

UNIVERZITET U BEOGRADU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Valerija B. Madžgalj

**DINAMIKA SADRŽAJA AROMATIČNIH
MATERIJA GROŽĐA SORTI KRSTAČ I ŽIŽAK
TOKOM SAZREVANJA I VINIFIKACIJE I
NJEN UTICAJ NA SENZORNE
KARAKTERISTIKE VINA**

Doktorska disertacija

Beograd, 2022.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF AGRICULTURE

Valerija B. Madžgalj

**DYNAMICS OF THE CONTENT OF
AROMATIC SUBSTANCES IN GRAPES OF
THE KRSTAČ AND ŽIŽAK VARIETIES
DURING MATURATION AND VINIFICATION
AND ITS INFLUENCE ON THE SENSORY
CHARACTERISTICS OF WINE**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2022.

Mentor

dr Aleksandar Petrović, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

Članovi komisije

dr Saša Matijašević, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

dr Boban Anđelković, naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet

Datum odbrane doktorske disertacije: _____

Zahvalnica

Ovu disertaciju posvećujem pokojnim roditeljima, majci Lepi i ocu Blažu Madžgalju, kao znak moje velike zahvalnosti za neizmernu podršku i ljubav koju su mi pružili.

DINAMIKA SADRŽAJA AROMATIČNIH MATERIJA GROŽĐA SORTI KRSTAČ I ŽIŽAK TOKOM SAZREVANJA I VINIFIKACIJE I NJEN UTICAJ NA SENZORNE KARAKTERISTIKE VINA

SAŽETAK

Istraživanja u ovoj doktorskoj disertaciji imala su za cilj da prikažu sadržaj aromatičnih jedinjenja u grožđu i aromatični profil vina autohtonih crnogorskih sorti grožđa Krstač i Žižak. Priprema uzoraka je urađena tečno-tečnom ekstrakcijom i aromatična jedinjenja su detektovana GC/FID-MS analizom. U belim vinima, proizvedenim po raznim metodama mikroviniifikacije, identifikovani su viši alkoholi, etil estri, acetati, laktoni i masne kiseline.

Primenom maceracije u trajanju 4 i 8 sati i enzimskih preparata (Lallzyme cuvé blanc i beta), utvrđeno je da je sadržaj ukupnih aromatičnih jedinjenja značajno viši u uzorcima vina K EB4h i Z CB4h, u odnosu na kontrolu. Maceracija i upotreba enzimskih preparata su povećali sadržaj 2-feniletil i izoamil alkohola, zatim heksanske i oktanske kiseline. Pored toga, u svim uzorcima vina je bio povećan sadržaj estara, koji su odgovorni za voćnu aromu vina (izoamil acetat, etil heksanoat i 2-feniletil acetat), u poređenju sa kontrolom.

U ovom radu ispitivan je uticaj dva kvasca i hraniva za kvasce na sadržaj aromatičnih jedinjenja. Utvrđeno je da tokom alkoholne fermentacije *Saccharomyces cerevisiae* sintetiše viši sadržaj ukupnih aromatičnih jedinjenja u odnosu na *Saccharomyces bayanus* uz dodavanje istih hraniva za kvasce. Kada u sadržaj ukupnih aromatičnih materija nisu uključeni viši alkoholi, najvišu koncentraciju aromatičnih jedinjenja imala su vina K Bay E i Z Bay E. Kvasac *Saccharomyces cerevisiae* sintetiše višu koncentraciju izoamil alkohola, 2-feniletil i izobutil alkohola, u odnosu na *Saccharomyces bayanus*. Zaključeno je, da je na stvaranje različitih koncentracija etil estara i acetata, značajan uticaj imao kvasac koji je upotrebljen u eksperimentu, dok pojedino hranivo za kvasce naglašava njegove različite karakteristike.

Vina Krstača i Žižka koja su dobijena taloženjem šire u trajanju od 30 sati su imala najbolje rezultate u pogledu sadržaja ukupnih aromatičnih jedinjenja, estara i kiselina. Pored toga, sadržaj ukupnih aromatičnih jedinjenja je bio viši u vinima dobijenim fermentacijom samotoka (K sam, Z sam) u poređenju sa vinima dobijenim primenom pritiska tokom presovanja kljuka (K pres, Z pres). Vina koja su sazrevala godinu dana imala su bolje senzorne i hemijske karakteristike. Utvrđen je viši sadržaj etil estara (etil laktata, dietil sukcinata, dietil hidroksibutandioata, etil hidrogen sukcinata) i γ -butirolaktona i niže koncentracije acetata, u odnosu na vina koja nisu sazrevala. Senzornom ocenom utvrđeno je da su Krstač vina bila ćilibarne boje, imala su miris sa tonovima meda i ukus je bio umereno pun, dok su Žižak vina imala izraženiji miris sorte, prijatan ukus, umerene punoće sa solidnim kiselinama.

Rezultati ovih istraživanja imaju veliki praktični značaj, jer proizvođačima vina obezbeđuju informacije o načinu vinifikacije, čime se poboljšava kvalitet belih vina. Imaju i naučni značaj jer su dali doprinos opštim saznanjima o karakteru arome vina, i prvi put su objavljeni podaci o aromatičnom profilu autohtonih sorti Krstač i Žižak.

Ključne reči: aromatična jedinjenja, GC/FID-MS analiza, tretmani šire i vina, belo vino, autohtone sorte grožđa Krstač i Žižak, senzorna ocena

Naučna oblast: Tehnološko inženjerstvo

Uža naučna oblast: Nauka o konzervisanju i vrenju

UDK: 547.52:634.852]:663.21(043.3)

DYNAMICS OF THE CONTENT OF AROMATIC SUBSTANCES IN GRAPES OF THE KRSTAČ AND ŽIŽAK VARIETIES DURING MATURATION AND VINIFICATION AND ITS INFLUENCE ON THE SENSORY CHARACTERISTICS OF WINE

ABSTRACT

The research in this doctoral dissertation aimed to show the content of aromatic compounds in grapes and the aromatic profile of the wines of autochthonous Montenegrin grapevine varieties Krstač and Žižak. The sample preparation method consisted of liquid-liquid extraction, and aromatic compounds were detected by GC/FID-MS analysis. Higher alcohols, ethyl esters, acetates, lactones and fatty acids were identified in white wines produced by various microvinification methods.

Using maceration for 4 and 8 hours and enzymatic preparations (Lallzyme cuveé blanc and beta), it was determined that the content of total aromatic compounds was significantly higher in the samples of K EB4h and Z CB4h wines, compared to the control. Maceration and the use of enzyme preparations increased the content of 2-phenylethyl and isoamyl alcohol, followed by hexanoic and octanoic acid. In addition, in all wine samples, the content of esters responsible for the fruity aroma of wine (isoamyl acetate, ethyl hexanoate and 2-phenylethyl acetate) was increased, compared to the control.

This paper studied the influence of two yeasts and yeast nutrients on the content of aromatic compounds. It was found that during alcoholic fermentation, *Saccharomyces cerevisiae* synthesizes a higher content of total aromatic compounds than *Saccharomyces bayanus* with the addition of the same yeast nutrients. When higher alcohols were not included in the content of total aromatic substances, the highest concentration of aromatic compounds was in the wines K Bay E and Z Bay E. The yeast *Saccharomyces cerevisiae* synthesizes a higher concentration of isoamyl alcohol, 2-phenylethyl and isobutyl alcohol, compared to *Saccharomyces bayanus*. It was concluded that the yeast used in the experiment had a significant influence on the formation of different concentrations of ethyl ester and acetate, while a particular yeast nutrient emphasizes its different characteristics.

The wines of Krstač and Žižak, which were obtained by settling over a period of 30 hours, had the best results in terms of the content of total aromatic compounds, esters and acids. In addition, the content of total aromatic compounds was higher in the wines obtained by free-run juice fermentation (K sam, Z sam) compared to the wines obtained by applying pressure during mash pressing (K pres, Z pres). Wines that matured for a year had better sensory and chemical characteristics. A higher content of ethyl esters (ethyl butyrate, ethyl lactate, diethyl succinate, diethyl hydroxybutanedioate, ethyl hydrogen succinate) and γ -butyrolactone and lower acetate concentrations were determined, compared to wines that did not mature. The sensory evaluation determined that the Krstač wines were amber in colour, had an aroma with tones of honey, and the taste was moderately full, while the Žižak wines had a more pronounced aroma of the variety, a pleasant taste, moderate fullness with solid acidity.

These research results have great practical importance, because they provide wine producers with information about the vinification method, which improves the quality of white wines. They are also of scientific importance, as they contribute to general knowledge about the character of the wine aroma, and information on the aromatic profile of the autochthonous Krstač and Žižak varieties are published for the first time.

