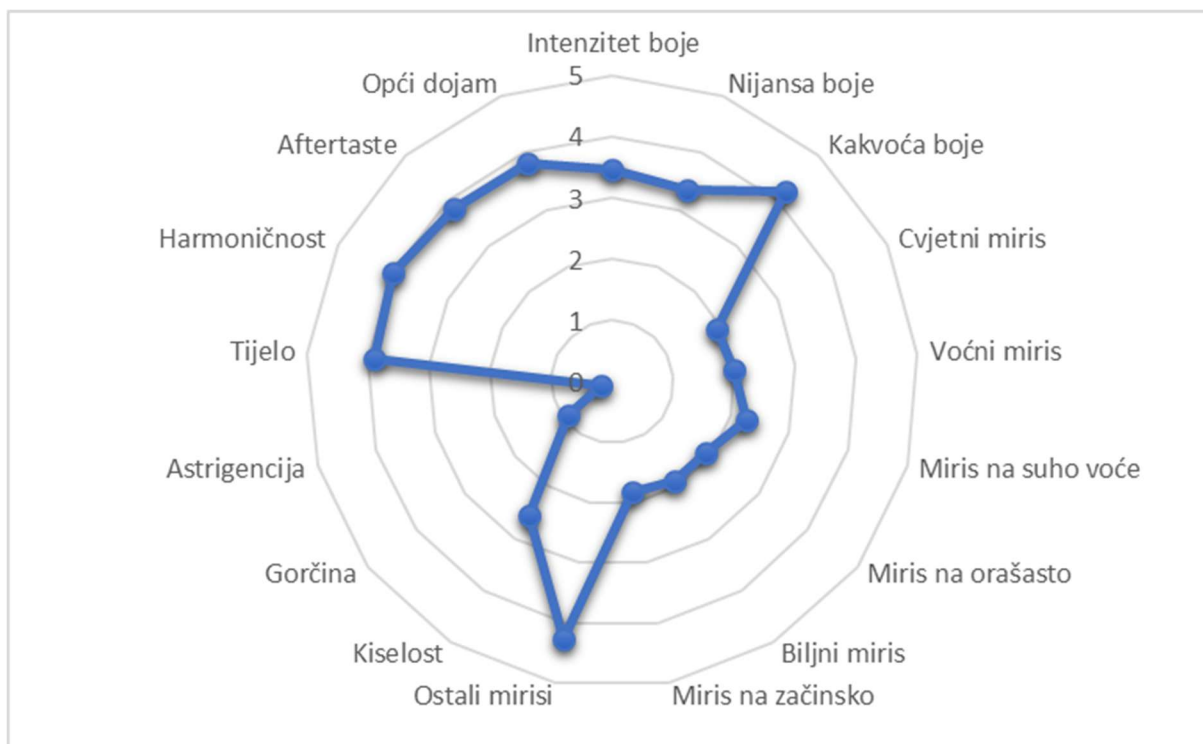
Intenzitet boje vina iz berbe 2020. ocijenjen je kao dobar (3,09), slično kao i kod vina iz berbe 2019., 2021. i 2022. Nijansa boje ocijenjena je također kao dobra (3,00), a kakvoća boje kao vrlo dobra (4,09). Kakvoća boje opisana je kao živa i otvorena, a nijansa boje kretala se od žuto-zelene do žute. Kod ocjene mirisnih svojstava najviše ocjene dobile su voćne (3,09) i cvjetne (3,00) arome. Ugodnim cvjetnim aromama vjerojatno doprinosi feniletanol, koji je u ovom vinu pronađen u najvišoj koncentraciji koja prelazi mirisni prag percepcije. Od ostalih mirisa prepoznati su biljni (1,82), miris na začinsko (1,09), miris na suho voće (0,91) i ostali mirisi (1,55). Pod „ostali mirisi“ neki ocjenjivači naveli su arome rogača. Među okusnim svojstvima kiselost je ocijenjena kao srednje izražena (3,54), a gorčina kao slabo izražena (1,55). Ocjena kiselosti najviša je među svim uzorcima, što je u korelaciji s kemijskom analizom vina gdje je utvrđeno da ovaj uzorak sadržava najviše ukupne kiselosti. Astringencija je ocijenjena kao slabo izražena (0,64), odnosno gotovo nepostojana. Tijelo je ocijenjeno kao dobro (3,27), isto kao i harmoničnost (3,09). „Aftertaste“ je ocijenjen kao dobar (3,09) i srednje dugotrajan, a opći je dojam dobio ocjenu dobar (3,36). Opći dojam ocijenjen je kao bolji u odnosu na vina iz berbe 2019. i 2021.





