

Utjecaj stabilacije na sastav i senzorna svojstva vina 'Malvasija dubrovačka'

Cirimotić, Iva-Antonia

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:204:374395>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-12**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**Utjecaj stabulacije na sastav i senzorna svojstva vina
‘Malvasija dubrovačka’**

DIPLOMSKI RAD

Iva-Antonia Cirimotić

Zagreb, lipanj, 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:

Vinogradarstvo i vinarstvo

**Utjecaj stabulacije na sastav i senzorna svojstva vina
‘Malvasija dubrovačka’**

DIPLOMSKI RAD

Iva-Antonia Cirimotić

Mentor:

Izv. prof. dr. sc. Ana-Marija Jagatić Korenika

Zagreb, lipanj, 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Iva-Antonia Cirimotić**, JMBAG 0178118337, rođena 28.ožujka 1998. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

Utjecaj stabulacije na sastav i senzorna svojstva vina ´Malvasija dubrovačka´

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 studentice, Ive-Antonie Ćirimotić , JMBAG 0178118337, naslova

Utjecaj stabulacije na sastav i senzorna svojstva vina 'Malvasija dubrovačka'

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo:

potpisi:

1. Izv. prof. dr. sc. Ana-Marija Jagatić Korenika, mentor _____
2. Prof. dr. sc. Ana Jeromel, član _____
3. Doc. dr. sc. Ivana Rajnović, član _____

Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1. Cilj istraživanja	2
2. Pregled literature	3
2.1. Malvasija dubrovačka bijela	3
2.1.1. Biologija sorte i gospodarska svojstva	4
2.2. Tioli	6
2.3. Stabulacija	11
3. Materijali i metode	14
3.1. Kvasci u istraživanju.....	16
3.1.1. Lalvin QA23.....	16
3.1.2. Zymaflore® Xarom	16
3.1.3. Zymaflore® X5.....	17
3.1.4. Zymaflore Klima.....	17
3.2. Osnovna fizikalno-kemijska analiza.....	18
3.2.1. Alkoholna jakost	18
3.2.2. Reducirajući šećeri.....	19
3.2.3. Ukupna i hlapljiva kiselina	21
3.2.4. pH vrijednost.....	23
3.2.5. Ukupni ekstrakt i ekstrakt bez šećera	23
3.3. Senzorno ocjenjivanje vina	24
3.4. Statistička analiza.....	24
4. Rezultati i rasprava	25
4.1. Analize mošta i vina.....	25
4.2. Rezultati senzornog ocjenjivanja.....	27

5. Zaključak	29
6. Popis literature.....	30
Životopis.....	34

Sažetak

Diplomskog rada studentice **Ive-Antonie Cirimotić**,

Utjecaj stabulacije na sastav i senzorna svojstva vina 'Malvasija dubrovačka'

Aktualni trendovi u potrošnji vina nameću potrebu za proizvodnjom laganijih, svježih i aromatičnih bijelih vina, što uz nižu alkoholnu jakost, podrazumijeva optimalnu kiselost te intenzivne primarne ili sekundarne arome. Kao najjednostavnija rješenja u proizvodnji takvog stila vina, koriste se različite selekcije kvasaca koje pridonose poželjnim senzornim svojstvima vina kroz sintezu i oslobađanje različitih grupa aromatskih spojeva. Kao jedna od alternativnih tehnologija proizvodnje, koristi se i stabulacija, miješanje mošta s talogom pri 0-2 °C u trajanju 4-21 dana, prije početka alkoholne fermentacije. Cilj postupka je ekstrahirati prekursore tiola i estera, koji tijekom fermentacije doprinose razvoju voćnih aroma vina. U ovom radu primijenjena je tehnika stabulacije u proizvodnji vina 'Malvasija dubrovačka', nakon čega su kemijski sastav i senzorna svojstva uspoređeni s vinima dobivenim standardnom preradom uz upotrebu različitih komercijalnih kvasaca.

Ključne riječi: Malvasija dubrovačka, *Saccharomyces cerevisiae*, senzorno ocjenjivanje, stabulacija

Summary

Of the master's thesis – student **Iva-Antonia Cirimotić**,

The effect of stabulation on the composition and sensory properties of Malvasia dubrovačka wine

Current trends in wine consumption demand the production of light, fresh, and more aromatic white wines. This, along with lower alcoholic strength, implies optimal acidity and intense primary or secondary aromas. The simplest solutions in producing such wine styles involve using different yeast selections that contribute to the desired wine sensory properties through the synthesis and release of different groups of aromatic compounds. As an alternative production technology, stabulation is also used, which involves mixing the must with sediment at 0-2°C for 4-21 days before fermentation begins. The process aims to extract precursors of thiols and esters, which contribute to fruity aroma development during the fermentation. In this study, the stabulation technique was applied in the production of 'Malvasia dubrovačka' wine, after which the chemical composition and sensory properties were compared with wines obtained by standard processing using different commercial yeasts.

Keywords: Malvasia dubrovačka, *Saccharomyces cerevisiae*, sensory evaluation, stabulation.

1. Uvod

Malvasija dubrovačka smatrala se autohtonom sortom iz Konavala, odnosno dubrovačke regije, iako podrijetlo nije utvrđeno. Glavno područje uzgoja su Konavle, ali se uzgaja i na Pelješcu, Korčuli i u ostalim dijelovima Dalmacije. Postoji nekoliko vrhunskih proizvođača Malvasije dubrovačke bijele u Konavlima i ostalim dijelovima Dalmacije.

Trendovi u proizvodnji vina zahtijevaju proizvodnju laganijih, svježih i aromatičnih bijelih vina, što je uz današnje klimatske promjene i zatopljenje teže dobiti jer se stvaraju velike količine šećera i kao posljedica su vina s visokom jačinom alkohola. To pred vinare postavlja nove izazove i najjednostavniji pristup je korištenje selekcioniranih kvasaca koji pridonose poželjnim senzornim svojstvima vina kroz sintezu i oslobađanje različitih grupa aromatskih spojeva. To podrazumijeva optimalnu kiselost te intenzivne primarne ili sekundarne arome. Kao jedna od alternativnih tehnologija proizvodnje, koristi se i stabulacija. Stabulacija je novije poznata tehnika proizvodnje vina, a svodi se na miješanje mošta s grubim talogom kroz određeno vrijeme (četiri dana do dva tjedna) pri niskim temperaturama (-2 do 0 °C) u inertnim uvjetima kako bi se izbjegla nekontrolirana fermentacija. Najvažniji dio je održavanje kontakta između mošta i taloga. Cilj je ekstrahirati pozitivne spojeve, prekursore tiola i estera kao i ostale spojeve koji bi mogli pridonijeti okusu vina, iz taloga u mošt stoga je potrebno promiješati talog svakih 12 sati (uz CO₂ ili suhi led).

Tioli su pozitivni sumporni spojevi koji daju vinu karakteristične arome, poput citrusa, tropskog voća i cvijeća. Niske temperature usporavaju rad enzima i kvasca, što dovodi do boljeg nakupljanja tiola u vinu. Neke tehnike u vinogradu i vinskom podrumu mogu imati značajan utjecaj na izraženost tiola i estera u kasnije dobivenom vinu. Inokulacija kvascima potrebna je za pretvorbu prekursora tiola u aromatične molekule djelovanjem enzima β-liaze endopeptidaze.

U ovom radu, mošt sorte 'Malvasija dubrovačka' inokuliran je s četiri različita komercijalna kvasca. Dobiveni su rezultati koji opisuju razlike u sastavu i svojstvima vina proizvedenim primjenom stabulacije u odnosu na vina proizvedena standardnom tehnologijom uz primjenu kvasaca Zymaflore® Xarom, Zymaflore® X5 i Zymaflore® Klima (Laffort).

1.1. Cilj istraživanja

Cilj rada je bio utvrditi osnovni fizikalno-kemijski sastav i senzorni profil vina 'Malvasija dubrovačka' proizvedene tehnikom stabulacije u odnosu na tretmane sa standardnom tehnologijom proizvodnje i različitim sojevima kvasaca.

2. Pregled literature

2.1. Malvasija dubrovačka bijela

Smatra se udomaćenom sortom iz Konavala, odnosno dubrovačke regije. Podrijetlo joj nije utvrđeno, a prema Maletić i sur. (2015) sinonimi za sortu su Malvasia di Lipari, Malvasia di Sardegna, Malvasia di Bosa, Greco di Gerace (Italija), Malvasia de Sitges, Malvasia de Banyalbufar, Malvasia de Lanzarote (Španjolska) Malvasia de La Palma, Malvasia de Tenerife, Malvasia de Calgliari. Iako se prije smatralo da su ovi sinonimi zasebne sorte, ustanovljeno je i dokazima potkrepljeno da su to sinonimi za istu sortu (Crespan i sur. 2006). Neki je smatraju autohtonom hrvatskom sortom i vjerovalo se da se izvan tog uskog područja nigdje ne uzgaja, a spominje se u dokumentima Dubrovačkog arhiva iz 14. stoljeća. Ipak, drugi literaturni izvori i podaci o SSR profilu ukazuju da je 'Malvasija dubrovačka bijela' potekla od grčke sorte 'Malvazija' čije se ime veže uz grčku luku Monemvasia na Peloponezu, mjesto iz kojeg se izvozilo vino u druge krajeve Europe, osobito Veneciju. Postoji i mogućnost da je nastala križanjem grčke i lokalne sorte, a povezuje se s grčkom kolonizacijom Mediterana te je na svim područjima uzgoja smatrana vrlo starom sortom.

Sorta se od davnina uzgaja na uskom području dubrovačkog primorja, gdje se nalazi i danas. Tek je u novije vrijeme otkriveno da se pod navedenim nazivima uzgaja na još nekoliko izoliranih područja Mediterana (Sicilija, Sardinija, Baleari) te na Kanarskim otocima (Crespan i sur., 2006). Sorta je gotovo ugrožena i radom na revitalizaciji posljednjih nekoliko desetljeća populacija 'Malvasije dubrovačke' porasla je na području vinogorja Konavle. Dostupni su dokazi koji ukazuju na to da se vinova loza uzgajala u Konavlima još u antičko doba. Malvasija dubrovačka ima dugu povijest koja seže u 12. st., a nekada je bila omiljena sorta dubrovačke aristokracije. Sorta je doživjela je procvat u srednjem vijeku zahvaljujući trgovini Dubrovačke Republike. Vino se izvozilo diljem Europe i cijenilo se zbog svoje visoke kvalitete i jedinstvenog okusa.