Keywords: aromatic compounds, GC/FID-MS analysis, must and wine treatments, white wine, autochthonous grape varieties Krstač i Žižak, sensory evaluation

Scientific field: Technological engineering

Scientific subfield: The science of food preservation and fermentation

UDK: 547.52:634.852]:663.21(043.3)

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	2
2.1. Agrobiološke i privredno-tehnološke karakteristike sorti Krstač i Žižak	2
2.1.1. Agrobiološke i privredno-tehnološke karakteristike sorte Krstač	2
2.1.2. Agrobiološke i privredno-tehnološke karakteristike sorte Žižak	3
2.2. Aromatične materije grožđa, šire i vina	4
2.2.1. Primarne aromatične materije i njihovi prekursori	4
2.2.1.1. Terpenski alkoholi-terpenoli	5
2.2.1.2. Derivati C ₁₃ -norizoprenoida	7
2.2.1.3. Metokspirazini	7
2.2.1.4. Jedinjenja sa tiolnom funkcijom-merkaptopentanoni	8
2.2.1.5. Aroma grožđa američke loze	10
2.2.2. Sekundarne aromatične materije i njihovi prekursori	11
2.2.2.1. Nezasićene masne kiseline.....	11
2.2.3. Tercijalne aromatične materije	13
2.2.3.1. Viši alkoholi	13
2.2.3.2. Estri	14
2.2.3.3. Laktoni	15
2.2.3.4. Isparljive masne kiseline	15
2.2.4. Arome nastale odležavanjem vina	15
2.2.4.1. Arome nastale odležavanjem vina u inertnom sudu	15
2.2.5. Razvoj arome grožđa tokom sazrevanja i uticaj vinogradarskih činilaca	16
2.3. Uticaj načina primarne prerade grožđa na aromatski profil vina	18
2.3.1. Uticaj prefermentativne maceracije kljuka i primene enzimskih preparata	18
2.3.2. Uticaj pritiska ceđenja kljuka	20
2.3.3. Uticaj načina prečišćavanja šire	20
2.3.4. Uticaj primene bentonita za bistrenje šire	21
2.4. Uticaj načina vinifikacije na aromatski profil vina.....	22
2.4.1. Uticaj vrste i soja kvasca	22
2.4.2. Uticaj primenjenog hraniva za kvasce	23
2.4.3. Uticaj malolaktičke fermentacije	24
2.5. Uticaj sredstava za bistrenje i stabilizaciju vina	25
2.5.1. Uticaj primene bentonita za bistrenje vina	25
2.5.2. Uticaj sumpordioksida i askorbinske kiseline	25
3. CILJI I ZNAČAJ ISTRAŽIVANJA	27
4. MATERIJAL I METODE	28
4.1. Određivanje sadržaja aromatičnih materija grožđa u različitim fenofazama sazrevanja: šarak, puna zrelost, prezrelost	28
4.2. Ispitivanje uticaja vremena prefermentativne maceracije kljuka sorti Krstač i Žižak i enzimskih preparata na aromatski profil vina	28
4.3. Ispitivanje uticaja pritiska ceđenja kljuka na aromatski profil vina sorti Krstač i Žižak	28
4.4. Ispitivanje uticaja načina prečišćavanja šire na aromatski profil vina sorti Krstač i Žižak	29
4.5. Ispitivanje uticaja primene bentonita za bistrenje šire na aromatski profil vina sorti Krstač i Žižak	29
4.6. Ispitivanje uticaja mikrooksigenacije šire i katalitičkog delovanja jona teških metala na aromatski profil vina sorti Krstač i Žižak	30

4.7. Ispitivanje uticaja soja i hraniva za kvasce na aromatski profil vina sorti Krstač i Žižak	30
4.8. Dinamika aromatičnih materija tokom alkoholne fermentacije šire sorti Krstač i Žižak	31
4.9. Ispitivanje uticaja malolaktičke fermentacije na aromatski profil vina sorti Krstač i Žižak	32
4.10. Ispitivanje uticaja primene bentonita za bistrenje vina na aromatski profil sorti Krstač i Žižak	32
4.11. Ispitivanje uticaja rastućih koncentracija SO ₂ i askorbinske kiseline na aromatski profil vina sorti Krstač i Žižak	32
4.12. Ispitivanje uticaja sazrevanja vina na aromatski profil	33
4.13. Metode za identifikaciju aromatičnih materija	33
4.13.1. Hemikalije	33
4.13.2. Tečno-tečna ekstrakcija	33
4.13.3. GC/FID-MS analiza	33
4.13.4. Headspace ekstrakcija i GC/FID-MS analiza za određivanje aromatičnih jedinjenja u pokožici grožđa	34
4.14. Metoda za senzornu ocenu vina	34
4.15. Statistička obrada podataka	34

5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA I DISKUSIJA	35
5.1. Količina aromatičnih materija u grožđu tokom sazrevanja	35
5.2. Količina aromatičnih jedinjenja u vinu dobijenom postupkom prefermentativne maceracije kljuka i primenom enzimskih preparata	36
5.3. Količina aromatičnih jedinjenja u vinu dobijenom pri rastućim pritiscima ceđenja kljuka i različitim vremenom prečišćavanja šire taloženjem	43
5.4. Količina aromatičnih jedinjenja u vinu dobijenom bistrenjem šire rastućim količinama bentonita	52
5.5. Količina aromatičnih jedinjenja u vinu dobijenom mikrooksigenacijom šire i katalitičkim delovanjem jona teških metala	56
5.6. Količina aromatičnih jedinjenja u vinu dobijenom primenom različitih sojeva i hraniva za kvasce	62
5.7. Dinamika pojedinih aromatičnih jedinjenja tokom alkoholne fermentacije šire sorti Krstač i Žižak	69
5.8. Količina aromatičnih jedinjenja u vinu nakon sprovedene malolaktike	84
5.9. Količina aromatičnih jedinjenja u vinu tretiranom rastućim količinama bentonita	88
5.10. Količina aromatičnih jedinjenja u vinu konzervisanom rastućim količinama SO ₂ i askorbinske kiseline	92
5.11. Promene sadržaja aromatičnih jedinjenja u vinu nakon godinu dana sazrevanja	95
5.11.1. Promene sadržaja estara i laktona u vinu nakon godinu dana sazrevanja (primena maceracije i glikolitičkih enzima)	95
5.11.2. Promene sadržaja estara i laktona u vinu nakon godinu dana sazrevanja (primena rastućih koncentracija bentonita)	96
5.11.3. Promene sadržaja estara i laktona u vinu nakon godinu dana sazrevanja (katalitičko delovanje metala)	98
5.11.4. Promene sadržaja estara i laktona u vinu nakon godinu dana sazrevanja (primena različitih pritisaka)	99
5.11.5. Promene sadržaja estara i laktona u vinu nakon godinu dana sazrevanja (primena različitog vremena taloženja šire)	100
5.11.6. Promene sadržaja estara i laktona u vinu nakon godinu dana sazrevanja (primena različitih kvasaca i hraniva za kvasce)	102