Grafikon 8. Rezultati senzornog ocjenjivanja vina 'Graševina' berbe 2019.

Intenzitet boje vina iz berbe 2019. ocijenjen je kao dobar (2,63), slično kao i kod vina iz berbe 2022. Nijansa boje ocijenjena je također kao dobra (3,00), a kakvoća boje kao vrlo dobra (4,09). Kakvoća boje opisana je kao živa i otvorena, a nijansa boje kretala se od žuto-zelene do žute. Kod ocjene mirisnih svojstava najviše ocjene dobile su voćne (2,91) i cvjetne (2,81) arome. Od ostalih mirisa prepoznati su biljni (2,18), miris na začinsko (1,82), miris na orašasto (1,63), miris na suho voće (1,27) i ostali mirisi (1,73). Pod „ostali mirisi“ neki ocjenjivači naveli su arome rogača, maslaca i voska. Među okusnim svojstvima kiselost je ocijenjena kao srednje izražena (3,45), a gorčina kao slabo izražena (1,82). Astrigencija je ocijenjena kao slabo izražena (0,45), odnosno gotovo nepostojana. Tijelo je ocijenjeno kao dobro (3,18), isto kao i harmoničnost (3,18). „Aftertaste“ je ocijenjen kao dobar (3,09) i srednje dugotrajan. Opći dojam dobio je ocjenu dobar (3,09), nešto nižu u usporedbi s vinom iz berbe 2020.



Grafikon 9. Rezultati senzornog ocjenjivanja vina 'Graševina' berbe 2018.

Intenzitet boje najstarijeg ocjenjivanog vina iz berbe 2018. ocijenjen je kao dobar (3,45). Dobio je dakle najvišu ocjenu među ocjenjivanim vinima. Nijansa boje ocijenjena je također kao dobra (3,36) te je isto dobila najvišu ocjenu među svim vinima. Kakvoća boje ocijenjena je kao vrlo dobra (4,18), odnosno istom ocjenom kao i kakvoća boje vina iz berbe 2022. Kakvoća boje opisana je kao nešto zagasitija, a nijansa boje kretala se od žute, slamnato-žute do zlatno-žute. Kod ocjene mirisnih svojstava najvišu su ocjenu dobili ostali mirisi (4,27), gdje su navedene ugodne arome meda, voska i maslaca. Od ostalih mirisa prepoznati su miris na suho voće (2,27), voćni (2,00), cvjetni (1,91), biljni (1,91), miris na orašasto (1,91) i miris na začinsko (1,82). Kod mirisa na suho voće posebno su istaknute arome sušenih marelica, dok su kod mirisa na orašasto istaknute arome badema. Utjecaj na navedeni aromatski profil zasigurno je uvjetovan najvišom koncentracijom terpena i norisoprenoida koja je identificirana u ovom vinu. Među okusnim svojstvima kiselost je ocijenjena kao srednje izražena (2,56), ali je postigla najnižu ocjenu među ocjenjivanim vinima. Gorčina je ocijenjena kao slabo izražena (0,91), a astrigencija je bila gotovo nepostojana (0,18). Tijelo je ocijenjeno najvišom ocjenom među svim vinima (3,91), kao i harmoničnost (4,00). „Aftertaste“ je ocijenjen kao vrlo dobar (3,82) te najizraženiji i najdugotrajniji. Opći dojam je postigao ocjenu vrlo dobar (3,82), identično kao i vino iz berbe 2022., iako se vina mirisno i okusno jako razlikuju.