Popularnost je nastavila rasti u ranom novom vijeku. Spominje se u djelima mnogih poznatih pisaca i pjesnika, uključujući Williama Shakespearea i Lorda Byrona. Vino je dobilo niz nagrada i priznanja na međunarodnim vinskih natjecanjima. U 19. st. popularnost 'Malvasije dubrovačke bijele' počela je opadati zbog brojnih čimbenika, uključujući filokseru, promjene u ukusu potrošača i konkurenciju iz drugih vinskih regija. Sorta je bila na rubu nestajanja u 20. st. Postaje sve popularnija među vinskih ljubiteljima diljem svijeta. Vino se tradicionalno proizvodi u drvenim bačvama, što mu daje bogat i složen okus. Najčešće se pije mlada, ali može i dozrijevati nekoliko godina.

Postoji nekoliko proizvođača 'Malvasije dubrovačke bijele' u Konavlima i ostalim dijelovima Dalmacije. Uzgaja se i u manjim količinama u inozemstvu, uključujući Italiju, Australiju i SAD.

Prema Tomeković (2018) najviše se uzgaja u talijanskoj regiji Lazio, ali se uzgaja i u drugim regijama središnje Italije, kao što su Emilia - Romagna, Toskana, Umbrija, Marche i Abruzzo, a nalazi se i na jugu, u Campaniji i Apuliji i na sjeveru u Lombardiji gdje vina nose oznaku DOC. Malvasija dubrovačka bijela daje aromatična i kompleksna vina koja imaju zlatnu boju s zelenkastim odsjajem. U aromi se osjećaju note cvijeća, citrusa, marelice, sušenog voća i meda. Okus je pun i sočan, s uravnoteženom kiselošću i dugim trajanjem. Postoji u suhim, slatkim i poluslatkim varijantama.

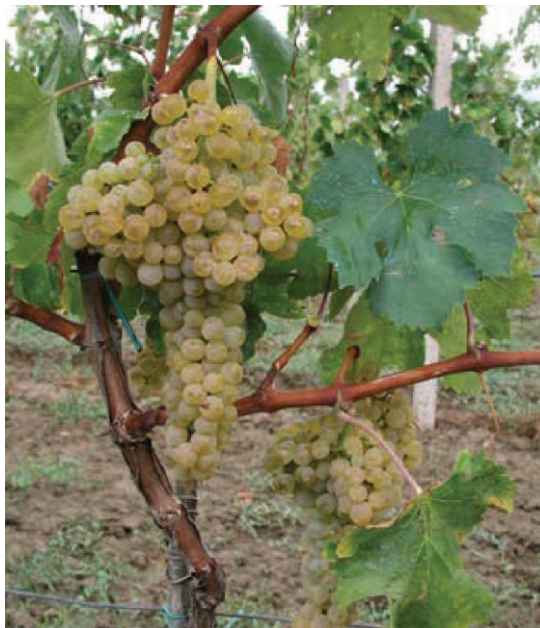
2.1.1 Biologija sorte i gospodarska svojstva

Prema Maletić i sur. (2015), s vegetacijom započinje rano do srednje kasno, a dozrijeva u III. razdoblju. Srednje je bujna sorta, tanjih mladica na kojima se razvija dosta zaperaka. Vrhovi mladice su tanki, svijetlozeleni i slabo dlakavi. Lice mladih listića je sjajno zeleno, a između žila brončano crveno, naličje je golo. Postrani sinusi su izraženi i duboko urezani, zupci su oštri. List je malen do srednje velik, pentagonalan, peterodijelan, pravilan. Plojka je glatka, tamnozeleno, kožasta. Naličje je golo sa slabo izraženim čekinjastim dlačicama po nervaturi. Postrani sinusi su duboko urezani, otvoreni ili pri vrhu blago preklopljenih isječaka, često sa zupcem u dnu. Sinus peteljke je široko otvoren, u obliku slova U. Žile su do prvog grananja crvenkaste, osobito na naličju. Cvijet je morfološki i funkcionalno hermafroditan. Grozd je srednje velik, dugačak i cilindričan, najčešće s kratkim krilcima. Često krilce raste i iz koljenca na peteljci. Peteljka je duga, tanka i odrvenjela. Izražena je varijabilnost u zbijenosti grozdova, pa on može biti rastresit do zbijen, a često se nalaze i potpuno rehljavni grozdovi. Veličina bobica značajno varira, najčešće od malih do srednje velikih, a mogu se naći i vrlo sitne bobice. Oblik bobice je okrugao ili blago jajolik. Kožica je čvrsta, zlatnožute boje, na sunčanoj strani obilno posuta crveno smeđim točkicama. Na zbijenim grozdovima s većom bobicom i u sjeni kožica ostaje zeleno žuta. Meso je čvrsto, slatko i vrlo izražene sortne arome.

Malvasija preferira brdovita područja s dobrom ekspozicijom. Prema Tomeković (2018), daje dobre rezultate i na glinenim tlima, te toplijim klimatskim zonama s malo padalina. U takvim uvjetima osigurava dobre i redovite prinose, što zbog dobre otpornosti na atmosferske neprilike i bolesti, što zbog dobre prilagodljivosti na različite pedološke i klimatske uvjete, uključujući dobru otpornost prema sušama i proljetnom mrazu. Izrazito je osjetljiva na pepelnicu, što je jedan od glavnih uzroka njezina nestanka. U vlažnim godinama strada i od plamenjače. Kod trsova s rastresitim i rehljavim grozdovima najčešće nema osobitih problema sa sivom plijesni. Pojavom plamenjače i pepelnice populacija ove sorte se, zbog veće osjetljivosti, počela sve više smanjivati i gotovo je nestala prije pedesetak godina. Osamdesetih ponovno je revitalizirana no za vrijeme Domovinskog rata ponovno je postala ugrožena i svedena samo na nekoliko stotina trsova.

Posljednjih se godina uspješno radi na njezinoj sustavnoj evaluaciji i ponovnoj gospodarskoj revitalizaciji te je njezina populacija dovoljno porasla da sorta više nije ugrožena, a pokazuje i daljnji trend rasta. Uskog je područja rasprostranjenosti u Hrvatskoj, kao uostalom i u drugim državama gdje se uzgaja.

Malvasija dubrovačka primjer je uspješno revitalizirane sorte budući da je njezina populacija u posljednjih nekoliko desetljeća porasla s tek nekoliko stotina trsova na površinu od više od 30 ha u uzgoju, prema Maletić i sur. (2015). Izuzetno je visoke kakvoće, koncentracije šećera 20–25 °B, zadovoljavajuće kiselosti od 5 do 7 g/L te intenzivnog i prepoznatljivog sortnog mirisa. S tim svojstvima daje visoki enološki povoljan potencijal - daje puna vina, naglašene sortne arome, a zadržava relativno visoku razinu ukupne kiselosti s obzirom na to da se uzgaja u sredozemnoj klimi. Upravo su intenzitet arome i skladnost kiselina i šećera zadovoljavajući čimbenici i ono što je 'Malvasiju dubrovačku' okarakteriziralo kao izdvojenu od ostalih južnih sorata. Zbog rastresitog grozda i čvrste, mesnate kožice vrlo je pogodna za prosušivanje i proizvodnju desertnih vina, različitim metodama i postupcima.



Slika 1. Malvasija dubrovačka

Izvor: Maletić i sur., 2015.

2.2. Tioli

Tioli su pozitivni sumporni spojevi koji daju vinu karakteristične arome, poput citrusa, tropskog voća i cvijeća. Niske temperature usporavaju rad enzima i kvasca, što dovodi do boljeg nakupljanja tiola u vinu. Tri sortna tiola koja su prvenstveno odgovorna za arome tropskog voća u vinu prikazana su u tablici 1.

Tablica 1. Najznačajniji tioli

Naziv spoja	Kratica	Prag detekcije	Miris
4-sulfanil-4-metilpentan-2-on	4MSP	0,18 ng/L	šimšir, pupoljak crnog ribiza i mačja mokraća
3-sulfanilheksanol	3SH	60 ng/L	citrusno
3-sulfanilheksilacetat	3SHA	4,2 ng/L	marakuja, ogrozd, „znojno“

Izvor:

<https://click.endnote.com/viewer?doi=10.31727%2Fgzb.45.5.12&token=WzQzNmZM2ODAsIjEwLjMxNzI3L2d6Yi40NS41LjEyI0.PXX2RbZW7QuSderV8TNdecWhlts>

Svaki od navedenih tiolnih spojeva ima vrlo nizak prag detekcije i može imati različit miris ovisno o koncentraciji. U nižim koncentracijama 4MSP podsjeća na šimšir i brnistru, ali u visokim koncentracijama na mačju mokraću. Dok 3SH daje mirise na citrusno voće poput limuna i naranče.

3SHA ima "voćni" karakter pri nižim koncentracijama i "znojan" pri visokim koncentracijama. Uz voćne arome, tioli također mogu pridonijeti „zelenim“ mirisima kao što su arome zelenog papra i stabljike te mogu poboljšati njihovu percepciju.

Koncentracije tiola u aromatičnim vinima mogu jako varirati. Na primjer, prema Coetzeeu (2018), zabilježene su koncentracije 3SH od 29-20 000 ng/L. Međutim, učinak manjih razlika u koncentraciji tiola još nije prijavljen u literaturi. Jedno je istraživanje izvijestilo da razlika u koncentracijama 3SH između 0 i 875 ng/L nije uvelike utjecala na aromu vina 'Sauvignon bijeli', što ukazuje da, iako ove molekule imaju niske osjetilne pragove, razlikovanje vina s obzirom na koncentracije može biti otežano.

Nekoliko čimbenika u vinogradu utječe na proizvodnju prekursora tiola.