6. SENZORNA OCENA VINA	104
6.1. Senzorna ocena mladih vina sorti Krstač i Žižak	104
6.1.1. Senzorna ocena vina Krstača, gde su primenjene rastuće koncentracije bentonita (0, 50, 100, 150, 200 g/hl) za bistrenje šire	104
6.1.2. Senzorna ocena vina Krstača, gde su primenjene različite koncentracije metala Fe ²⁺ (5 mg/l, 15 mg/l), Zn ²⁺ (3 mg/l, 6 mg/l) i Cu ²⁺ (3 mg/l, 6 mg/l)	104
6.1.3. Senzorna ocena vina Krstača, dobijenih primenom različitog vremena taloženja šire (10 h, 20 h, 30 h)	105
6.1.4. Senzorna ocena vina Krstača, dobijenih primenom maceracije kljuka (4 h, 8 h) i enzima (Lallzyme cuveé blanc, Lallzyme beta)	106
6.1.5. Senzorna ocena vina Krstača, dobijenih primenom različitih kvasaca (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Saccharomyces bayanus</i>) i hraniva za kvasce (Fermaid E, Fermaid O)	107
6.1.6. Senzorna ocena vina Žižka, gde su primenjene različite koncentracije bentonita (0, 50, 100, 150, 200 g/hl) za bistrenje šire	108
6.1.7. Senzorna ocena vina Žižka, gde su primenjene različite koncentracije metala Fe ²⁺ (5 mg/l, 15 mg/l), Zn ²⁺ (3 mg/l, 6 mg/l) i Cu ²⁺ (3 mg/l, 6 mg/l) ...	108
6.1.8. Senzorna ocena vina Žižka, dobijenih primenom različitog vremena taloženja šire (10 h, 20 h, 30 h)	108
6.1.9. Senzorna ocena vina Žižka, dobijenih primenom maceracije kljuka (4 h, 8 h) i enzima (Lallzyme cuveé blanc, Lallzyme beta)	109
6.1.10. Senzorna ocena vina Žižka, dobijenih primenom različitih kvasaca (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Saccharomyces bayanus</i>) i hraniva za kvasce (Fermaid E, Fermaid O)	109
6.2. Senzorna ocena odležalih vina sorti Krstač i Žižak	112
6.2.1. Senzorna ocena odležalih vina Krstača, gde su primenjene različite koncentracije bentonita (0, 50, 100, 150, 200 g/hl) za bistrenje šire	112
6.2.2. Senzorna ocena odležalih vina Krstača, gde su primenjene različite koncentracije metala Fe ²⁺ (5 mg/l, 15 mg/l), Zn ²⁺ (3 mg/l, 6 mg/l) i Cu ²⁺ (3 mg/l, 6 mg/l)	112
6.2.3. Senzorna ocena odležalih vina Krstača, dobijenih primenom različitog vremena taloženja šire (10 h, 20 h, 30 h)	113
6.2.4. Senzorna ocena odležalih vina Krstača, dobijenih primenom maceracije kljuka (4 h, 8 h) i enzima (Lallzyme cuveé blanc, Lallzyme beta)	114
6.2.5. Senzorna ocena odležalih vina Krstača, dobijenih primenom različitih kvasaca (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Saccharomyces bayanus</i>) i hraniva za kvasce (Fermaid E, Fermaid O)	115
6.2.6. Senzorna ocena odležalih vina Žižka, gde su primenjene različite koncentracije bentonita (0, 50, 100, 150, 200 g/hl) za bistrenje šire	115
6.2.7. Senzorna ocena odležalih vina Žižka, gde su primenjene različite koncentracije metala Fe ²⁺ (5 mg/l, 15 mg/l), Zn ²⁺ (3 mg/l, 6 mg/l) i Cu ²⁺ (3 mg/l, 6 mg/l)	115
6.2.8. Senzorna ocena odležalih vina Žižka, dobijenih primenom različitog vremena taloženja šire (10 h, 20 h, 30 h)	116
6.2.9. Senzorna ocena odležalih vina Žižka, dobijenih primenom maceracije kljuka (4 h, 8 h) i enzima (Lallzyme cuveé blanc, Lallzyme beta)	116
6.2.10. Senzorna ocena odležalih vina Žižka, dobijenih primenom različitih kvasaca (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Saccharomyces bayanus</i>) i hraniva za kvasce (Fermaid E, Fermaid O)	116
7. ZAKLJUČAK	120

8. LITERATURA	124
9. PRILOG	135
BIOGRAFIJA AUTORA	148
Izjava o autorstvu	149
Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada	150
Izjava o korišćenju	151

1. UVOD

Vino se smatra jednim od najstarijih proizvoda i veoma je cenjeno zbog svog jedinstvenog prijatnog mirisa i ukusa. Aromatična jedinjenja su važna u vinarstvu jer daju aromu, miris, ukus grožđa, šire i vina. Predstavljaju glavne pokazatelje da li će neko vino biti prihvaćeno ili odbijeno od strane potrošača. Aroma belog vina predstavlja važan aspekt njegovog kvaliteta i utiče na organoleptičke karakteristike vina. Zavisno od sadržaja isparljivih jedinjenja, u sortama belog grožđa identifikovano je preko 680 jedinjenja, dok je u grožđu i vinu više od hiljadu.

Jedinjenja koja potiču iz grožđa igraju važnu ulogu u aromi određenih vina. Iako je ukupan sastav većine sorti grožđa dosta sličan, postoje jasne razlike u njihovoj aromi i ukusu. Ove razlike se uglavnom pripisuju relativno malim varijacijama u odnosu jedinjenja koja čine profil arome grožđa. Nekoliko jedinjenja arome je u direktnoj vezi sa specifičnim sortnim aromama. Aromatična jedinjenja grožđa se nalaze u slobodnom obliku, direktno doprinoseći aromi vina, ili u vezanom neisparljivom obliku, obično kao glikozidi. Vezani (glikozidni) oblici su bez mirisa, ali hidrolizom mogu biti transformisani u isparljiva jedinjenja. Monoterpeni se nalaze u grožđu i obezbeđuju intenzivne cvetne i voćne mirisne nijanse, formirajući sortnu ili primarnu aromu. Koliko će se aromatičnih jedinjenja formirati u grožđu zavisi od sorte, stepena zrelosti, uslova sazrevanja (dnevne i noćne temperature, količine padavina), fitosanitarnog stanja, tipa zemljišta itd..

Aromatična kompleksnost vina varira u zavisnosti od sorte grožđa koja se koristi, arome koja je formirana tokom alkoholne fermentacije i onih koje se formiraju tokom sazrevanja. Obično se pri proizvodnji vina od belih sorti grožđa pokožica uklanja brzo, da ne bi došlo do neenzimskog ili enzimskog potamnjenja, usled prelaska polifenolnih jedinjenja u širu. Prilikom primene maceracije kod proizvodnje belog vina, važno je naći ravnotežu između trajanja kontakta pokožice i njenog uklanjanja. Koliko će aromatičnih jedinjenja biti u vinu zavisi od sorte, načina primarne prerade (muljanje, ceđenje), prefermentativne maceracije, uslova alkoholne fermentacije (kvasci, temperatura, prisustvo divlje mikroflore), načina nege i sazrevanja vina. Pored maceracije važno je enzimski tretirati vina. Sa dodavanjem enzimskih preparata, dolazi do enzimske hidrolize vezanih oblika aromatičnih jedinjenja, koja dovodi do oslobađanja aglikona i obogaćivanja arome.

Aromatične materije koje nastaju tokom alkoholne fermentacije ne utiču na sortni aromatični sastav vina. U zavisnosti od vrste i soja kvasca nastaju različita isparljiva jedinjenja, koja su poznata kao fermentaciona aroma. Primenom kvasca povećava se sposobnost hidrolize aromatičnih prekursora u soku, i na taj način intenzivira i poboljšava aroma u vinu. U zavisnosti od tretmana šire i uslova fermentacije, tokom alkoholne fermentacije se formiraju različite koncentracije aromatičnih jedinjenja. Temperatura fermentacije igra važnu ulogu u formiranju isparljivih jedinjenja i ima uticaj na senzorne karakteristike belih vina. Etil estri masnih kiselina (etil heksanoat, etil oktanoat, etil dekanoat), acetati i fuzelni alkoholi su veoma važni u belim vinima. Isparljivi estri daju voćnu aromu vinu.

Tokom alkoholne fermentacije kvasci mogu da koriste aminokiseline na mnogo načina, posebno za sintezu proteina, ili za druge metaboličke procese. Aminokiseline i amonijum joni su glavni izvori asimilacionog azota. Viši alkoholi i njihovi estri, i isparljive kiseline su najvažnija jedinjenja koja se formiraju iz aminokiselina. Sazrevanjem vina uglavnom dolazi do razvoja senzornih karakteristika, dok starenje je uglavnom povezano sa formiranjem atipičnih aroma koja utiču na pogoršanje kvaliteta belih vina.

U ovom istraživanju ispitivan je aromatski profil grožđa sorti vinove loze i vina Krstača i Žižka. Krstač i Žižak se gaje na Čemovskom polju, u okolini Podgorice. Površina pod vinogradima Krstača je 85,34 ha a prosečno se godišnje proizvede 942 550 kg grožđa. Površina pod vinogradima Žižka je 10,98 ha dok se prosečno proizvede 99 210 kg grožđa.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Agrobiološke i privredno-tehnološke karakteristike sorti Krstač i Žižak

U svakoj zemlji posebno se cene autohtone sorte vinove loze kao i vina proizvedena od njih. U Crnoj Gori se posebna pažnja posvećuje proizvodnji autohtonih belih sorti vinove loze (Krstač i Žižak) i crvenih sorti (Vranac i Kratošija).

Vino je vekovima bilo deo crnogorske tradicije, kulture, običaja i vere (Maraš et al., 2018). U sortimentu Crne Gore, autohtone sorte vinove loze zauzimaju veoma važno mesto a o njima se pisalo još u 15 veku (Budvanski statut) (Maraš et al., 2018). Srednjovekovni Statut Budve je najstariji pisani dokument (1423-1431), koji je imao čak 20 poglavlja posvećenih vinogradarstvu, grožđu i vinu. (Maraš et al., 2018). Prema Maraš et al. (2018) gajenje vinove loze se zasniva na teritoriji, istoriji i tradiciji, i posebno je važno naglasiti poreklo grožđa i važnost terroir-a (Maraš et al., 2015).

Vinograd „Ćemovsko polje“ je jedan od najvećih vinograda u Evropi u celini, i pripada crnogorskom basenu Skadarskog jezera tj. Podgoričkom subregionu. Na određenom lokalitetu, uspešnost gajenja vinove loze zavisi u prvom redu od agroekoloških uslova tog lokaliteta. Normalan razvoj vinove loze i dobijanje visokih prinosa kvalitetnog grožđa zavise od klimatskih, edafskih i biotičkih faktora (Hajduković et al., 2001).