Tablica 8. Rezultati ocjenjivanja vina 'Graševina' metodom redoslijeda

Ocjenjivač	Graševina 2018.	Graševina 2019.	Graševina 2020.	Graševina 2021.	Graševina 2022.
1. ocjenjivač	2	3	4	5	1
2. ocjenjivač	2	4	3	5	1
3. ocjenjivač	2	3	4	5	1
4. ocjenjivač	3	4	2	5	1
5. ocjenjivač	1	2	3	5	4
6. ocjenjivač	1	4	3	5	2
7. ocjenjivač	1	3	4	5	2
8. ocjenjivač	1	4	3	5	2
9. ocjenjivač	2	5	3	4	1
10. ocjenjivač	1	3	4	5	2
11. ocjenjivač	1	4	3	5	2
<b>Σ (ukupno)</b>	<b>17</b>	<b>39</b>	<b>36</b>	<b>54</b>	<b>19</b>
<b>Poredak</b>	<b>1.</b>	<b>4.</b>	<b>3.</b>	<b>5.</b>	<b>2.</b>

Rezultati ocjenjivanja vina metodom redoslijeda prikazani su u tablici 8. Vidljivo je da je većina ocjenjivača odabrala vino iz berbe 2018. kao najbolje te je ukupno prema zbroju ocjena imalo najmanji broj bodova (17), što znači da je ocijenjeno kao najbolje vino među svim uzorcima. Iza njega slijedi vino iz berbe 2022. sa zbrojem ocjena 19, što ga svrstava na drugo mjesto prema kvaliteti organoleptičkih karakteristika. Vina iz berbe 2019. i 2020. neznatno se razlikuju u zbroju ocjena pri čemu je vino iz 2020. zauzelo treće, a vino iz 2019. četvrto mjesto prema rezultatima ocjenjivanja ovom metodom. Uvjerljivo najlošije rangirano vino sa zbrojem ocjena 54 jest vino iz berbe 2021., koje je većina ocjenjivača svrstala na posljednje mjesto prema kvaliteti. Takav rezultat zasigurno je posljedica nešto lošijeg aromatskog profila navedenog vina. Usporedbom rezultata dobivenih deskriptivnom metodom te metodom redoslijeda vidljiva je njihova sljedivost tj. i deskriptivno najbolje opisana vina bila su ona iz berbi 2018. i 2022. dok su uvjerljivo najlošija opisna svojstva vezana uz vino iz berbe 2021.

## 5. Zaključak

Cilj ovoga rada bio je analizirati osnovni fizikalno-kemijski sastav i aromatski profil vina 'Graševina' iz različitih godina berbe te ih međusobno usporediti. Drugi cilj rada bio je provesti senzornu analizu vina te pronaći poveznice između kemijskog sastava i senzornog profila vina. Osnovnom analizom vina utvrđeno je da postoje veće razlike u koncentraciji alkohola, ekstrakta, ukupnog šećera, kiselosti i SO<sub>2</sub> te manje razlike u koncentraciji octene kiseline i pH-vrijednost vina iz različitih godina berbe. Glavni razlozi varijacija navedenih parametara su različiti klimatski uvjeti koji su utjecali na rast i razvoj grožđa u svakoj godini, zatim različiti postupci tijekom prerade grožđa i alkoholne fermentacije te naposljetku promjene koje su se događale tijekom dozrijevanja vina u bocama. Analiza hlapljivih spojeva primjenom metode plinske kromatografije i masene spektrometrije pokazala je da postoje razlike u sadržaju hlapljivih spojeva među vinima iz različitih godina berbe. Razlika je pronađena u koncentracijama alkohola, estera, masnih kiselina, terpena, norisoprenoida te ostalih spojeva poput metionola i furfurala. Najvišu koncentraciju alkohola sadržavalo je vino iz berbe 2022., estera vino iz berbe 2019. (razlika je ponajprije bila rezultat promjena u koncentraciji nekih estera poput dietil-sukcinata), masnih kiselina vino iz berbe 2020., a terpena i norisoprenoida vino iz berbe 2018. Značajan utjecaj na promjene u sadržaju hlapljivih spojeva, osim klimatskih uvjeta i procesa vinifikacije, zasigurno su imale fizikalno-kemijske reakcije koje su se događale tijekom dozrijevanja vina. Senzorna analiza vina potvrdila je povezanost s analizom hlapljivih spojeva te je utvrđeno da postoje razlike u organoleptičkim karakteristikama vina. Kod većine vina nije pronađena znatnija razlika u intenzitetu, nijansi i kakvoći boje, ali zato su varijacije u mirisnim i okusnim svojstvima bile očigledne. Vino iz berbe 2022. odlikovalo se izraženim cvjetnim i voćnim aromama, dok su kod vina iz berbe 2018. prevladavale arome sušenog voća i meda. Kao najbolje ocijenjeno vino metodom redosljeda izdvojilo se je ono iz berbe 2018., dok je najlošiji rezultat postiglo vino iz berbe 2021. Ovim istraživanjem dobiven je uvid u aromatski profil vina 'Graševina' iz različitih godina berbe te do kakvih promjena dolazi tijekom dozrijevanja vina. Zbog vrlo malog broja radova koji se bave ovom temom, posebice istraživanjem aromatskog profila 'Graševine', potrebna su dodatna istraživanja kako bi se dobio bolji uvid utjecaja klimatskih uvjeta, različitih tehnika vinifikacije i trajanja dozrijevanja na kemijski sastav vina.