1. Nestašica vode: U istraživanju sorte 'Sauvignon bijeli' u Bordeauxu, des Gachons i sur. (2005) otkrili su da umjerena nestašica vode nakon zametanja plodova povećava količinu prekursora tiola koji se nalaze u moštu.
2. Dodatak hranjivih tvari: u istome radu, des Gachons i sur (2005) pokazali su da grožđe s odgovarajućom koncentracijom dušika ima značajno više tiolnih prekursora i da je folijarna primjena dušika (neposredno prije ili nakon šare) rezultirala značajnim povećanjem tiolnih prekursora i glutationa. Prema radu Lacroux i sur. (2008), pokazalo se da folijarna primjena dušika i sumpora povećava koncentraciju tiola 3-12 puta i da su vina pokazala da su aromatski najintenzivnija prema panelu za kušanje. Primjena amonijevog nitrata u tlo nije značajno utjecala na tiole. Postoji jaka korelacija između odgovarajuće koncentracije YAN-a u moštu i viših koncentracija 3SH u vinu.
3. Defolijacija zone grožđa: uklanjanje lišća iz zone grožđa veličine zrna papra rezultiralo je višim koncentracijama tiola i glutationa te manje metoksipirazina. Isključivanje UV zraka iz defolirane zone vratilo je tiole na gotovo kontrolne razine, što ukazuje na važnu ulogu UV zračenja u proizvodnji prekursora tiola.
4. Oštećenje grožđa: Infekcija *Botrytisom* (Sauternes) pokazuje povećanje prekursora tiola od 275 puta u moštu i 12-60 puta povećanje 3SH u gotovom vinu, kako navode Sarrazin i sur. (2007); Thibon i sur. (2009). To ne znači da *Botrytis* izravno proizvodi prekursore tiola. Infekcija *botritisom* može pokrenuti put rezistencije na bolest koji dovodi do stvaranja tiola
5. Način berbe: Allen i sur. (2011) otkrili su da je strojna berba dovela do viših razina prekursora tiola u moštu i sortnih tiola u vinu. To može biti zbog dodatnog vremena potrebnog za prešanje (prekursori 3SH uglavnom su lokalizirani na kožici dok se prekursori 4MSP nalaze u kožici i pulpi) ili oštećenje bobica može potaknuti metabolički put koji proizvodi dodatne prekursore.

Neke tehnike koje se koriste u podrumu također utječu na ekspresiju tiola u vinu. Raznovrsni tioli nisu prisutni u hlapljivim oblicima u grožđu ili soku, već kao prekursori vezani za druge spojeve koje moraju otpustiti enzimi kvasca tijekom fermentacije kako bi bili aromatični.

Nekoliko prekursora identificirano je kao potencijalno važni za proizvodnju sortnih tiola u vinu. Glavni kandidati uključuju cisteinski konjugat 3SH i glutationski konjugat 3SH koji su prisutni u različitim koncentracijama u moštu i otporni su na oksidaciju do cijepanja. To znači da su relativno zaštićeni u moštu, a osjetljivi tek nakon fermentacije.

Ostali kandidati za prekursore uključuju (E)-2-heksanal i druge C6 spojeve. Oni se oslobađaju kao antimikrobni spojevi kada su biljne stanice oštećene i toksični su za *Saccharomyces*. Tijekom fermentacije kvasci pretvaraju toksične spojeve u manje toksične kombinirajući ih s glutationom (koji je prisutan u moštu) kako bi formirali Glut-3SH. Prema Coetzee (2018), glut-3SH je prekursor tiola koji se zatim može pretvoriti u sortne tirole. C6 spojevi mogu postati prekursori tiola samo ako je dostupan spoj koji sadrži sumpor, što je dovelo do nekoliko ideja o načinu povećanja sumpora u ranoj fazi fermentacije, uključujući stvaranje mjehurića H₂S.

Čak i ako su prekursori prisutni u visokim koncentracijama, to nije jamstvo za izrazito aromatično vino. Prilikom testiranja 55 različitih parova mošt/vino, Pinu i sur. (2012) nisu pronašli korelaciju između prekursora u soku i konačnih tiola u vinu. Prinos konverzije bilo kojeg od ovih spojeva je vrlo slab (0,1 do 12 %). Iako još mnogo toga treba znati o odnosu između prekursora tiola i konačnih koncentracija tiola, nekoliko praktičnih koraka u proizvodnji vina pokazalo se važnima za sintezu tiola u vinima.

Prvi korak je ekstrahirati što više prekursora tiola. 60 % Cis-3SH lokalizirano je u kožici grožđa, dok je Cis-4MSP prisutan i u kožici i mesu. Pokazalo se da maceracija u kombinaciji s višom temperaturom fermentacije povećava 3SH u vinima Merlot i Cabernet Sauvignon (Roland i sur., 2011). U istom istraživanju pokazalo se da jače prešanje (2 atm) ekstrahira više prekursora 3SH iz grožđa sorte 'Sauvignon bijeli', no treba biti oprezan jer veća ekstrakcija fenola s visokim tlakom može dovesti do kasnije oksidacije. Također se smatra da maceracija i enzimi za ekstrakciju povećavaju ekstrakciju prekursora tiola.

Prema Gormanu (2020) smatra se da stabulacija taloga mošta i tretman enzimima povećavaju ekstrakciju prekursora tiola iz mesa bobice, ali s različitim rezultatima. Zadruga za primijenjena istraživanja Laffort testirala je učinke stabulacije i tretmana enzimima na 21 različitoj lokaciji 2016. godine.

Međutim, u ovim istraživanjima 12 od 21 vina pokazalo je značajnu razliku u „trokut testu“, preferencije su bile podijeljene između stabuliranih i nestabuliranih vina. E-Nose analiza (Electronic nose smell analysis) pokazala je značajne razlike između stabuliranih i nestabuliranih vina. Analiza tiola pokazala je različite rezultate; od osam analiziranih vina, pet ih je pokazalo povećanje tiola uslijed stabulacije, jedno je pokazalo smanjenje, a kod dva nije bilo značajne razlike. Tretman enzimom tiolaza imao je veći učinak na tirole nego stabulacija kod tri od četiri testirana vina.

Dodavanje specijaliziranih hranjiva također može povećati proizvodnju tiola. Hranjiva za kvasce rutinski se dodaju moštu za fermentaciju kako bi se povećala koncentracija dušika za metabolizam kvasca. Nekoliko enoloških tvrtki sada proizvodi hranjiva za kvasce posebno formulirane za poboljšanje arome vina, uključujući formulacije za povećanje tiola. Prema Ting (2019), Stimula Sauvignon Blanc (Lallemand) formulirana je da "optimizira unos 3SH i 4MSP prekursora" kao i da stimulira njihovu pretvorbu u tirole u kvascu. Fermoplus Tropical (AEB) se slično opisuje.

Osim hranjivih tvari, Larcher i sur. (2015) pokazali su da dodatak tanina iz grožđa koji sadrži značajnu koncentraciju S-glutationiliranog (GSH-3SH) i S-cisteiniliranog (Cis-3SH) u fermentaciji proizvedenih mošta Meuller-Thurgau i vina Sauvignon bijeli rezultira s višim razinama 3SH. Neformalna senzorna analiza u ovom istraživanju otkrila je da su vina Sauvignon proizvedena s dodatkom tanina često bila bogatija s intenzivnijim "voćnim/zelenim" notama, kao što se očekuje uz više koncentracije tiola.

Kao što je već spomenuto, kvasac je potreban za pretvorbu prekursora tiola u aromatične molekule djelovanjem enzima β -liaze endopeptidaze. Drugi enzim, acetyltransferaza, potreban je za pretvaranje 3SH u 3SHA. U istraživanju 'Sauvignona bijelog', Dubourdieu i sur. (2006) pronašli su varijacije u sposobnosti pretvorbe između sojeva kvasca. Genetska osnova pretvorbe prekursora je opisana (Howell i sur., 2005; Thibon i sur. 2009). Može postojati i do 25 puta više razlika u ekspresiji tiola između sojeva kvasca. Enološke tvrtke sada posjeduju specifične sojeve kvasca za poticanje oslobađanja tiola, jer imaju veliki broj ovih gena. Ekspresija ovih gena može se isključiti visokim razinama dušika u soku (Thibon i sur., 2009), tako se dodavanjem DAP-a može smanjiti otpuštanje tiola.

Prema Rolandu i sur. (2011), temperatura fermentacije utječe na oslobađanje tiola, ali smjernice su vrlo varijabilne. Masneuf-Poumaredo i sur. (2006) testirali su učinak temperature i soja kvasca na proizvodnju tiola u 'Sauvignonu bijelom' i otkrili da temperatura ima učinak bez obzira na soj kvasca, s višim razinama tiola u fermentacijama na 20 °C u usporedbi s 13 °C. U svom vodiču za stilove 'Sauvignona bijelog', Scottlabs preporučuje povećanje temperature od 15 do 18° C stupnjeva za mineralni te 18 do 22° C stupnjeva za tropski karakter vina.

Nakon što se tioli oslobode fermentacijom, moraju se zaštititi od oksidacije uslijed koje gube aromu. Ako kisik nije prisutan, nema supstrata za rad enzima. Isključenje kisika uključuje korištenje inertnog plina u preši, posudi za prešu i spremniku. Razborita uporaba SO₂ ograničit će kisik, kao i pravilno pretakanje. Odabir nehrđajućeg čelika umjesto hrasta također ograničava prisutnost kisika.

Prema Ting (2019), poželjno je inaktivirati enzime polifenoloksidaze (PPO). Ovi enzimi dolaze iz grožđa i obično su prisutni u moštu, ali se obično inaktiviraju fermentacijom. Lakaza iz infekcije *botritisom* je posebna vrsta PPO koja se ne inaktivira fermentacijom. Sumporov dioksid na razinama koje se normalno koriste pri prešanju, inhibirat će normalne PPO enzime, ali ne i lakazu.

Potrebno je ograničiti koncentracije fenola i metala - postoje sredstva za bistrenje koja se mogu koristiti za njihovo uklanjanje iz gotovog vina. Glutation se veže s reaktivnim kinonom kako bi ga deaktivirao i predstavlja najvažniju komponentu za zaštitu tiola u gotovom vinu (Ting 2019). Različiti na bazi glutaciona dostupni su na tržištu. Osim toga, Pons i sur. (2015) otkrili su značajno povećanje ekstrakcije glutaciona iz grožđa nakon nekoliko sati maceracije i prešanja pod dušikom. Također, važno je koristiti dovoljno SO₂ od preše do boce, ako je cilj napraviti vino bogato tiolima-SO₂ je jedan od najboljih alata koji postoje za zaštitu vina od kisika. On će djelovati na nekoliko gore navedenih mehanizama uključujući inaktivaciju enzima, gašenje oksidiranih kinona i ograničavanje slobodnog kisika u vinu.