Vinogradi na Ćemovskom polju, se nalaze na lako propusnim rastresitim supstratima koji su izuzetno povoljni za gajenje vinove loze. Postoji jedan prirodan nedostatak, a to je, da su oskudni u vodi i to u kritičnim fazama vegetacije (Hajduković et al., 2001). Ovaj problem se rešava navodnjavanjem. Zemljište je formirano na konglomeratu fluvioglacialnih sedimenata koji se sastoje od krečnog ili dolomitnog kamenja zaobljenog oblika, šljunka i peska (Hajduković et al., 2001).

Zbog male nadmorske visine, neznatne oblačnosti, male količine padavina tokom leta, i golih krečnjačkih stena koji se leti zagrevaju po obodu, srednje mesečne i godišnje temperature su ujednačene (Hajduković et al., 2001). U ovom delu crnogorskog rejona (Ćemovsko polje) su najviše bile julske temperature (Hajduković et al., 2001). Podgoričko vinogorje ima modifikovan mediteranski tip godišnjeg doba padavina. Maksimum padavina je bilo u novembru a minimum u julu (Hajduković et al., 2001). Prema Hajduković et al. (2001), raspored i količina padavina je nepovoljan u vegetacionom periodu, a u toku razvoja zelenih bobica padne u proseku 50 mm padavina, što ne zadovoljava potrebu za vodom. U najsušnijem mesecu julu padne 39,6 mm padavina, dok u najkišovitijem mesecu vegetacionog perioda oktobru 166 mm padavina (Hajduković et al., 2001).

Vetrovi su veoma važni metereološki elementi klime na Ćemovskom polju. Severni vetar je najdominantniji i duva u drugoj polovini godine. Ovaj vetar duva sa planina, smanjuje vlažnost, snižava temperaturu i razbija oblačnost. Vetar jugo najviše duva u oktobru, novembru i aprilu, iz pravca mora na kontinent i donosi obilne kiše (Hajduković et al., 2001).

Prema podacima Hajduković et al. (2001), srednja temperatura vazduha za podgoričko vinogorje iznosila je 15,3°C, za najhladniji mesec januar 5,0°C, dok je srednja julska temperatura bila 26,0°C. Ovo vinogorje ima jako topla leta. Kod svih srednjih temperatura u zimskim mesecima jak je uticaj Jadranskog mora i Skadarskog jezera, dok u delovima podgoričkog vinogorja koji imaju višu nadmorsku visinu na temperaturu utiče i reljef (Hajduković et al., 2001).

2.1.1. Agrobiološke i privredno-tehnološke karakteristike sorte Krstač

Krstač je autohtona crnogorska sorta (Slika 1) koja se od davnih vremena gajila u vinogradima podgoričkog vinogorja (Maraš et al., 2018). Crnogorski akademik Ulićević (1959) navodi da je u

regionu Skadarskog jezera, Krstač bio dominantna bela sorta vinove loze. Prema Ulićeviću (1966) a kojeg navode Maraš et al. (2018), u Doljanima se ova sorta nazivala „Krstača bijela“, dok je u Vražegrmcima „Bijela krsta“, i u Berima „Bijela vinogradarska“. Krstač se sada gaji u okolini Podgorice. Prema istraživanjima Maraš et al. (2018), na osnovu genetičke identifikacije je potvrđen originalan i jedinstven DNK profil sorti vinove loze Krstač i Žižak.



Slika 1. Autohtona sorta vinove loze Krstač u Crnoj Gori (autor: Valerija Madžgalj)

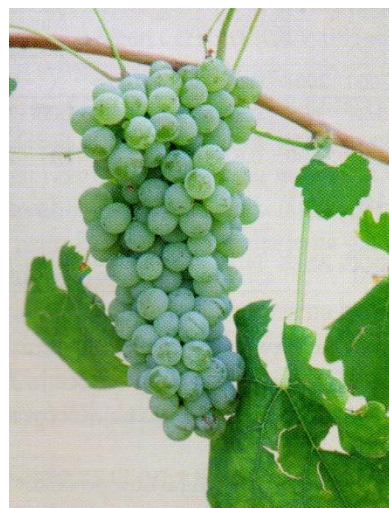
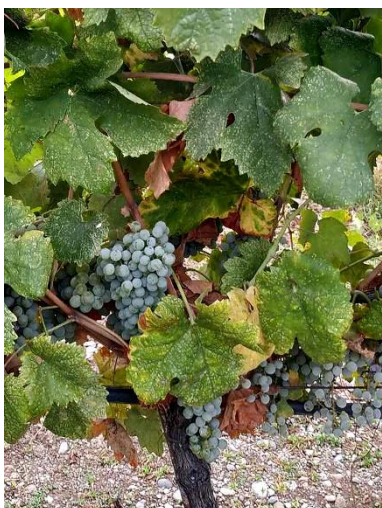
Grozđ Krstača je srednje velik, srednje širok, u obliku levka, zbijen, sa jače razvijenim ograncima na osnovi grozđ (oblik krsta) (Savić, 2003; 2016). Bobica je velika sa srednje kratkom peteljkom, blago eliptična, zelenožuta, sa tankom pokožicom i malo pepeljka (Savić, 2016). Cvet je funkcionalno dvopolan i čokot je bujan (Hajduković et al., 2001; Savić, 2003). Prema Savić (2016), Krstač dobro uspeva na skeletnim zemljištima i osunčanim terenima sa umerenom plodnošću, odgovaraju mu niži uzgojni oblici sa većim razmakom sadnje. Krstač je vrlo rodna, prinosna i srednje pozna sorta (Savić, 2003; 2016). Veoma je osetljiv na sivu trulež, koja se pojačava sa količinom padavina (Hajduković et al, 2001; Savić et al., 2016). Prosečna masa grozđ je 282 g, dok je udeo mesa u grozđu 87,67 %, pokožice 6,15%, šepurine 4,29 % i semenki 1,89 % (Savić, 2016).

2.1.2. Agrobiološke i privredno-tehnološke karakteristike sorte Žižak

Žižak je autohtona crnogorska sorta za proizvodnju visokokvalitetnih vina (Slika 2). Nije bila previše rasprostranjena, dok u poslednje vreme proizvođači vina su sve više zainteresovani za ovu perspektivnu sortu vinove loze. U nekim mestima u Bokokotorskom zalivu proizvodila su se vina tipa Prošek, dok u Bokokotorskom zalivu Žižak je bio poznat kao Žižak bijeli (Maraš et al., 2015; Maraš et al., 2018).

Sorta Žižak je ranije bila malo zastupljena na Ćemovskom polju, ali zbog velikog enološkog potencijala ove sorte, danas je 10,98 ha pod zasadima ove sorte. Grozđ je srednje veliki, kratak, valjkastog ili levkastog oblika, ima rastresito zbijen plod sa kratkom peteljkom (Savić, 2016). Bobica je mala, zelenožuta, okrugla sa srednje do debelom pokožicom, i srednje prekrivenim pepeljkom (Savić, 2016). Čokot je vrlo bujan. dok je cvet funkcionalan i dvopolan (Savić, 2003).

Žižak je rodna, srednje prinosna, slabo do srednje bujna i pozna sorta (sazreva krajem septembra) (Savić, 2003; 2016). Odgovaraju mu umereno plodna skeletna zemljišta i špalirski uzgojni oblici (Savić, 2003; 2016). Ova sorta je osetljiva do srednje osetljiva na plamenjaču, dok je grozđe vinove loze Žižak otporno na plesan *Botrytis cinerea*. Zbog izrazite otpornosti prema svojoj plesni može dugo vremena da se ostavi na čokotu radi proizvodnje prirodno slatkih vina (Savić, 2016).



Slika 2. Autohtona sorta vinove loze Žižak u Crnoj Gori (autori: 1. Valerija Madžgalj; 2. Svetozar Savić, 2016)

Prosečan prinos po čokotu je 2,64 kg, broj grozdova je 29, dok je prosečna masa grozda 120,04 g (Savić, 2016). Udeo mesa u grozdu je 87,67 %, pokožice 6,15%, šepurine 4,29 % i semenki 1,89 % (Savić, 2016).

2.2. Aromatične materije grožđa, šire i vina

Percepcija ukusa i arome je rezultat mnoštva interakcija između senzornih receptora i velikog broja hemijskih jedinjenja. Jedinjenja reaguju, spajaju se i pokazuju sinergističko (tj. prisustvo jednog jedinjenja pojačava percepciju drugog) i antagonističko dejstvo (jedinjenje suzbija percepciju drugog) (Styger et al., 2011). Složenost vinskih aroma, koja ih čini posebno teškim za proučavanje, zbog raznolikosti mehanizama koji su uključeni u njihov razvoj kao što su (Ribéreau-Gayon et al., 2006b; Conde et al., 2007):

- ❖ metabolizam grožđa (zavisi od sorte, klime, zemljišta);
- ❖ biohemijske pojave (hidroliza i oksidacija), pokreću se tokom ekstrakcije soka i maceracije, dok nastaju pre fermentacije;
- ❖ metabolizmi fermentacije mikroorganizama koji su odgovorni za alkoholnu i malolaktičku fermentaciju;
- ❖ enzimske i hemijske reakcije koje nastaju nakon fermentacije tokom sazrevanja vina.