## 6. Literatura

1. Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju – Podatci iz Vinogradarskog registra za 2022. godinu. <https://www.apprrr.hr/registri/> - pristup 20.5.2024.
2. Baumes R. (2009). Wine Aroma Precursors. U: Wine Chemistry and Biochemistry (Ur M.V. Moreno-Arribas M.V., Polo M.C.), Springer Science and Business Medi. LLC. 251-274
3. Capone D.L., Sefton M.A., Hayasaka Y., Jeffery D.W. (2010). Analysis of precursors to wine odorant 3-mercaptohexan-1-ol using HPLC-MS/MS: Resolution and quantitation of diastereomers of 3-S-cysteinylohexan-1-ol and 3-S-glutathionylhexan-1-ol. *J. Agric. Food Chem.* 58: 1390-1395
4. Capone, D.L., Sefton, M.A., Jeffery, D.W. (2011). Application of a modified method for 3-mercaptohexan-1-ol determination to investigate the relationship between free thiol and related conjugates in grape juice and wine. *J. Agric. Food Chem.* 59: 4649–4658.
5. Capone D.L., Jeffery D.W., Sefton M.A. (2012). Vineyard and fermentation studies to elucidate the origin of 1,8-cineole in Australian red wine. *J. Agric. Food Chem.* 60:2281-2287
6. Carlin, S., Lotti, C., Correggi, L., Mattivi, F., Arapitsas, P., Vrhovšek, U. (2022). Measurement of the Effect of Accelerated Aging on the Aromatic Compounds of Gewürztraminer and Teroldego Wines, Using a SPE-GC-MS/MS Protocol. *Metabolites.* 12, 180
7. Chen E. C. H. (1978). The relative contribution of Ehrlich and biosynthetic pathways to the formation of fusel alcohols. *Journal of the American Society of Brewing Chemists.* 36: 39–43
8. Clemente-Jimenez J. M., Mingorance-Cazorla L., Martinez-Rodriguez S., Las Heras-Vazquez F. J., Rodriguez-Vico, F. (2004). Molecular characterization and oenological properties of wine yeasts isolated during spontaneous fermentation of six varieties of grape must. *Food Microbiology.* 21: 149–155
9. Danilewicz, J.C. (2011). Mechanism of Autoxidation of Polyphenols and Participation of Sulfite in Wine: Key Role of Iron. *Am. J. Enol. Vitic.* 62: 319–328
10. Deak, I., Habschied, K., Mesić, J., Babić, J., Kovačević, D., Nedović, V., Mastanjević, K. (2021). The Influence of Fermenting Yeast on the Sensory Properties of Graševina Wine. *Foods.* 10, 2752
11. Di Bella, G., Porretti, M., Albergamo, A., Mucari, C., Tropea, A., Rando, R., Nava, V., Lo Turco, V., Potortì, A.G. (2022). Valorization of Traditional Alcoholic Beverages: The Study of the Sicilian Amarena Wine during Bottle Aging. *Foods.* 11, 2152
12. Dubourdieu D., Tominaga T. (2009). Polyfunctional Thiol Compounds. U: Wine Chemistry and Biochemistry (Ur M.V. Moreno-Arribas M.V., Polo M.C.), Springer Science and Business Medi. LLC. 275-293