Čak i kada su punjeni u boce, 3SH i 3SHA nastavljaju se razvijati. Na temelju izvješća da su intenzivne arome tropskog voća novozelandskog 'Sauvignona bijelog' brzo nestale u boci, Herbst-Johnstone i sur. (2011) pratili su razvoj 3SH i 3SHA, kao i razine glutaciona i SO₂ u bocama vina pohranjenim 7 mjeseci u mraku na 15 °C. Otkrili su da je 3SHA (marakuja, guava) najmanje stabilan, u stalnom opadanju. 3SH se samo neznatno smanjio u prva 3 mjeseca, a zatim se povećao u posljednja 4 mjeseca. Autori pretpostavljaju da se 3SHA tijekom tog vremena ponovno hidrolizira do 3SH. Koncentracija glutaciona također je pala do te mjere da više nije štitio tiale nakon prve godine, dok je SO₂ ostao stabilan.

2.3. Stabulacija

Stabulacija je novija tehnika proizvodnje vina, a svodi se na miješanje mošta s grubim talogom kroz određeno vrijeme (četiri dana do dva tjedna) pri niskim temperaturama (-2 do 0 °C) u inernim uvjetima kako bi se izbjegla nekontrolirana fermentacija. Najvažniji dio je održavanje kontakta između mošta i taloga. Cilj je ekstrahirati pozitivne spojeve, prekursore tiola i estera kao i ostale spojeve koji bi mogli pridonijeti okusu vina, iz taloga u mošt stoga je potrebno promiješati talog svakih 12 sati (uz CO₂ ili suhi led). Ovaj proces je pogodan za vina aromatičnih bijelih sorata kod kojih se očekuje više tiola i estera. U slučaju rosé-a, provedena su značajna istraživanja koja pokazuju rast tiola i estera zbog više koncentracije prekursora koji su ekstrahirani tijekom stabulacije, ali i povećanu stabilizaciju boje kao i smanjenje koncentracije masnih kiselina.

Prvi su ga koristili vinari u Gaskonji prije nekoliko desetljeća, a nedavno su ga prihvatili i proizvođači ružičastih vina u Provansi. Njihova su ružičasta vina tijekom godina postupno blijedjela, a to je vinare dovelo do novih izazova. Mnogi spojevi okusa u crnom vinu potječu iz kožice, a to vrijedi i za rosé vina, iako u manjoj mjeri zbog kratke maceracije– tek toliko da se dobije željena boja. Dakle, ako su vina na tržištu sve blijeda, duljina trajanja kontakta s kožicom se skraćuje, a ekstrakcija spojeva okusa je također slabija. To rezultira vinima s manje okusa, tako da su provansalski vinari osmislili tehniku kojom to nadoknađuju, koja se zove stabulacija mošta. Postoji mnogo koraka u proizvodnji vina koja utječu na ekspresiju tiola, uključujući intervencije u vinogradu te vinariji. Stabulacija i primjena enzima tehnike su osmišljene za povećanje ekstrakcija prekursora tiola iz mošta. Dostupna su i posebna hranjiva za kvasce za poboljšanje aromatskog profila vina opskrbljena komponentama za optimizaciju metabolizma kvasca.

Talog se često miješa u reduktivnim uvjetima, dodaje se npr. suhi led u spremnik kako bi se talog pobudio i kako bi se ekstrahiralo više prekursora arome. Mošt se drži na niskim temperaturama kako bi se oksidacija svela na najmanju moguću mjeru, a miješa se suhim ledom (Finot, 2016). Sljedeća tablica navodi vremena trajanja stabulacije pri postavljenim temperaturama mošta prema istraživanju Salamone (2016).

Tablica 2. Temperature i trajanje stabulacije

Temperatura (°C)	Vrijeme stabulacije
10-12	24 h
8	48 h
0-2	4 dana do 3 tjedna

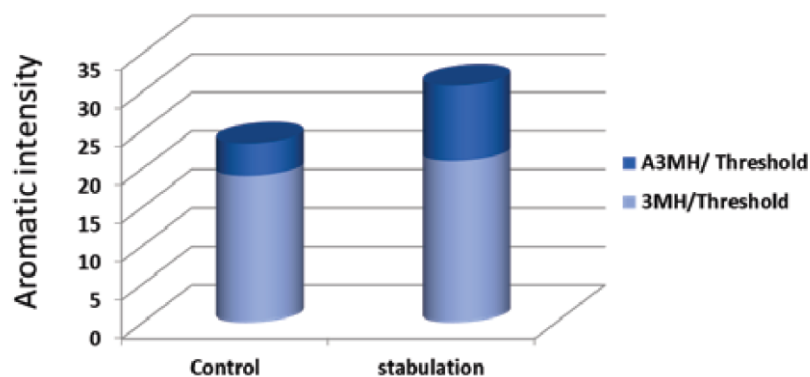
Izvor: <https://winemakersresearchexchange.com/wre-admin/resources/1-82-w640.png>

Nakon što je stabulacija završena, mošt se zagrijava na 10 °C, odvoji se od taloga i inokulira. Laffort® je razvio enzim koji može pomoći u daljnjem oslobađanju tiolnih aromatskih prekursora, a taj se enzim tijekom inokulacije, kako navodi Salamone (2016).

Ovaj enzim može djelovati kao tiolaza koja pomaže dekonjugirati prekursore tiola iz staničnih membrana *Saccharomyces*, što je istraživano u proizvodnji ružičastog vina od sorte Merlot pri niskim temperaturama (Finot, 2016). Vina iz istraživanja ocijenjena su u dva navrata pri čemu je utvrđeno da se stabulirana i kontrolna vina značajno razlikuju uslijed blagog povećanja intenziteta voćnosti i tiolnih aroma. Prema uputama Laffort® Australija, stabulacija se provodi hlađenjem mošta i održavanjem temperature između -2 i 3 °C tijekom 10 ili više dana (optimalno). Ako to nije moguće, provodi se kombinacija vremena i temperature prema tablici.

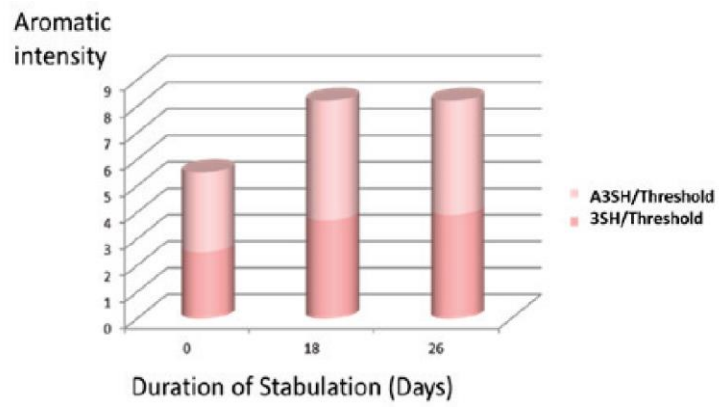
Miješanje taloga mošta provodi se dodavanjem suhog leda svakih 12 sati. Hlađenje treba isključiti i pustiti da temperatura spremnika poraste do 8–10 °C prije pretakanja kako bi se izbjegao rizik od oksidacije. Grubi talog se može ukloniti prije fermentacije ili u ovom trenutku flotacijom odvojiti pomoću inertnog plina. Pretok se provodi pri mutnoći mošta između 100 i 150 NTU (200 do 250 NTU ako se fermentacija provodi sojevima koji preferiraju veću mutnoću poput ZYMAFLORE® DELTA. Nakon toga se inokulira željenim kvascem.

EGIDE^{TDMP} (kombinacija ne-*Saccharomyces* kvasaca - *Torulaspota delbrueckii* i *Metschnikowia pulcherrima*) može se, uz prije navedene kombinacije, držati na temperaturi nižoj od 7 °C tijekom 5 dana. Primjenom protokola koje je objavio Laffort Australija, moguće je dobiti rezultate prikazane u grafovima.



Slika 4. Usporedba kontrole i stabulacije

Izvor: https://laffort.com/wp-content/uploads/publications/AR_EN_GGW_Stabulation-1.pdf



Slika 5. Ovisnost vremena trajanja stabulacije i arome

Izvor: https://laffort.com/wp-content/uploads/publications/AR_EN_GGW_Stabulation-1.pdf

3. Materijali i metode

Za ovo istraživanje korišteno je 200 kg grožđa sorte 'Malvasija dubrovačka' iz vinogorja Komarna iz berbe 2023. Na pokušalištu Jazbina grožđe je hlađeno 24 h prije muljanja, runjenja i prešanja hidrauličnom prešom. U mošt ispod preše primijenjeno je antioksidacijsko sredstvo Glutastar (Lallemand) 40 g/100 L mošta.

Glutastar™ je prirodni specifični inaktivirani kvasac s dovoljnom razinom glutaciona, namijenjen zaštiti bijelih i ružičastih vina od oksidacije. Dodan grožđu ili moštu u najranijoj fazi procesa proizvodnje vina, prije fermentacije, štite vino od posmeđivanja i oksidacije arome, omogućuje bolji intenzitet arome, svježinu i duže očuvanje tiola i estera. Doprinosi poboljšanju intenziteta i postojanosti aromatskih spojeva zahvaljujući otpuštanju visoke razine stabilizirajućih peptida i povećava osjet punoće vina u usnoj šupljini zbog obogaćivanja polisaharidima, kako u bijelim tako i u ružičastim vinima.

Mošt dobiven primarnom preradom, podijeljen je u četiri tretmana (4x30 L) u dva ponavljanja. Za (i) tretman stabilizacije staklene posude s moštom su stavljene u zamrzivač na 0 °C, pri čemu je talog miješan s moštom svakih 12 sati tijekom 4 dana, nakon čega je slijedilo sulfitiranje, dodatak pektolitičkog enzima i stacionarno taloženje tijekom 24 h, odvajanje od taloga te inokulacija s kvascem Lalvin QA23 (Lallemand). Ostala tri tretmana su prošla standardno taloženje mošta, 24 h uz sulfitiranje i dodatak enzima te inokulaciju sa sojevima (ii) Zymaflore® Xarom, (iii) Zymaflore X5 i (iv) Zymaflore® Klima (Laffort). U svim moštovima je nakon taloženja analiziran šećer, ukupna kiselost, pH i FAN/YAN. U vinu su provedene osnovne fizikalno-kemijske analize (OIV, 2021) te senzorna analiza deskriptivnom metodom.



Slika 6. Prešanje grožđa

Izvor: I.A. Cirimotić



Slika 7. Tretmani u istraživanju

Izvor: I.A. Cirimotić

3.1. Kvasci u istraživanju

3.1.1 Lalvin QA23

Kvasac Lalvin QA23 (Lallemand) je soj *Saccharomyces cerevisiae* selekcioniran za fermentaciju bijelih vina. S naglaskom na svježinu, voćnost i čistoću arome. Posebno je pogodan za fermentaciju aromatičnih vina 'Sauvignon bijeli', 'Semillon' i 'Muškat'. QA23 je soj *Saccharomyces cerevisiae* s kiler aktivnošću, što mu omogućava nadvladavanje neželjene mikroflore i produkciju vina visoke kvalitete.