2.2.1. Primarne aromatične materije i njihovi prekursori

Sortna aromatična jedinjenja u grožđu podeljena su u dve klase, one koje se nalaze u slobodnom obliku, koja su isparljiva i direktno se mogu osetiti, i one koje se mogu osetiti tokom biohemijskih procesa proizvodnje vina iz specifičnih prekursora prisutnih u grožđu (Cheynier et al., 2010). Intenzitet i različitost aromatičnih jedinjenja koje se nalaze u grožđu su veoma važni. Obično se prihvata da je sortna aroma grožđa lokalizovana u unutrašnjim ćeljskim slojevima pokožice i u manjoj količini u soku i pulpi, ali raspodela isparljivih jedinjenja nije ista kod svih sorti (Gómez et al., 1994). Oko polovine isparljivih jedinjenja prisutnih u bobicama grožđa su pronađeni u pokožici, dok u bobici raspored slobodnih i glikozidnih oblika nije ujednačen (Garcia et al., 2003).

Prilikom proizvodnje vina se koristi grožđe vrste *Vitis vinifera* koje nema karakterističnu aromu, mada postoje izuzetci, kao što su monoterpeni u muskatnim sortama. Međutim, ovo grožđe

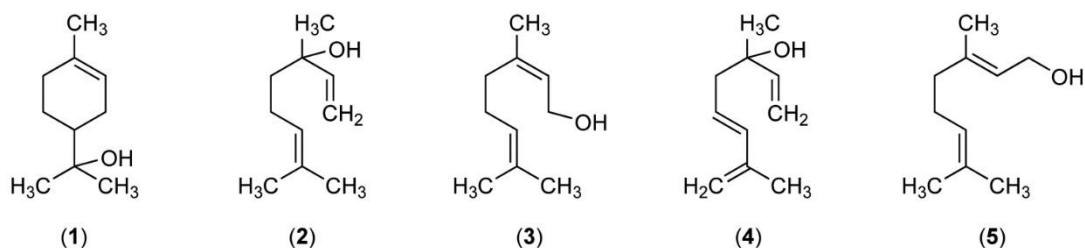
sadrži različite grupe neisparljivih aromatičnih prekursora: nezasićeni lipidi, karotenoidi, fenolne kiseline, glukokonjugati, S-cistein konjugati, i S-metilmetionin (Baumes, 2009).

Mirisna jedinjenja iz grožđa, koja odražavaju određenu sortu, igraju odlučujuću ulogu u kvalitetu i regionalnom karakteru vina. Aromatična jedinjenja kao što su monoterpeni, C₁₃-norizoprenoidi, metokspirazini, i sumporna jedinjenja su odgovorni za sortnu aromu vina. C₆ alkoholi dobijeni iz lipida grožđa mogu takođe delovati kao sortni markeri (Conde et al., 2007). Monoterpeni i norizoprenoidi u grožđu obezbeđuju intenzivni cvetni i voćni miris, formirajući sortnu ili primarnu aromu (Diégues et al., 2003).

2.2.1.1. Terpenski alkoholi – terpenoli

Monoterpeni se javljaju u obliku alkohola (linalol, geraniol), estara (linalal acetat), aldehida (linalal, geranial), i jednostavnih ugljovodonika (limonen, mircen) (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Ribéreau-Gayon et al. (2006b) navodi da je Austerweil 1946. godine prvi put izneo hipotezu da su terpenska jedinjenja bila uključena u aromi Muskata, a prisutnost tri monoterpenska alkohola (linalol, α -terpineol i geraniol) u Muskatnom grožđu prvi je pretpostavio Cordonnier 1956. godine.

Terpenska jedinjenja su odgovorna za karakterističnu aromu u Muskat grožđu i vinima, mada se mogu naći u nižim koncentracijama u manje aromatičnim sortama (Conde et al., 2007). Poznato je oko 50 monoterpenskih jedinjenja (Conde et al., 2007). Ribéreau-Gayon et al. (2006b) navodi da neki od monoterpenskih alkohola spadaju među one koji su najmirisniji, naročito linalol, α -terpineol, nerol, geraniol, citronelol i hotrienol koji ima cvetnu aromu esencije ruže (Slika 3). Najmirisniji su citronelol i linalol (Garcia et al., 2003; Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

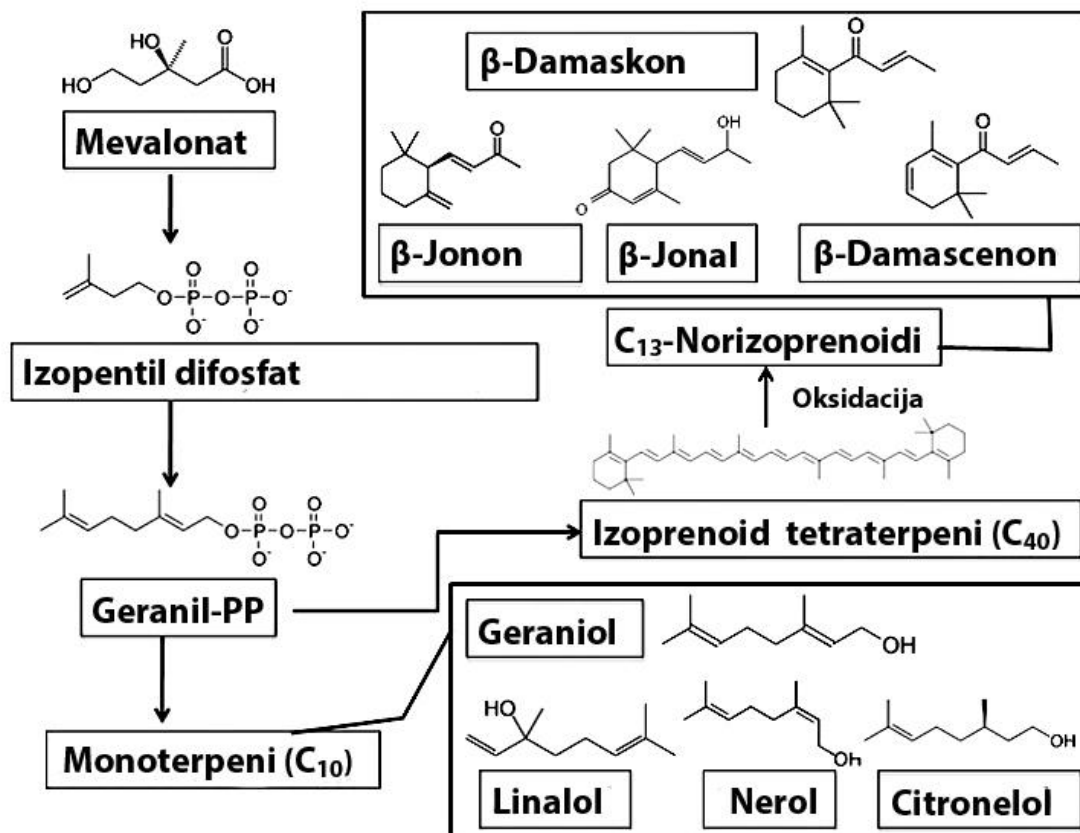


Slika 3. Glavni terpenoli u grožđu i vinu (1= α -terpineol, 2=linalol, 3=nerol, 4=hotrienol, 5=geraniol) (Cheynier et al., 2010).