13. Echave, J., Barral, M., Fraga-Corral, M., Prieto, M.A., Simal-Gandara, J. (2021). Bottle aging and storage of wines: A review. *Molecules*. 26, 713
14. Ferreira V., Cacho J. (2009). Identification of Impact Odorants of Wines. U: *Wine Chemistry and Biochemistry* (Ur M.V. Moreno-Arribas M.V., Polo M.C.), Springer Science and Business Medi. LLC. 393-415
15. Ferreira, V. (2010). Volatile aroma compounds and wine sensory attributes. U: *Managing wine quality: Viticulture and wine quality* (Ur. Reynolds, G. A.). Woodhead Publishing Limited. Boston/New York. 3-23
16. Garde-Cerdán, T., Sáenz de Urturi, I., Murillo-Peña, R., Iribarren, M., Marín-San Román, S., Rubio-Bretón, P., Pérez-Álvarez, E.P. (2022). Bottle Aging Affected Aromatic and Phenolic Wine Composition More than Yeast Starter Strains. *Appl. Sci*. 12, 4478
17. Herjavec S. (2019). *Vinarstvo*. Nakladni zavod Globus, Zagreb
18. Houtman A. C., Morais J., Du Plessis C. S. (1980). Factors affecting the reproducibility of fermentation of grape juice and of the aroma composition of wines. I Grape maturity, sugar, inoculation concentration, aeration, juice turbidity and ergosterol. *Vitis*. 19: 37-54
19. Jackson R. (2008). *Wine Science: Principles and Applications*. Third Edition. Academic Pres
20. Janusz A., Capone D.L., Puglisi C.J., Perkins M.V., Eelsey G.M., Sefton M.A. (2003). (E)-1-(2,3,6-Trimethylphenyl)buta-1,3-diene: A potent grape-derived odorant in wine. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 51: 7759-7763
21. Karbowski, T., Crouvisier-Urien, K., Lagorce, A., Ballester, J., Geoffroy, A., Roullier-Gall, C., Chanut, J., Gougeon, R.D., SchmittKopplin, P., Bellat, J.P. (2019). Wine aging: A bottleneck story. *npj Sci. Food*. 3: 1-7
22. Lambrechts M., Pretorius I. S. (2000). Yeast and its importance to wine aroma. *South African Journal for Enology and Viticulture*. 21: 97-129
23. Ling, M.Q., Xie, H., Hua, Y.B., Cai, J., Li, S.Y., Lan, Y.B., Li, R.N., Duan, C.Q., Shi, Y. (2019). Flavor profile evolution of bottle aged rose and white wines sealed with different closures. *Molecules*. 24, 836
24. Maletić E. (2023). Sorte vinove loze – „klasične“ i druge svjetske sorte - power point prezentacija. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zagreb
25. 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
26. Maletić E., Preiner D., Pejić I., Karoglan Kontić J., Šimon S., Husnjak S., ... Merkaš S. (2015). Sorte vinove loze Hrvatskog zagorja. Županija Krapinsko-zagorska. Krapina
27. Martelanc, M., Antalick, G., Radovanović Vukajlović, T., Mozetič Vodopivec, B., Sternad Lemut, M., Hosseini, A., Obradović, V., Mesić, J., Butinar, L. (2024). Aromatic Characterization of Graševina Wines from Slavonia and Podunavlje Sub-Regions. *Beverages*. 10, 24