Fermentacija s QA23 kvascem je konstantna i rezultira suhim vinom u širokom rasponu temperatura. Optimalna temperatura fermentacije je 15-32 °C, no može se provoditi i na 10 °C uz kontroliran katabolizam šećera. QA23 dobro fermentira i mošt siromašan dušikom, kao i mošt pročišćen centrifugom, vakuum filtrom ili jačim bistrenjem.

QA23 ne proizvodi pjenu tijekom fermentacije, što omogućava maksimalno iskorištavanje kapaciteta fermentacijskih posuda. Kvasac dobro sedimentira, ostavljajući bistro vino nakon fermentacije.

QA23 fermentira do 13-14 % vol. alkohola. Proizvodi niske količine spojeva koji vežu SO₂ i hlapljive kiseline (manje od 0,2 g/L) te ima malu sklonost stvaranju H₂S-a. Odlikuje se niskim izlučivanjem sekundarnih metabolita. Tijekom rasta i razmnožavanja QA23 proizvodi enzim β-glukozidazu koji oslobađa vezane terpene u muškatnim sortama grožđa, što rezultira intenzivnijim voćnim aromama u vinu. Dozira se 25 g suhog kvasca na 100 litara mošta. Nakon toga, potrebno je rehidrirati kvasac u pet puta većoj količini čiste vode zagrijane na 35-40°C. Promiješati i ostaviti 15 minuta. Rehidrirani kvasac lagano ohladiti na temperaturu mošta i inokulirati mošt. Preporučuje se da temperatura mošta u vrijeme inokulacije ne bude niža od 15 °C.

3.1.2 Zymaflore® Xarom

Zymaflore® Xarom (Laffort) je *Saccharomyces cerevisiae* vrsta kvasca koji se koristi za proizvodnju vina s intenzivnom aromom. Naglašava arome žutog voća, jagoda, ananasa, džema, itd. Također, ima sposobnost očuvanja jabučne kiseline, odnosno sprječava gubitak jabučne kiseline tijekom fermentacije. Niska je proizvodnja hlapljivih kiselina što doprinosi čistoći i ravnoteži vina. Ima visoke potrebe za dušikom pa je za optimalne rezultate potrebno dodati hranjive tvari bogate dušikom. Nema cinamat-dekarboksilazu, enzim koji može dovesti do formiranja neželjenih aroma u vinu.

Preporučuje se za bijela, rosé i mlada crna vina, aromatične sorte grožđa i cuvée vina.

Zymaflore® Xarom kvasac se koristi u primarnoj fermentaciji vina. Primjenjuje se u dozi 20 - 30 g/hL.

3.1.3 Zymaflore® X5

Zymaflore® X5 (Laffort) dobiva se tehnikom križanja i poznat je po izvanrednoj sposobnosti oslobađanja sortnih aroma, uz čvrstu fermentaciju čak i u zahtjevnim uvjetima. Aromatski profil koji oslobađa u vinima jest kompleksan i intenzivan uz snažno oslobađanje tiolnih aroma (4MSP, 3SH, 3SHA). Dobro potiče proizvodnju fermentacijskih aroma (esteri, viši alkoholi - voćne i cvjetne note). Ima toleranciju na alkohol do 16 % vol. i srednju do visoku potrebu za dušikom, te nisku proizvodnju hlapljivih kiselina i H₂S. Tolerira temperature od 13 °C (moguće je dodati kvasac na 8-10 °C nakon taloženja, ali je neophodno aklimatizirati kvasac postepenim dodavanjem u pripremljenu inokuliranu masu).

Pogodan je za proizvodnju modernih, svježih i kompleksnih bijelih i ružičastih vina, a posebno za sorte grožđa 'Sauvignon', 'Rizling rajnski' i 'Graševina'.

3.1.4 Zymaflore® Klima

Zymaflore® Klima je *Saccharomyces cerevisiae* kvasac selekcioniran zbog svoje sposobnosti smanjenja alkoholne jakosti i poboljšanja svježine vina. Omogućuje veću kontrolu nad procesom alkoholne fermentacije. Rezultat je programa selekcije asistiranog markerima (QTL), koji omogućuje vinarima da kontroliraju alkoholnu fermentaciju i dobiju vina s nižom koncentracijom alkohola (do 0,5 %), uz očuvanje jabučne kiseline tijekom alkoholne fermentacije. Prigodan za proizvodnju harmoničnih, dobro uravnoteženih bijelih, rosé i crnih vina. Daje vinima elegantan aromatični profil - voćne i cvjetne note, te aromatičnu svježinu. Preporučena doza Zymaflore® Klima kvasca je 20-30 g/hL mošta. Doziranje može varirati ovisno o željenom stupnju alkoholne fermentacije, karakteristikama mošta i željenom stilu vina.



Slika 8. Preparati korišteni za inokulaciju mošta

Izvor: I.A. Cirimotić

3.2. Osnovna fizikalno-kemijska analiza

3.2.1. Alkoholna jakost

Za potrebe istraživanja, alkoholnu jakost određivana je metodom destilacije. Za analizu je potrebno 100 ml vina temperiranog na 20 °C. Vino se kvantitativno premjesti u Kjeldahl-ovu tikvicu za destilaciju. Tikvica se priključi na aparaturu za destilaciju, a pod hladilo se postavi odmjerna tikvica od 100 mL. Prije početka destilacije potrebno je pustiti protok hladne vode, kako bi ona neprestano protjecala kroz hladilo. U odmjernu tikvicu od 100 mL se sakuplja oko 75 mL destilata. Sadržaj u tikvici nadopuni se destiliranom vodom nešto ispod oznake na vratu tikvice koja se potom temperira u vodenoj kupelji na 20°C tijekom pola sata. Nakon toga, nadopuni se sadržaj u tikvici destiliranom vodom do oznake na vratu tikvice. Iz tako pripremljenog uzorka određena je alkoholna jakost uz pomoć denzitometra DensitoPro Mettler Toledo. Alkoholna jakost vina izražena je u vol %, na jedno decimalno mjesto.

3.2.2. Reducirajući šećeri

Rebeleinova metoda je analitička tehnika za određivanje koncentracije reducirajućih šećera, poput glukoze i fruktoze u vinu. Princip metode temelji se na tome da reducirajući šećeri reagiraju s otopinom alkalnog bakrenog tartrata, pri čemu se Cu^{2+} ioni reduciraju na Cu^+ . Zatim se višak Cu^{2+} iona određuje reakcijom s jodom ($2 \text{Cu}^{2+} + 2\text{I}^- \rightarrow 2 \text{Cu}^+ + \text{I}_2$). Ostatak joda se titrira s otopinom natrijevog tiosulfata ($\text{I}_2 + 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-} \rightarrow 2\text{I}^- + \text{S}_4\text{O}_6^{2-}$). Kao indikator kraja titracije koristi se škrob. Dok se slobodni jod veže na škrob, otopina postaje plavo-siva. Kada se sav jod potroši, plavo-siva boja nestaje i otopina postaje bijelo-smeđa, što znači da je titracija završena.



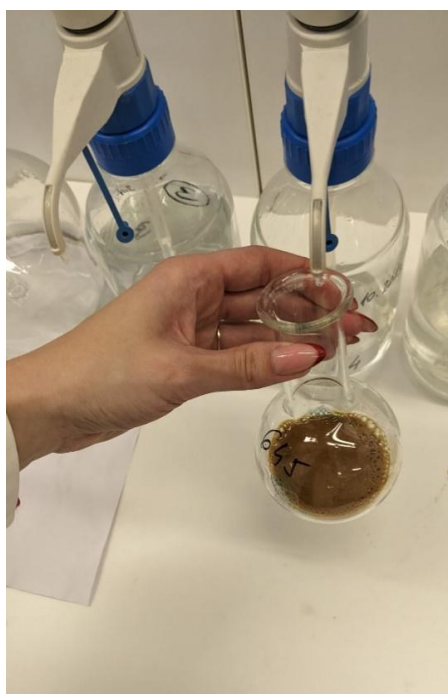
Slika 8. Metoda po Rebeleinu

Izvor: I.A. Cirimotić



Slika 9. Provođenje metode po Rebeleinu

Izvor: I.A. Cirimotić



Slika 10. Provođenje metode po Rebeleinu

Izvor: I.A. Cirimotić

Rebeleinova metoda se koristi za kvantifikaciju ukupnog šećera u vinu, pri čemu se određuje zbroj glukoze i fruktoze. Ukoliko vino sadrži i saharozu, potrebno ju je razgraditi (invertirati) na glukozu i fruktozu prije analize.

Prema koncentraciji šećera, vino se može klasificirati u sljedeće kategorije:

- Suho vino: do 4 g/L
- Polusuho vino: 4 - 12 g/L
- Poluslatko vino: 12 - 50 g/L
- Slatko vino: iznad 50 g/L

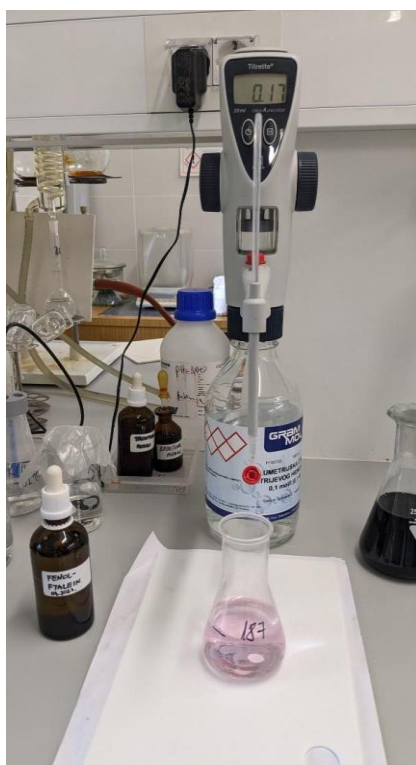
Također postoje neke iznimke. U vinima s visokom ukupnom kiselošću dopuštena je veća količina ostatka šećera od navedene. Za suho vino, ukupna kiselost do 2 g/L više od propisane, ali ne više od 9 g/L, te za polusuho vino ukupna kiselost do 10 g/L više od propisane, ali ne više od 18 g/L.