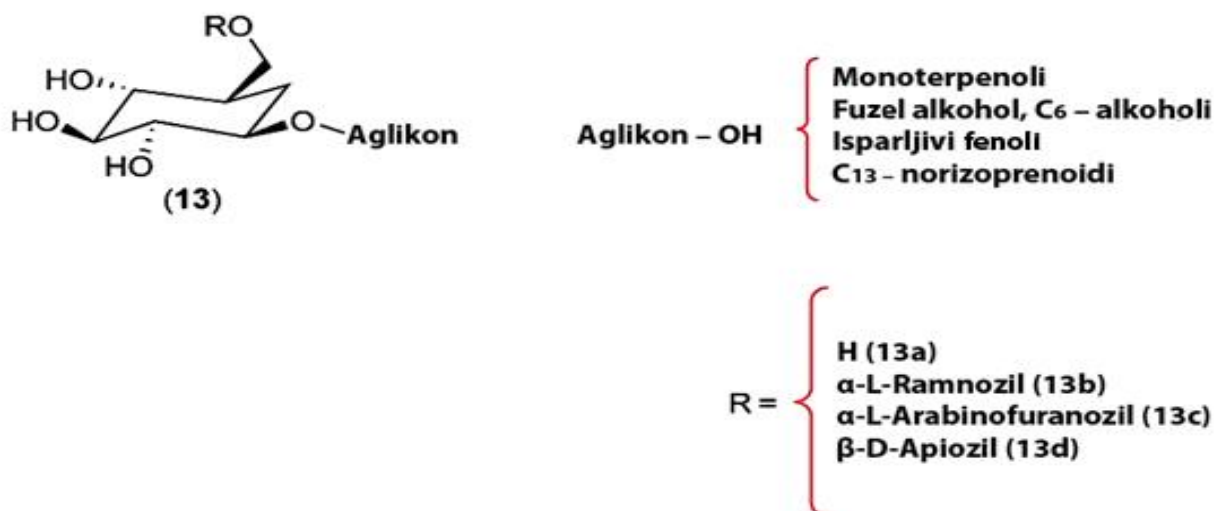
Biosinteza terpena je proučavana kod biljaka pa se može primeniti na grožđe. Monoterpeni se sintetišu iz prekursora mevalonata, metabolita koji je izveden iz acetil-CoA (Styger et al., 2011) (Slika 4). Mevalonska kiselina prolazi kroz niz reakcija do proizvodnje geranil pirofosfata (Garcia et al., 2003; Styger et al., 2011). Postoje tri oblika monoterpena: monoterpeni u slobodnom obliku, slobodni bezmirisni polioli (dioli i tioli) (Conde et al., 2007), i glikozidno konjugovani oblici (Styger et al., 2011). Monoterpeni u slobodnom obliku su isparljivi i dominantni, kao što su linalol, nerol i geraniol (Conde et al., 2007). Neki od bezmirisnih poliola su reaktivni i mogu se lako razgraditi dajući prijatne i isparljive sastojke (Conde et al., 2007).

Glikozidni monoterpeni se razlikuju od slobodnih po njihovim udelima u različitim sortama grožđa. Imaju viši sadržaj nego slobodni oblici, posebno dioksigenerani monoterpeni, koji su dominantni u nearomatičnim sortama grožđa (Cheynier et al., 2010). Glikonski deo je sastavljen od glukoze ili disaharida, koji se sastoji od ramnoze i glukoze ili arabinoze (Conde et al., 2007). U aromatičnom grožđu, glikozidni prekursori se kreću između 6,5 i 28 mg/l (Conde et al., 2007). Terpenski glikozidi se mogu hidrolizovati u kiseljoj sredini (pH=3) ili sa enzimima (Conde et al., 2007).

Slobodni i vezani oblici terpenola nakupljaju se sa sazrijevanjem grožđa (Conde et al., 2007). Uslovi u vinogradu, kao što su navodnjavanje i temperatura, mogu uticati na bolju sintezu aromatičnih jedinjenja tokom zrenja (Conde et al., 2007). Glikozidni aromatični prekursori u grožđu su prikazani na slici 5.



Slika 4. Formiranje terpena i norizoprenoida iz prekursora mevaloata, metabolita acetyl-CoA (Styger et al., 2011)



Slika 5. Glikozidni aromatični prekursori u grožđu. Deo ugljenih hidrata glikozida grožđa: β-D-glukopiranozidi (13a), tri klase diglikozida (13b, 13c i 13d) (Cheyner et al., 2010)

Tokom alkoholne fermentacije kvasci mogu otpustiti enzime, koji hidrolizuju glikozidne veze bezmirisnih vezanih oblika monoterpena, oslobađajući jedinjenja koja doprinose mirisu vina (Conde et al., 2007). Sojevi kvasaca imaju veoma važan uticaj na nivo sortnih aromatičnih jedinjenja, i sinteza ovih jedinjenja može biti sastavni deo metabolizma kvasca (Conde et al., 2007). Zbog toga se karakteristična aroma grožđa nekih sorti pojavljuje tokom alkoholne fermentacije (Sovinjon blana i nekih sorti sa jednostavnim aromama) (Conde et al., 2007).

2.2.1.2. Derivati C₁₃-norizoprenoida

U sortnoj aromi karotenoidi igraju važnu ulogu. Karotenoidi su izoprenoidni tetraterpeni koji potiču od jedinjenja mevalonata (Styger et al., 2011). Oksidacijom ovih jedinjenja dobijaju se isparljivi i snažni mirisni oblici koji se nazivaju C₁₃-norizoprenoidi, uključujući β-jonon (aroma ljubičice), β-damascenon (egzotično voće), β-damaskon (ruža) i β-jonol (voće i cveće) (Styger et al., 2011) (Slika 4). Sadržaj karotenoida u grožđu zavisi od sorte grožđa, klimatskih uslova, poljoprivredne tehnike. Uglavnom se nalaze u pokožici i to dva puta u višim koncentracijama nego u pulpi, dok ih nema u soku (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Karotenoidi nastaju u hloroplastima grožđa i više od 600 karotenoida i ksantofila su izolovani iz prirodnih izvora (Robinson et al., 2014). Samo nekoliko njih su identifikovani u grožđu i vinima, dok β-karotin i lutein sadrži 85% od ukupnih (Robinson et al., 2014).

C₁₃-norizoprenoidi koji su identifikovani u grožđu su di- ili tri oksigenovani ili glikokonjugovani. Uglavnom su prisutni u grožđu u obliku neisparljivih prekursora (karotenoidi i glikozidi) (Cheynier et al., 2010). Nastaju u bobicama oksidativnom razgradnjom C₄₀ izoprenoidnih prekursora (karotenoidni pigmenti), koji su uključeni u fotosintetsku aktivnost u grožđu (Cheynier et al., 2010). Oksidativnom razgradnjom karotenoida nastaju derivati sa 9, 10, 11 ili 13 C atoma. Među njima norizoprenoidni derivati sa 13C atoma (C₁₃-norizoprenoidi), imaju interesantne mirisne karakteristike (Ribéreau-Gayon et al., 2006; Conde et al. 2007). Ova jedinjenja su uobičajena u duvanu, gde su u početku proučavana (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

Norizoprenoidni derivati su podeljeni u dve grupe: megastigmane i nemegastigmane. Oblici megastigmana, derivata norizoprenoida, uključuju jedinjenja kao što je β-damascenon, sa složenim mirisom cveća, tropskog voća i kuvane jabuke (Ribéreau-Gayon et al., 2006b; Conde et al., 2007). Megastigmani su oksigenizovani C₁₃-norizoprenoidi, sa prstenima koji su oksigenizovani na C7 (damascenon serija) i C9 (jonon serija). β-jonon je sa karakterističnom aromom ljubičice (Conde et al., 2007).

β-damascenon je prvo identifikovan u Rizlingu i Muskatu i koncentracija ovog jedinjenja dosta varira u belim i crvenim vinima, pri čemu je njegova koncentracija viša u crvenim u odnosu na bela vina (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Što se tiče koncentracija β-jonona u belim vinima je zanemarljiva, dok može igrati značajnu ulogu u aromatskom profilu crvenih vina (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

2.2.1.3. Metoksipirazini

Aroma vina je važan aspekt kvaliteta vina, dok aromatične komponente koje su tipične za određeno grožđe često daju važan doprinos. Sovinjon blan je sorta čiji se tipični miris može opisati kao vegetativni, biljni, travnati, miris špangle i nijanse zelene paprike (Marais, 1994). Ove mirisne nijanse se smatraju tipične za aromu Sovinjon blana koje potiču od posebne grupe hemijskih komponenti koje se nazivaju metoksipirazini (Marais, 1994).

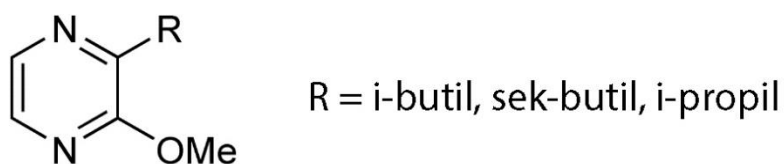
Metoksipirazini su heterociklična azotna jedinjenja nastala metabolizmom aminokiselina. Jedinjenja kao što su 2-metoksi-3-izopropilpirazin, imaju mirise koje podsećaju na zelenu papriku i šparglu i prvi put su identifikovana u grožđu sorte Kaberne sovinjon (Ribéreau-Gayon et al., 2006b,

Cheyrier et al., 2010). Pirazini su identifikovani u mnogo sorti grožđa i vina (Sovinjon blan, Kaberne fran, Merlo, Pino noar, Šardone i Rizling). Međutim, koncentracija ovih jedinjenja je značajno iznad praga percepcije u grožđu i vinima sorti Sovinjon blan, Kaberne sovinjon, Kaberne fran a ponekad i u Merlou (Ribéreau-Gayon et al., 2006b, Conde et al. 2007).