28. Mirošević N., Vranić I., Soldo Čamak V., Božićević T.,..., Bolić J. (2013). Kutjevačka Graševina – Nadarbina zlatne doline. Golden marketing-Tehnička knjiga. Zagreb
29. Mirošević, N., Turković, Z. (2003). Ampelografski atlas. Golden marketing. Zagreb
30. Molina A. M., Swiegers J. H., Varela C., Pretorius I. S., Agosin, E. (2007). Influence of wine fermentation temperature on the synthesis of yeast-derived volatile aroma compounds. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 77: 675-687
31. Morata A., Loira I., Tesfaye W., Bañuelos M.A., González C., Suárez Lepe J.A. (2018). *Lachancea thermotolerans* Applications in Wine Technology. *Fermentation*. 4(3), 53
32. Moreno-Arribas, M. V., Polo, C. (2009). *Wine Chemistry and Biochemistry*. Springer Science and Business Medi. LLC
33. Panighel A., Flamini R. (2014). Applications of Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography/Mass Spectrometry (SPME-GC/MS) in the Study of Grape and Wine Volatile Compounds. *Molecules*. 19: 21291-21309
34. Parker M., Pollnitz A.P., Cozzolino D., Francis I.L., Herderich M.J. (2007). Identification and quantification of a marker compound for 'pepper' aroma and flavor in Shiraz grape berries by combination of chemometrics and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem*. 55: 5948-5955
35. Peyrot des Gachons C., Tominaga T., Dubourdieu D. (2000). *J. Agric. Food Chem.*, 48: 3387–3391
36. Potrebića F. (1982). Povijest vinogradarstva i podrumarstva u Požeškoj kotlini. RO „Zrinski“ TIZ. Čakovec
37. Preiner D. (2022). Graševina – simbol hrvatskog vinogradarstva. *Glasnik zaštite bilja*. 5/2022
38. Preiner D., Maletić E., Karoglan Kontić J.,..., Šimon S. (2022). Katalog registriranih klonova sorata vinove loze Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet. Zagreb
39. Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. (2006): *Handbook of Enology Volume 2, Second Edition. The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, West Sussex, England
40. Robinson J., Harding J., Vouillamoz J. (2012). *Winen Grapes: A complete guide to 1,368 vine varieties, including their origins and flavours*. Harper Collins. NY
41. Robinson A. L., Boss P. K., Solomon P. S., Trengove R. D., Heymann H., Ebeler S. E. (2014) Origins of grape and wine aroma. Part 1. Chemical components and viticultural impacts. *American Journal of Enology and Viticulture*. 65 (1)
42. Roland A., Schneider R., Guernevé C.L., Razungles A., Cavelier F. (2010). Identification and quantification by LC-MS/MS of a new precursor of 3-mercaptohexan-1-ol (3MH) using stable isotope dilution assay: Elements for understanding the 3MH production in wine. *Food Chem*. 121: 847-855
43. Roland, A., Schneider, R., Razungles, A., Cavelier, F. (2011). Varietal Thiols in Wine: Discovery, Analysis and Applications. *Chem. Rev*. 111: 7355-7376

44. Saerens S.M.G., Verstappen K.J., Van Laere S.D.M., Voet A.R.D., Van Dijck P., Delvaux F.R., Thevelein J.M. (2006). The *Saccharomyces cerevisiae* EHT1 and EEB1 genes encode novel enzymes with medium-chain fatty acid ethyl ester synthesis and hydrolysis capacity. *J. Biol. Chem.* 281: 4446–4456
45. Schwab W., Davidovich-Rikanati R., Lewinsohn E. (2008). Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. *The Plant Journal.* 54: 712-732
46. Sefton M.A., Skouroumounis G.K., Massy-Westropp R.A., Williams P.J. (1989). *Aust. J. Chem.*, 42, 2071
47. Sieber, T.E., Wood C., Eelsey G.M., Pollnitz A.P. (2008). Determination of rotundone, the pepper aroma impact compound, in grapes and wine. *J. Agric. Food Chem.* 56: 3745-3748
48. Silva Ferreira A.C., Guedes de Pinho P., Rodrigues P., Hogg T. (2002). Kinetics of oxidative degradation of white wines and how they are affected by selected technological parameters. *J. Agric. Food Chem.* 50: 5919-5924
49. Simpson R.F. (1978). *Chem. Ind.*, 1, 37
50. Slaghenaufi D., Ugliano M. (2018). Norisoprenoids, Sesquiterpenes and Terpenoids Content of Valpolicella Wines During Aging: Investigating Aroma Potential in Relationship to Evolution of Tobacco and Balsamic Aroma in Aged Wine. *Front. Chem.* 6,66
51. Smith, M.E., Bekker, M.Z., Smith, P.A., Wilkes, E.N. (2015). Sources of volatile sulfur compounds in wine. *Aust. J. Grape Wine Res.* 21: 705-712
52. Soledad Perez-Coello M., Consuelo Diaz-Maroto M. (2009). Volatile Compounds and Wine Aging. U: Wine Chemistry and Biochemistry (Ur M.V. Moreno-Arribas M.V., Polo M.C.), Springer Science and Business Media. LLC. 295-311
53. Song J.-Q., Li H., Liang Y.-Y., Tao Y.-S., Mi C.-Q., Qian M. C., Wang H. (2013). Characterisation of volatile components of red and sparkling wines from a new wine grape cultivar 'Meili' (*Vitis vinifera* L.). *Vitis.* 52(1): 41-48
54. Strauss C.R., Wilson B., Anderson R., Williams P.J. (1987). Development of precursors of C13 norisoprenoid flavorants in Riesling grapes. *American Journal of Enology and Viticulture.* 38: 23-27
55. Strobl, M. (2018). Red Wine Bottling and Packaging. *Red Wine Technol.* 323–339
56. Swiegers J. H., Bartowsky E. J., Henschke P. A., Pretorius I. S. (2005). Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Australian Journal of Grape and Wine Research.* 11: 139-173
57. Šikuten I., Jeromel A., Budžaki A., Tomaz I., Jagatić Korenika A.M. (2023). Aromatski profil vina priznatih klonova sorte 'Graševina'. *Glasnik zaštite bilja.* 5/2023
58. Šuklje K., Čuš F. (2021). Modulation of Welschriesling wine volatiles through the selection of yeast and lactic acid bacteria. *OENO One.* 3: 245-260
59. Tao, Y., García, J.F., Sun, D.W. (2014). Advances in Wine Aging Technologies for Enhancing Wine Quality and Accelerating Wine Aging Process. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 54: 817-835