3.2.3. Ukupna i hlapljiva kiselost

Ukupna kiselost vina određivana je metodom titracije u prisustvu indikatora. Metoda se temelji na neutralizaciji kiselina i njihovih kiselih soli otopinom natrijeve lužine (0,1 N NaOH). Kao indikator koristi se bromtimol modro. Promjena boje u modro zelenu označava završnu točku neutralizacije. Utrošak lužine pomnoži se s faktorom 0,75 kako bi dobili vrijednost ukupne kiselosti izražene u g/L kao vinska kiselina.

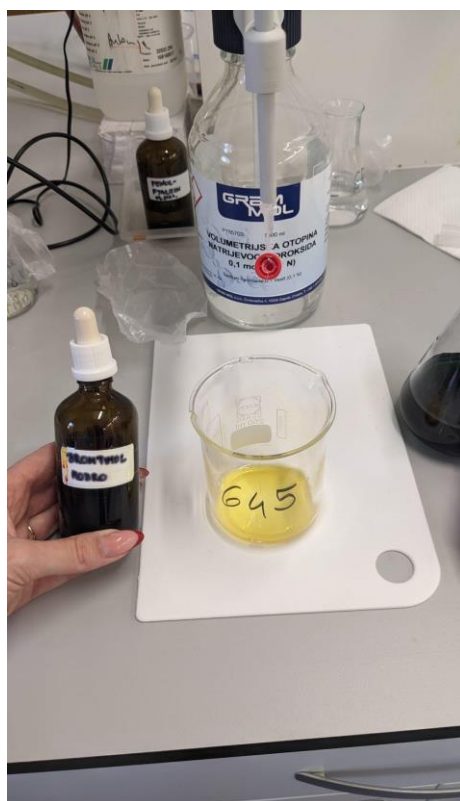
Određivanje hlapljive kiselosti u vinu provodi se metodom destilacije u struji vodene pare. Dobiveni destilat se neutralizira s 0,1 N NaOH uz prisustvo indikatora fenolftaleina do promjene boje u svijetlo ružičastu koja mora biti postojana najmanje 10 sekundi. Utrošak lužine množi se s faktorom 1,2 kako bi dobili sadržaj hlapljive kiselosti izražen u g/L kao octena kiselina. Tijekom alkoholne fermentacije u normalnim uvjetima nastaje 0,2 do 0,6 g/L hlapljivih kiselina. Maksimalno dopuštene količine hlapljive kiselosti u prometu jesu:

- Mošt u fermentaciji i mlado vino -1,1 g/L
- Ružičasta i bijela vina - 1,1 g/L
- Crna vina, kasna berba, izborna berba - 1,2 g/L
- Desertna vina, izborna berba bobica, ledeno vino - 1,8 g/



Slika 11. Titracija za određivanje hlapljive kislosti uz indikator fenolftalein

Izvor: I.A. Cirimotić

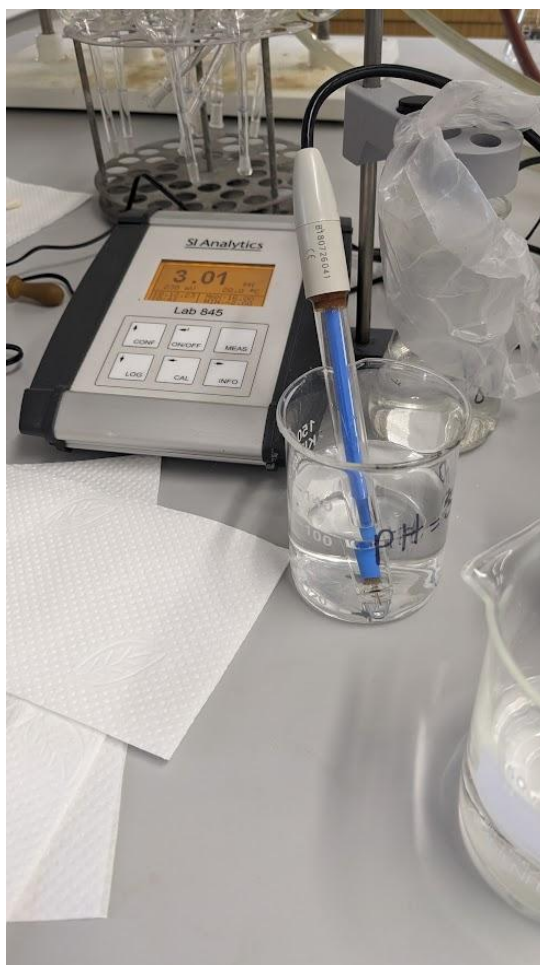


Slika 12. Određivanje ukupne kislosti metodom titracije

Izvor: I.A. Cirimotić

3.2.4. pH vrijednost

pH vrijednost, odnosno realna kiselost, poznata i kao aciditet, predstavlja koncentraciju slobodnih vodikovih iona u moštu ili vinu. Ova vrijednost ovisi o stupnju disocijacije pojedinačnih organskih kiselina u moštu, te o koncentraciji kalijevih i natrijevih iona. Vinska kiselina disocira najjače u vinu, dok jabučna kiselina disocira slabije, a ostale kiseline još slabije. Uobičajene pH vrijednosti mošta i vina kreću se između 2,8 i 4,0. Određivanje pH vrijednosti mošta i vina provedeno je pomoću digitalnog pH-metra SI Analytics LAB 845.



Slika 13. pH metar

Izvor: I.A. Cirimotić

3.2.5. Ukupni ekstrakt i ekstrakt bez šećera

Ukupni ekstrakt određuje se destilacijom vina i mjerenjem specifične težine destilata i ekstrakta. Prema važećoj legislativi vina bez ZOI moraju sadržavati minimalnu količinu suhog ekstrakta bez šećera za bijelo vino 15 g/L, ružičasto vino 16 g/L i crno vino 17 g/L.

Kvalitetna i vrhunska vina moraju sadržavati više ekstrakta. Količina ekstrakta u vinu izražava se u g/L i predstavlja ukupnu masu nehlapljivih tvari koje ostaju nakon isparavanja vode. Vrijednosti ekstrakta u vinu variraju od 15 do 40 g/L, ovisno o sorti grožđa, klimatskim uvjetima, načinu berbe i vinifikacije.

Ostatak vina nakon destilacije (iz Kjeldahove tikvice) kvantitativno se prenese u odmjernu tikvicu i dopuni destiliranom vodom do ispod oznake. Tikvica se stavi u vodenu kupelj i temperira na 20 °C najmanje 30 minuta. Piknometar se tri puta ispere ekstraktom i zatim napuni malo iznad oznake na vratu. Ostavi se u vodenoj kupelji na 30 minuta da se uspostavi ravnoteža temperature. Višak ekstrakta iznad oznake pažljivo se uklanja kapaljkom, slično kao kod određivanja alkohola. Piknometar s ekstraktom i prazan piknometar se važu na analitičkoj vagi. Masa ekstrakta kod 20 °C se dobiva oduzimanjem mase praznog piknometra od mase piknometra s ekstraktom. Vrijednost ekstrakta u g/L se određuje očitavanjem na temelju specifične težine. Specifična težina ekstrakta se izračunava dijeljenjem mase ekstrakta kod 20 °C s masom vode kod 20 °C. ekstrakta.

3.3. Senzorno ocjenjivanje vina

Senzornu analizu provelo je pet certificiranih ocjenjivača, pet mjeseci nakon fermentacije, primjenom opisne metode te metode redoslijeda. Svaki uzorak (25-30 mL vina) ponuđen je u standardnim ISO 3591 čašama, a prezentiran pod šifrom. Ocjenjivači su izraženost pojedinih senzornih svojstava ocjenjivali na bodovnoj skali od 0 (najmanje izraženo) do 5 (najviše izraženo). Ocjenjivao se vizualni doživljaj vina (intenzitet, nijansa i kakvoća boje), miris (cvjetni, voćni, suho/prosušeno voće, orašasto voće, biljni miris te ostalo), okus vina (kiselost, gorčina, astringencija, tijelo, harmoničnost i *aftertaste*) te opći dojam o vinu s obzirom na prije navedena svojstva.

3.4. Statistička analiza

Statistička obrada podataka provedena je koristeći analizu varijance (ANOVA), dok su razlike u srednjim vrijednostima izračunate pomoću Tukey's HSD testa. Za statističke analize koristio se XLSTAT (Lumivero 2023) statistički program.

4. Rezultati i rasprava

4.1. Analize mošta i vina

Tablica 6. Rezultati analize sastava mošta 'Malvasija dubrovačka' 2023.

Uzorak	Šećer °Oe	Ukupna kiselost (g/L)	pH	Limunska kiselina g/L	Vinska kiselina g/L	Jabučna kiselina g/L
MD	81	4,51	3,46	0,30	7,38	0,84

U Tablici 6. prikazan je sastav mošta koji je imao 81 °Oe šećera, ukupnu kiselost od 4,51 g/L, a pH je bio 3,46 što sve zajedno nije činilo optimalni sastav mošta za bijelo vino visoke kakvoće, jer potencijalni alkohol je bio 10,4 % vol., a pH vrijednost je na gornjoj granici za održavanje stabilnosti i dugovječnosti vina. Limunska kiselina koja pridonosi okusu kiselosti i svježini iznosila je 0,30 g/L. Koncentracija vinske kiseline koja daju vinu strukturu bila je neobično visoka - 7,38 g/L, što je odudaralo od vrijednosti ukupne kiselosti mošta. Jabučna kiselina iznosila je 0,84 g/L što je relativno niska koncentracija, uobičajena za južne sorte.

Tablica 7. Rezultati osnovnog fizikalno-kemijskog sastava vina 'Malvasija dubrovačka' 2023.

Parametar	QA23 Stabulacija	X5	Klima	XAROM
Alkohol (% vol.)	10,9 a	11,1 a	10,9 a	11,1 a
Ekstrakt ukupni (g/L)	21,1 a	17,2 b	20,9 a	20,9 a
Šećer reducirajući (g/L)	4,0 a	1,4 c	2,1 b	1,3 c
Ekstrakt bez šećera (g/L)	18,1 c	16,8 d	19,8 b	20,6 a
Ukupna kiselost (kao vinska) (g/L)	5,3 b	5,3 b	6,1 a	6,5 a
Hlapljiva kiselost (kao octena) (g/L)	0,52 a	0,47 a	0,17 b	0,22 b
pH	3,32 b	3,46 a	3,24 c	3,33 b
Ukupni fenoli (g/L)	1,21 d	1,51 b	1,33 c	1,65 a

Rezultati predstavljaju srednje vrijednosti (n= 3), a različita slova u redu (a,b,c,d) upućuju na značajnu različitost pri p < 0,05

U Tablici 7. prikazani su parametri osnovnog fizikalno-kemijskog sastava vina 'Malvasija dubrovačka', inokuliranog spomenutim kvascima. Koncentracija alkohola od 10,9 do 11,1 % vol. niža je od uobičajene za ovu sortu, što je odraz loših vremenskih prilika u fazi dozrijevanja grožđa. Između varijanti nije zabilježena značajna razlika, iako su vina dobivena stabulacijom i kvascem Klima, imali nižu alkoholnu jakost od ostalih.