Aminokiseline valin, glicin i metionin se smatraju prekursorima 2-metoksi-3-izopropilpirazina (Marais, 1994). Međutim, tačan put formiranja metoksipirizina je nepoznat. Smatra se, da je put biosinteze za formiranje metoksipirazina sasvim drugačiji od formiranja monoterpena i C₁₃-norizoprenoida. Važan metoksipirazin koji je prisutan u grožđu i vinu Sovinjona blana je 2-metoksi-3-izobutilpirazin (ibMP), dok su 2 metoksi-3-izopropilpirazin (ipMP) i 2-metoksi-3-*sec*-butilpirazin (sbMP) uopšteno prisutni (Marais, 1994). Metoksipirazini se razlikuju što se tiče njihovih aroma, arome zelene paprike (tipične za ibMP) i arome graška/špargle (tipične za ipMP). Stoga, složenost i nijanse arome Sovinjon blana zavisi između ostalog, da li se ove komponente javljaju na nivoima iznad praga percepcije (Marais, 1994). Istraživanja su pokazala da sadržaj alkil metoksipirazina u vinu zavisi u prvom redu od sastava grožđa (Robinson et al., 2014).

Potvrđena je uloga metoksipirazina u biljnoj aromi određenih sorti grožđa, kao što je Kaberne sovinjon (Conde et al., 2007). Conde et al. (2007) navodi da se ova jedinjenja u grožđu nalaze u slobodnom obliku i nisu identifikovani oblici prekursora. Biljna aroma u grožđu je najočiglednija kada grožđe nije zrelo (Conde et al. 2007). Tokom sazrevanja sadržaj metoksipirazina se smanjuje. Postepeno izlaganje grožđa suncu tokom defolijacije utiče na smanjenje metoksipirazina, dok niske temperature imaju suprotan efekat, a struktura zemljišta ima najveći uticaj (Conde et al. 2007).

Zanimljivo je pomenuti da se neke sortne arome pojavljuju nezavisne jedne od drugih. Smatra se da „zeleni“ karakter vina sorte Sovinjon blan pripada 3-izobutil-2-metoksipirazinima na koje se može uticati kroz ampelotehničke i agrotehničke mere (Styger et al., 2011). 2-alkil-3-metoksipirazini (Slika 6) se smatraju nepovoljnim u aromi vina pa se prilikom proizvodnje pokušava smanjiti njihov sadržaj (Styger et al., 2011). To se može postići ampelotehničkim merama (defolijacija), branjem zrelijeg grožđa, kao i koristeći procese proizvodnje vina limitirajući njihovu ekstrakciju iz pokožice grožđa (Cheyner et al., 2010).



Slika 6. 2-alkil-3-metoksipirazini u grožđu (Styger et al., 2011)

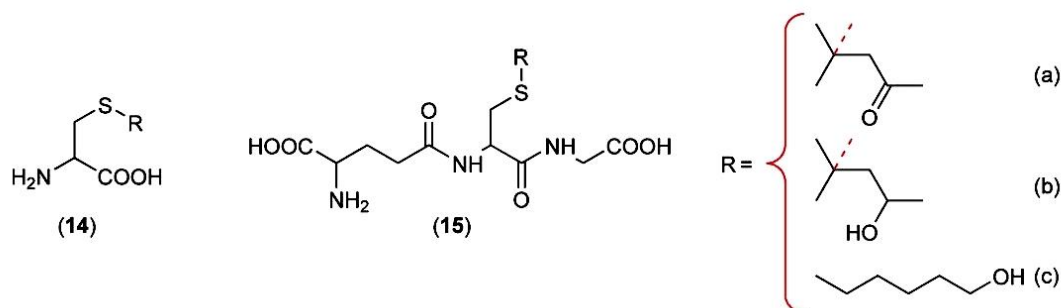
2.2.1.4. Jedinjenja sa tiolnom funkcijom – merkaptopentanoni

Isparljiva sumporna jedinjenja se obično dele u dve kategorije: jedinjenja niske isparljivosti koja doprinose senzornom kvalitetu vina i visoko isparljiva jedinjenja, od kojih su većina povezana sa defektnim aromama (etantiol, metantiol, vodonik sulfid) (Ruiz et al., 2019). Prva grupa uključuje jedinjenja velike molekulske mase, koja se mogu naći u veoma niskim koncentracijama, ali iznad praga percepcije u vinu (Ruiz et al., 2019). Sumporna jedinjenja u porodici tiola (merkaptani), generalno se smatraju za mirisne nedostatke (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Mirisna jedinjenja sa tiolnom funkcijom učestvuju u aromama određenih sorti grožđa, posebno Sovinjon blana. 4-merkaptopentan-2-on je prvi molekul koji je nađen kao karakterističan sastojak arome Sovinjon blan vina (Ribéreau-Gayon et al., 2006b; Conde et al., 2007; Styger et al., 2011). Ovi ekstremno mirisni merkaptopentanoni imaju miris na šimšir (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Njegov

prag percepcije u rastvoru je 0,8 ng/l (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Styger et al. (2011) navodi da je za karakteristični miris vina Sovinjon blana odgovoran i 3-merkpto-1- heksanol.

Prekursor iz kojih se formiraju sortna sumporna jedinjenja tokom alkoholne fermentacije je S-cistein konjugat grožđa (Conde et al., 2007, Cheyner et al., 2010). Kvasci *Saccharomyces cerevisiae* sa aktivnošću β -lijaze razgrađuju ove prekursore, stvarajući sortne tiole koji su veoma mirisna jedinjenja (Cheyner et al., 2010). Poznato je da su detektovana četiri isparljiva tiola u vinima, 4-metil-4-merkaptopentan-2-on (4MMP), 4-metil-4-sulfanilpentan-2-ol (4MMPOH), 3-merkptoheksanol (3MH) i 3-merkptoheksil acetat (Ac3MH) (Morreno-Aribas i Polo, 2007; Cheyner et al., 2010; Ruiz et al, 2014). Kompleksni miris 3-merkptoheksil acetata podseća na šimširovinu, kao i na grejpfрут i voće marakuje. 3-merkptoheksanol je prisutan u malim količinama, ali iznad praga percepcije u vinima sorte Šardone (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). 3-sulfanil-heksanol i njegov acetat su prisutni u mnogim sortama grožđa što nije slučaj za 4-metil-4-sulfanil-pentan-2-on. Sveprisutnost 3MH delom je posledica drugog načina formiranja ovog isparljivog jedinjenja tokom fermentacije (Morreno-Aribas i Polo, 2007; Cheyner et al., 2010). Benzen-metantiol, ekstremno mirisan merkaptan sa pragom percepcije 0,3 ng/l u razblaženom alkoholnom rastvoru, je identifikovan u nekoliko belih vina (Šardone, Sovinjon blan) i crvenih vina (Merlo, Kaberne) (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Koncentracije u vinima Šardonea su oko 30-40 ng/l dok su one u Sovinjon blanu 10-20 ng/l (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

Ova jedinjenja se javljaju u širi kao neisparljivi, bezmirisni, cistein-vezani konjugati i nisu prisutna u grožđanom soku, u njihovom aktivnom obliku. Utvrđeno je da su neka jedinjenja prisutna u širi u S-cistein konjugovanom obliku u većim količinama, nego arome koje se stvaraju u vinu (Conde et al, 2007). Isparljivi tioli potiču od tri konjugata cisteina koji su identifikovani u bobicama grožđa (Slika 7). Konjugat 3-merkptoheksanol glutationa je identifikovan u širi Sovinjon blana, i može biti prekursor 3-merkptoheksanola (Sheynier et al., 2010).



Slika 7. Prekursori isparljivih tiola prisutnih u grožđu (14 = cisteinil konjugat, 15 = glutationil konjugat, a = 4-metilpentan-2-on, b = 4-metilpentan-2-ol, c = heksanol) (Cheyner et al., 2010).

Postoje tri puta biogeneze koje objašnjavaju oslobađanje 4MMP i 3MH iz njihovih bezmirisnih prekursora u vinu (Roland et al., 2011). Prvi put uključuje cisteinilirane prekursore, koji su prvo identifikovani u grožđu Sovinjon blana a onda u Merlou, Kaberne sovinjonu, Rizlingu i dr. (Roland et al., 2011). S-cistein konjugati se cepaju aktivnošću kvaščeve β -lijaze tokom alkoholne fermentacije. S-3-(heksan-1-ol)-cistein (Cys3MH) je prisutniji i obilniji u grožđu nego S-3-(4-merkpto-4-metilpentan-2-on)-cistein (Cys4MMP) (Roland et al., 2011). Drugi put biogeneze odnosi se na prekursora koji sadrže glutation: S-3-(heksan-1-ol)-glutation (G3MH) identifikovan u grožđu sorti Sovinjon blan, Rizling, Šardone i S-3-(4-merkpto-4-metilpentan-2-on)-glutation identifikovan u grožđu Sovinjon blan i Rizling (Roland et al., 2011). Mehanizam oslobađanja tiola iz glutationiliranih prekursora istražen je samo za G3MH (Roland et al., 2011). Ovi prekursori su zastupljeni znatno manje od cistein prekursora (Roland et al., 2011). Treći put biogeneze uključuje C₆ nezasićena jedinjenja kao što je (E)-2-heksenal (Roland et al., 2011).