60. Tomašević, M., Lukić, K., Ćurko, N., Jagatić Korenika, A.-M., Preiner, D.; Tuščić, V., Jeromel, A.; Kovačević Ganić, K. (2023). The Influence of Grape Clone and Yeast Strain on Varietal Thiol Concentrations and Sensory Properties of Graševina Wines. *Foods*. 12, 985
61. Tominaga T., Peyrot des Gachons C., Dubourdieu D. (1998a). *J. Agric. Food Chem.*, 46: 5215-5219
62. Tominaga, T., Murat, M.-L., Dubourdieu, D. (1998b). 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
63. Tominaga, T., Guimbertau, G., Dubourdieu, D. (2003). Role of certain volatile thiols in the bouquet of aged Champagne wines. *J. Agric. Food Chem.* 51: 1016–1020
64. Tominaga, T., Dubourdieu, D. (2006). A novel method for quantification of 2-methyl-3-furanthiol and 2-furanmethanethiol in wines made from *Vitis vinifera* grape varieties. *J. Agric. Food Chem.* 54: 29–33
65. Ugliano M., Henschke P.A. (2009). *Yeasts and Wine Flavour*. U: *Wine Chemistry and Biochemistry* (Ur M.V. Moreno-Arribas M.V., Polo M.C.), Springer Science and Business Medi. LLC. 314-392
66. Ugliano M., Kwiatkowski M., Vidal S., Capone D.L., Solomon M.R., Waters E.J (2010). The role of copper and glutathione addition and oxygen exposure in the evolution of key aroma compounds of Sauvignon blanc. In *Proceedings of the 14th Australian Wine Industry Technical Conference*. (ur. R. Blair et al.), p. 316. Adelaide. Australia
67. Vázquez-Pateiro, I., Arias-González, U., Mirás-Avalos, J.M., Falqué, E. (2020). Evolution of the aroma of Treixadura wines during bottle aging. *Foods*. 9, 1419
68. Vidal, J.-C., Caillé, S., Samson, A., Salmon, J.-M. (2017). Comparison of the effect of 8 closures in controlled industrial conditions on the shelf life of a red wine. *BIO Web Conf.* 9, 02024
69. Waterhouse, A.L., Sacks, G.L., Jeffery, D.W. (2016). *Understanding Wine Chemistry*. John Wiley & Sons
70. Waterhouse, A.L., Miao, Y. (2021). Can Chemical Analysis Predict Wine Aging Capacity? *Foods*. 10, 654
71. Yang, Y., Jin, G.J., Wang, X.J., Kong, C.L., Liu, J., Tao, Y.S. (2019). Chemical profiles and aroma contribution of terpene compounds in Meili (*Vitis vinifera* L.) grape and wine. *Food Chem.* 284: 155-161.
72. Yunoki K., Hirose S., Ohnishi, M. (2007). Ethyl esterification of long-chain unsaturated fatty acids derived from grape must by yeast during alcoholic fermentation. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry.* 71: 3105-3109
73. Zhang, D., Wei, Z., Han, Y., Duan, Y., Shi, B., Ma, W. (2023). A Review on Wine Flavour Profiles Altered by Bottle Aging. *Molecules.* 28, 6522