Svi tretmani, osim stabulacije, rezultirali su suhim vinom, s koncentracijom reducirajućih šećera nižom od 4 g/L što ukazuje na potpuno provedenu fermentaciju. Tretman stabulacije nije imao potpuni završetak fermentacije, koja se zaustavila pri 4,0 g/L i dala granično suho vino. Ekstrakt bez šećera bio je u rasponu od 16,8 do 20,6 g/L. Najniža vrijednost nije dovoljna za kategoriju kvalitetnog vina u RH, što se odnosi na tretman Zymaflore X5. Ukupna kiselost od 5,3 g/L bila je najniža vrijednost u istraživanju, ali i dalje optimalna koncentracija za južna bijela vina, pa i za 'Malvasiju dubrovačku', a zabilježena je kod tretmana Stabulacija i X5. Značajno najviša vrijednost ukupne kiselosti zabilježena je u tretmanu Xarom, što je u skladu sa specifikacijama ovog kvasca koji genetički čuva jabučnu kiselinu tijekom fermentacije, a što je vidljivo i u Tablici 8.

Sljedeći prema vrijednosti ukupne kiselosti bio je tretman Klima, kvasac koji uz očuvanje svježine doprinosi i smanjenju alkoholne jakosti, što je potvrđeno i ovim istraživanjem. Hlapljiva kiselina se kretala u rasponu od 0,17 do 0,52 g/L što je optimalan raspon za zdravstveno ispravna i mikrobiološki stabilna vina. Najviše vrijednosti zabilježene su u tretmanima stabulacije i X5, u kojima je zabilježena i najniža ukupna kiselost koja je važan čimbenik mikrobiološke i svake druge stabilnosti vina. Optimalna pH vrijednost za bijela vina je u rasponu od 3,0 do 3,4, a u ovom istraživanju one su se kretale od 3,24 do 3,46 s najvišom vrijednosti u tretmanu X5. Koncentracije ukupnih fenola koji doprinose strukturi i boji u vinima u istraživanju bila su od 1,51 do 1,65 g/L što su očekivane vrijednosti za laganija bijela vina. Značajno najniža vrijednost zabilježena je u tretmanu stabulacije što upućuje na značajan utjecaj miješanja s talogom pri niskim temperaturama na polifenolni sastav vina.

U Tablici 8. uočljivo je kako je tretman Stabulacija utjecao na značajno smanjenje jabučne kiselosti u odnosu na druge tretmane, dok je kvasac Klima utjecao na maksimalno očuvanje jabučne i vinske kiseline tijekom fermentacije, kao i na najveću sintezu jantarne kiseline. Značajno najviša koncentracija limunske kiseline zabilježena je u tretmanu Xarom.

Tablica 8. Sastav organskih kiselina u vinu 'Malvasija dubrovačka' 2023.

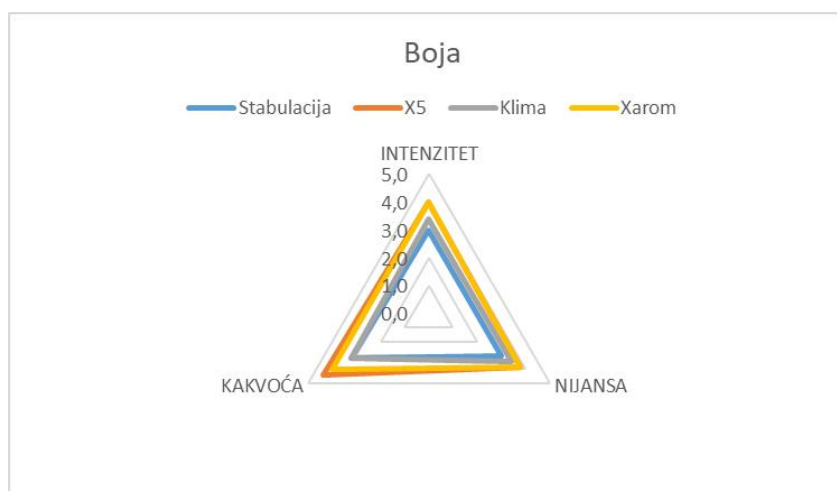
Uzorak	X5	Xarom	Klima	Stabulacija
Limunska kiselina g/L	0,28 c	0,57 a	0,34 b	0,37 b
Vinska kiselina g/L	4,22 b	4,37 b	4,66 a	4,10 b
Jabučna kiselina g/L	0,59 c	0,79 b	0,94 a	0,49 c
Jantarna kiselina g/L	0,35 c	0,65 b	0,77 a	0,49 c

Rezultati predstavljaju srednje vrijednosti (n= 3), a različita slova u redu (a,b,c) upućuju na značajnu različitost pri p < 0,05

4.2. Rezultati senzornog ocjenjivanja

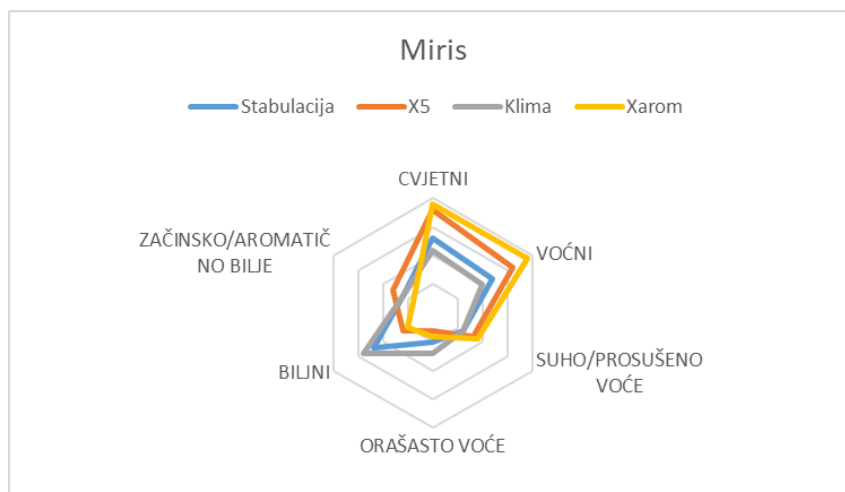
Na temelju senzornog ocjenjivanja vina 'Malvasije dubrovačke', vidljivo je kako su navedeni tretmani imali različit utjecaj na senzorna svojstva vina.

U Grafikonu 1. mogu se vidjeti ocjene boje vina u istraživanju. Najbolje ocijenjen intenzitet, nijansa i kakvoća boje bili su kod vina tretmana Xarom. Vino tretmana Stabulacija imalo je najslabiji intenzitet i kakvoću boje. Nijanse boje su bile slične u svim uzorcima, odnosno slabije intenzivno žuto-zelene.



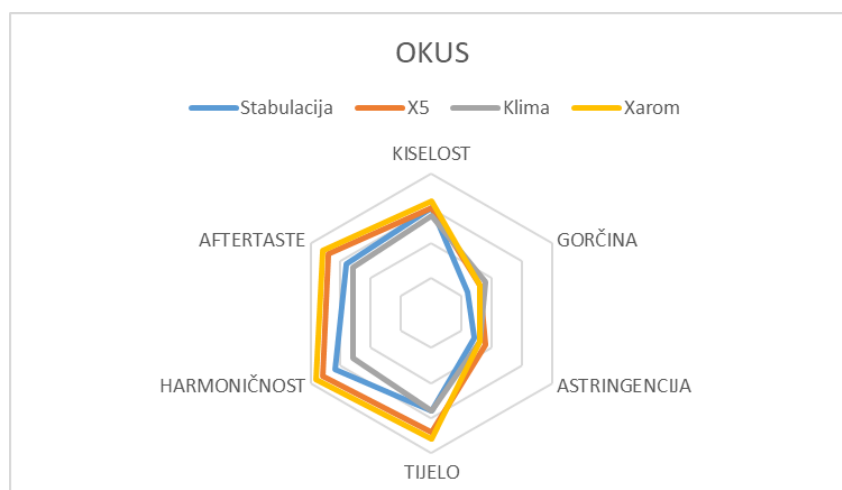
Grafikon 1. Rezultati senzornog ocjenjivanja boje vina 'Malvasija dubrovačka'

Grafikon 2. prikazuje rezultate ocjenjivanja mirisa vina. Kod vina tretmana Xarom kao najintenzivnije ističu se cvjetne i voćne arome dok je vino tretmana Klima rezultiralo s najmanje intenzivnim voćnim i cvjetnim aromama. Aromatski profil vina tretmana Stabulacija bio je najslabiji tretmanu Klima s izraženijim biljnim mirisima, što potvrđuje da tretman nije doprinio razvoju voćnih aroma.



Grafikon 2. Rezultati senzornog ocjenjivanja mirisa vina 'Malvasija dubrovačka'

Na Grafikonu 3. prikazane su ocjene okusa vina. Vina tretmana Xarom i X5 rezultirala su najbolje ocijenjenom svježinom, tijelom ili punoćom okusa, harmoničnošću i aftertasteom. Najmanje harmonično bilo je vino tretmana Klima. Tretman Stabulacije je ponovno ocijenjen slično kao tretman Klima. Vina u istraživanju nisu bila astringentna ni gorka što je očekivano za primijenjene tehnologije proizvodnje bijelih vina.



Grafikon 3. Rezultati senzornog ocjenjivanja okusa vina 'Malvasija dubrovačka'

5. Zaključak

Temeljem provedenog istraživanja s ciljem utvrđivanja razlika u osnovnom fizikalno-kemijskom sastavu i senzornom profilu vina 'Malvasija dubrovačka', između tretmana stabulacije i primjene različitih sojeva kvasaca doneseni su sljedeći zaključci:

vina tretmana Stabulacija i Klima, imali su značajno nižu alkoholnu jakost od ostalih, međutim tretman Stabulacija rezultirao je i značajno najvišom koncentracijom reducirajućeg šećera (4 g/L). Najniža vrijednost ukupne kiselosti u istraživanju zabilježena je također u vinu tretmana stabulacija te X5. Značajno najviša vrijednost ukupne kiselosti zabilježena je u tretmanu Xarom, što je u skladu sa specifikacijama primijenjenog kvasca koji štiti jabučnu kiselinu tijekom alkoholne fermentacije.

Tretman Stabulacija utjecao je na značajno smanjenje jabučne kiselosti u odnosu na druge tretmane, dok je kvasac Klima utjecao na maksimalno očuvanje jabučne i vinske kiseline tijekom fermentacije, kao i na najveću sintezu jantarne kiseline. Značajno najviša koncentracija limunske kiseline zabilježena je u tretmanu Xarom.

Najviše vrijednosti hlapljive kiseline zabilježene su u tretmanima Stabulacija i X5, u kojima je zabilježena i najniža ukupna kiselost koja je važan čimbenik mikrobiološke i svake druge stabilnosti vina. pH vrijednosti su se kretale od 3,24 do 3,46 s najvišom vrijednosti u tretmanu X5.

Koncentracije ukupnih fenola koji doprinose strukturi i boji vina bile su očekivane za laganija bijela vina (1,20-1,65 g/L). Značajno najniža vrijednost zabilježena je u tretmanu stabulacije što upućuje na značajan utjecaj miješanja s talogom pri niskim temperaturama na polifenolni sastav vina.

Rezultati senzornog ocjenjivanja pokazuju kako je standardna proizvodnja bijelih vina s određenim kvascima imala značajan pozitivan utjecaj na senzorna svojstva vina 'Malvasije dubrovačke' u odnosu na primjenu stabulacije. Tretman Xarom rezultirao je vinom s najintenzivnijim voćnim i cvjetnim mirisima te punim i harmoničnim okusom, dok je tretman Klima rezultirao vinom s najmanje poželjnim senzornim svojstvima, kao i tretman Stabulacija.

6. Popis literature

1. Andabaka, Ž. (2015). Ampelografska evaluacija autohtonih dalmatinskih sorata vinove loze (*Vitis vinifera* L.), Disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, (pristupljeno 20.05.2024.)
2. Allen, T., Herbst-Johnstone, M., M. Girault, P. Butler, G. Logan, S. Jouanneau, L. Nicolau i PA. Kilmartin (2011). Influence of grape-harvesting steps on varietal thiol aromas in Sauvignon blanc wines J. Agric. Food Chem., 59 (19), 10641-10650.
3. Bouchilloux, P., P. Darriet, R. Henry, V. Lavigne-Cruege, D. Dubourdie (1998). Identification of volatile and powerful odorous thiols in Bordeaux red wine varieties J. Agric. Food Chem, 46 (8), 3095–3099.
4. Coetzee, C. (2018). Grape-Derived Fruity Volatile Thiols Adjusting Sauvignon Blanc aroma and flavor complexity. Wines & Vines, May 2018. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf970782o> (pristupljeno: 27.05.2024.)
5. Crespan, M., Cabello, F., Giannetto, S., Ibáñez, J., Karoglan Kontić, J., Maletić, E., Pejić, I., Rodríguez-Torres, I., Antonacci, D. (2006). Malvasia delle Lipari, Malvasia di Sardegna, Greco di Gerace, Malvasia de Sitges and Malvasia dubrovačka – synonyms of an old and famous grape cultivar. Vitis - Journal of Grapevine Research, 45(2), 69–73.
6. Darriet, P., T. Tominaga, V. Lavigne, J. Boidron i D. Dubourdieu. (1995). Identification of a powerful aromatic component of *Vitis vinifera* L. var. Sauvignon wines: 4-mercapto-4-methylpentan-2-one, 10(6), 385-392.
7. Dubourdieu, D., T. Tominaga, I. Masneuf, C. Peyrot des Gachons M.L. Murat (2006). The role of yeasts in grape flavor development during fermentation: the example of Sauvignon blanc American Journal of Enology and Viticulture, 57 (1) 81–88.
8. Finot, M. (2016). The Effect of Stabulation on Fermentation Kinetics and Sensory Quality (ARC) [Exploring the effects of stabulation in Sauvignon Blanc \(2020\) | Winemakers Research Exchange](#) (pristupljeno: 20.05.2024.)
9. Goode, J. (2020). Juice stabulation, an interesting winemaking technique. <https://wineanorak.com/2020/06/28/juice-stabulation-an-interesting-winemaking-technique/> (pristupljeno: 01.06.2024.)

10. Gorman, T. (2020). Developing a protocol for rosé stabulation using Laffazyme THIOLS (Laffort) and Fermoplus Tropical (AEB) Cardinal Point Winery.

11. Herbst-Johnstone, M., Nicolau, L., Kilmartin, PA. (2011). Stability of varietal thiols in commercial Sauvignon blanc wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 62(4): 495–502.

12. Howell, K. M. Klein, J.H., Swiegers, Y., Hayasaka, G.M., Elsey, G.H., Fleet, P.B., Høj, I.S., Pretorius, de Barros Lopes, MA. (2005). Genetic Determinants of Volatile-Thiol Release by *Saccharomyces cerevisiae* during Wine Fermentation. *Appl Environ Microbiol*, 71(9):5420-6.

13. Karoglan Kontić, J., Mirošević, N. (2008). *Vinogradarstvo*. Zagreb: Nakladni zavod Globus.

14. Lacroux, F., O. Tregogat, C. Van Leeuwen, A. Pons, T. Tominaga, V. Lavigne-Cruege, D. Dubourdieu (2008). Effect of foliar nitrogen and sulphur application on aromatic expression of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 42(3), 1-8.

15. Larcher, R, L. Tonidandel, T. Román Villegas, T. Nardin, B. Fedrizzi i G. Nicolini (2015). Pre-fermentation addition of grape tannin increases the varietal thiols content in wine. *Chemistry of food*, 166: 56–61.

16. Maletić, E., Karoglan Kontić, J., Pejić, I., Preiner, D., Zdunić, G., Bubola, M., Stupić, D., Andabaka, Ž., Marković, Z., Šimon, S., et.al. (2015). *Green book: indigenous grapevine varieties of croatia / Zelena knjiga: hrvatske izvorne sorte vinove loze*. Zagreb: Državni zavod za zaštitu prirode.

17. Masson, G. i R. Schneider (2009). Key compounds of Provence rosé wine flavor Provence. *American Journal of Enology and Viticulture* ,60(1):116–22.

18. Masneuf-Pomarède, I., C. Mansour, M. Murat, T. Tominaga, D. Dubourdieu (2006). Influence of fermentation temperature on volatile thiols concentrations in Sauvignon blanc wines. *International Journal of Food Microbiology*, 108(3): 385–90

19. Mirošević, N., Karoglan Kontić, J. (2008). *Vinogradarstvo*. Zagreb: Nakladni zavod Globus.

20. Peyrot des Gachons, C., Van Leeuwen, C., Tominaga, T., Soyer, J-P., Gaudillère, J-P., & Dubourdieu, D. (2004). Influence of water and nitrogen deficit on fruit ripening and aroma potential of *Vitis vinifera* L cv Sauvignon blanc in field conditions. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 10(3), 251-258.
21. Pinu, FR, S. Jouanneau, L. Nicolau, RC Gardner i SG Villas-Boas (2012). Concentrations of the volatile thiol 3-mercaptohexanol in Sauvignon blanc wines: no correlation with juice precursors. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63(3)
22. Roland, A., Schneider, R., Charrier, F., Cavelier, F., Rossignol, M., & Razungles, A. (2011). Distribution of varietal thiol precursors in the skin and the pulp of Melon B. and Sauvignon Blanc grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(17), 9720-9726.
23. Salamone, P. (2016). Laffort Stabulation Protocol (ARC)
24. Sarrazin, E., Dubourdieu, D., Darriet, P. (2007). Characterization of key-aroma compounds of botrytized wines: Influence of grape botrytization. *Food Chemistry*, 103(2), 536-545.
25. Thibon, C., Cluzet, S., Mérillon, J. M., Darriet, P., Dubourdieu, D. (2010). 3-Sulfanylhexanol precursor biogenesis in grapevine cells: The stimulating effect of *Botrytis cinerea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(21), 11465-11473.
26. Ting, J. (2019). Varietal Thiols in Wine: Interventions in the vineyard and winery [snippet]. Winemakers Research Exchange. <https://winemakers.ucdavis.edu/research/wres-studies/varietal-thiols-wine-interventions-vineyard-winery/>
27. Tomeković, R. (2018). 'Malvazije mediterana', Završni rad, Veleučilište u Rijeci pristupljeno: 19.05.2024., <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:125:340953>

Internetske stranice:

1. <https://lumaekskluziv.hr/proizvod/karaman-malvasija-075/> - pristup 03.03.2024
2. <https://vinoljubac.hr/hr/proizvod/bratos-malvasija-dubrovacka-2/> - pristup 01.03.2024

3. <https://click.endnote.com/viewer?doi=10.31727%2Fgzb.45.5.12&token=WzQzNzM2ODAsljEwLjMxNzI3L2d6Yi40NS41LjEyII0.PXX2RbZW7QuSderV8TNdecWhlts> – pristup 02.06.2024.
4. https://winebusinessanalytics.com/sections/printout_article.cfm?content=197002&article=feature – pristup 20.06.2024.

Životopis

Iva-Antonia Cirimotić rođena 28.03.1998. u Zagrebu.

Pohađala je XII. Gimnaziju u Zagrebu od 2013. do 2017. godine, nakon čega je 2019. upisala preddiplomski studij Zaštite bilja na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Studij Zaštite bilja završava 2022., te iste godine upisuje diplomski sveučilišni studij Vinogradarstvo i vinarstvo na istom fakultetu.

Služi se u pismu i govoru engleskim i njemačkim jezikom.

2021. godine pohađa '2nd digital Pan-Caucasian summer school 'Wine Business'' organiziranog od strane Deutscher Akademischer Austauschdienst i Hochschule Geinsenheim.

Sudjeluje kao članica Vinarske grupe na drugoj godini diplomskog studija, te u lipnju 2024. kao član komisije ocjenjivanja ljetnih vina za časopis 'Vinske zvijezde' u rubrici 'Mladi i vino'.

Od 2017. godine, aktivno se bavi orijentalnim plesom, te 2022. na međunarodnom natjecanju u Zagrebu 'International dance open' osvaja prvo mjesto u profesionalnoj kategoriji orijentalnog plesa.

Uz studiranje obavlja studentske poslove.