## Prilozi

### Prilog A

Listić za opisno ocjenjivanje vina

	INTENZITET SVOJSTVA Slabo izraženo 0-1 Srednje izraženo 2-3 Jako izraženo 4-5	UZORAK
BOJA	<i>INTENZITET</i>	0--1--2--3--4--5
	<i>NIJANSA (zelena, žuta, slamnata)</i>	0--1--2--3--4--5
	<i>KAKVOĆA</i> (živa, otvorena, zagasita, umorna)	0--1--2--3--4--5
MIRIS	<i>Cvjetni</i> (akacija, bazga, lipa, jasmin, jorgovan, ruža, ljubica)	0--1--2--3--4--5
	<i>Voćni</i> (marelica, banana, dunja, limun, ananas)	0--1--2--3--4--5
	<i>Suho/prosušeno voće</i> (grožđice, smokve, šljive)	0--1--2--3--4--5
	<i>Orašasto voće</i> (lješnjak, badem)	0--1--2--3--4--5
	<i>Biljni</i> (trava, sijeno, čaj, suho lišće, paprika)	0--1--2--3--4--5
	<i>Začinsko/aromatično bilje</i> (vrijesak, lovor, menta, papar, anis)	0--1--2--3--4--5
	<i>Ostalo</i> (med, vosak, maslac, rogač)	0--1--2--3--4--5
OKUS	<i>KISELOST</i>	0--1--2--3--4--5
	<i>GORČINA</i>	0--1--2--3--4--5
	<i>ASTRIGENCIJA</i>	0--1--2--3--4--5
	<i>TIJELO</i>	0--1--2--3--4--5
	<i>HARMONIČNOST</i>	0--1--2--3--4--5
	<i>AFTERTASTE</i>	0--1--2--3--4--5
OPĆI DOJAM		0--1--2--3--4--5
METODA REDOSLIJEDA/BOLJI UZORAK OCJENOM I		

## Životopis

Matija Vasilj rođen je 20. ožujka 2001. u Požegi. Osnovnu školu završio je u Kutjevu (2007. – 2015.), a prirodoslovno-matematičku gimnaziju u Požegi (2015. – 2019.). Od 2019. do 2022. pohađao je Prijediplomski studij Hortikultura na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu te stekao akademski naziv sveučilišnog prvostupnika inženjera agronomije. Dobitnik je nagrade za marljivost i ostvarenje uzornih rezultata u studiranju te najveće pohvale za visok prosjek ocjena (*summa cum laude*). 2022. godine upisao je Diplomski studij Vinogradarstvo i vinarstvo na istome Fakultetu. Tijekom studija odrađivao je stručnu praksu na Vinogradarsko-vinarskome pokušalištu Jazbina u Zagrebu te u Vinariji Kutjevo d.d. u Kutjevu. Berbu 2021. odradio je u Vinariji Mladenić pokraj Kutjeva kao radnik na preradi grožđa, a berbu 2023. u Vinariji PP Orahovica na poziv tadašnjeg enologa. Uza studij aktivno sudjeluje u radu obiteljskog poljoprivrednog gospodarstva. Redoviti je posjetitelj vinskih sajmova diljem Hrvatske te je dosad kao gost sudjelovao na više od 20 vinskih radionica. Zahvaljujući uspjehu na studiju četiri je godine zaredom (2019. – 2023.) primao državnu STEM stipendiju u području biotehnoloških znanosti. Služi se engleskim jezikom i osnovnim računalnim programima.