S-cistein konjugati su odgovorni za neobičnu senzaciju poznatu kao „Sovinjon blan aftertaste“, koji se opaža prilikom degustacije grožđa Sovinjon blan i šire (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Enzimi pljuvačke verovatno imaju aktivnost β -lijaze, koja može osloboditi isparljive tirole iz njihovih cisteiniliranih prekursora za samo nekoliko sekundi (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). 4-MMP i 4-MMPOH prekursori se uglavnom nalaze u pulpi (približno 80 %) dok pokožica i pulpa sadrže jednake količine 3MH prekursora (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Slično tome, većina (60 %), 3-merkaptotioheksan-1-ol se nalazi u pokožici grožđa sorti Kaberne sovinjon ili Merlo (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

Enzimaska aktivnost kvasca je neophodna da bi se cepali S-cistein konjugati, i pokazano je da fermentacija sa različitim sojevima kvasca *Saccharomyces cerevisiae*, dovodi do veoma različitih količina mirisnih tiola (Conde et al., 2007). Stoga, fermentacija otkriva primarnu aromu skrivenu u vinu (Conde et al., 2007). Što se tiče ac3MH, nema direktnog prekursora u grožđu (Morreno-Aribas i Polo, 2007). Biosinteza ovih tiola je povezana sa S- β -lijazom i aktivnosti acetil transferaze kvasca, što zavisi od sastava šire, soja kvasca i uslova fermentacije (Morreno-Aribas i Polo, 2007).

Tokom sazrevanja vina, nivo tih tiola opada, i ovo smanjenje zavisi od oksidativnih uslova tokom odležavanja (Morreno-Aribas i Polo, 2007). Zaštitni efekat na isparljive tirole imaju talog, SO₂, glutation i antocijanini, dok povećan kontakt sa kiseonikom, posebno prisustvo derivata katehina, favorizuje njihovu degradaciju (Morreno-Aribas i Polo, 2007).

Dimetil sulfid (DMS) je lakoisparljivo jedinjenje u vinu i ima mirisni prag percepcije 27 μ g/l u crvenom i 25 μ g/l u belom vinu (Morreno-Aribas i Polo, 2007). Njegov sadržaj u mladim vinima je često niži od mirisnog praga percepcije, a kod odležalih vina može dostići 900 μ g/l u razvijenim vinima (Cheynier et al., 2010). Visoke koncentracije DMS u dobro razvijenim vinima, uglavnom onih koji potiču od kasno ubranog belog grožđa, donosi note tartufa (gomoljike) (Morreno-Aribas i Polo, 2007). Pri nižim koncentracijama ovo jedinjenje doprinosi voćnim notama crvenih vina (Cheynier et al., 2010). Međutim, njihov uticaj na aromu vina bio je ponekad okarakterisan negativno (Morreno-Aribas i Polo, 2007).

Robinson et al. (2014) navodi da generalno dimetil sulfid pozitivno ne doprinosi aromi belog vina, budući da pojačava karakteristike špangle, kukuruza i melase, iako bi se to moglo smatrati povećanjem složenosti arome. DMS, metional, dietil sulfid i dietil-disulfid povećavaju se u vinu čuvanom na povišenoj temperaturi, i može doprineti aromi zrelih vina (Robinson et al., 2014). Sortni dimetil sulfid nastaje tokom fermentacije od S-metilmetionina (SMM) i dimetilsulfoksida grožđa, ali samo od SMM u prefermentativnoj fazi (Cheynier et al., 2010). Tokom fermentacione faze, *S. cerevisiae* je sposoban da redukuje dimetil sulfid (DMSO) u dimetil sulfid (Cheynier et al., 2010). Morreno-Aribas i Polo (2007) navode da je DMS uz pomoć kvasca, biogenerisan od strane DMSO i nekih aminokiselina sa sumporom, kao što su cistein, cistin i glutation, ali sadržaj DMSO u širi je generalno nizak. Sortni DMS proizveden od strane kvasca, zbog svoje isparljivosti, uglavnom se uklanja ugljendioksidom tokom alkoholne fermentacije, i na ovaj način su koncentracije u flaširanim vinima generalno niske (Cheynier et al., 2010). Tokom sazrevanja u bocama, sadržaj sortnog DMS se povećava sa vremenom i toplotom, ali u ovoj fazi on se jedino dobija od SMM, isključivo hemijskim reakcijama (Cheynier et al., 2010).

2.2.1.5. Aroma grožđa američke loze

Evropska vinova loza pripada botaničkoj vrsti *Vitis vinifera*, koja se najviše koristi za proizvodnju vina širom sveta. Nažalost, grožđe *Vitis vinifera* je podložno različitim bolestima, plesnima, oštećenjima od insekata, posebno filokseri (Teissedre, 2018). Zbog zdravstvenog aspekta, težnja je svakog vinogradara da smanji upotrebu pesticida (fungicida i insekticida). Grožđe *Vitis vinifera* ima bolje karakteristike arome za proizvodnju vina, ali je podložno bolestima i ekstremnim

temperaturama, dok domaće vrste poreklom iz severne Amerike su generalno bolje prilagođene biološkom stresu (Teissedre, 2018).

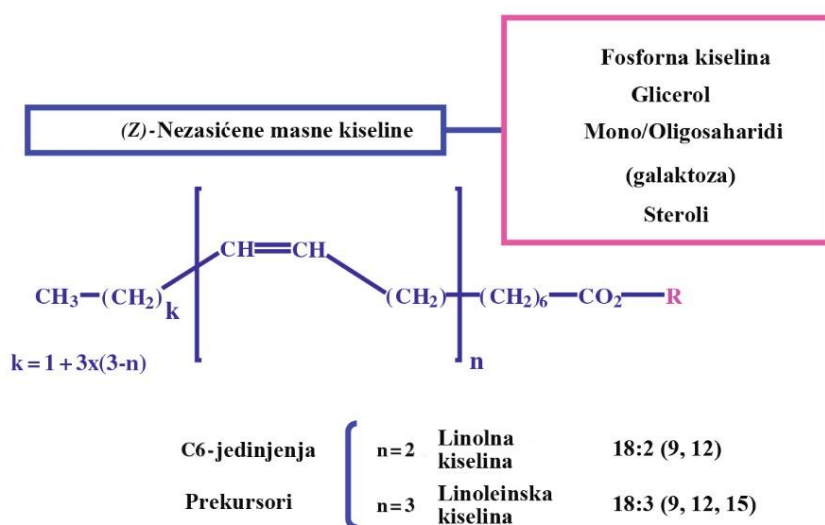
Domaće američke vrste grožđa imaju poželjna svojstva za gajenje vinove loze, ali hibridi od divljeg grožđa koji nisu ukršteni sa vrstama *Vitis vinifera*, često imaju nepoželjne arome (Teissedre, 2018). Osim „foxy“ mirisnih jedinjenja u *V. labrusca* i *V. rotundifolia*, arome koje pripadaju američkim *Vitis* vrstama nisu tako dobro okarakterisane (Teissedre, 2018). Dugo se smatralo da je metil antranilat jedini odgovoran za „foxy“ miris grožđa *Vitis labrusca* i *Vitis rotundifolia*. Sada su poznata i druga jedinjenja koja su uključena u arome ovih sorti: *o*-amino-acetofenon, etil antranilat, furaneol, 4-metoksi-2,5-dimetil-3-furanon, etil-3-merkaptopropionat (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Niske koncentracije etil-2 i 3-merkpto-propionata daju voćnu aromu, dok su veće količine odgovorne za sumporne mirise (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). U grožđu američke vrste *Vitis labrusca* utvrđeno je prisustvo acetofenona i dva furanona (4-hidroksi-2,5-dimetil-3-furanon) koji je poznat kao furaneol i 4-metoksi-2,5-dimetil-3-furanon koji podseća na jagode (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Većina ovih jedinjenja je identifikovana u *Vitis vinifera* vinima, ali u znatno nižim koncentracijama (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

Ključni mirisi u vinu proizvedenom od grožđa vrsta *V. riparia* i *V. cinerea* su okarakterisani od strane Teissedre (2018) u poređenju sa vinom koje je proizvedeno od vinskog grožđa (*V. vinifera*). Isparljiva jedinjenja grožđa sa voćnim i cvetnim aromama bila su sličnog potencijala, dok vina proizvedena od grožđa koje ne pripada vrsti *Vitis vinifera*, imali su veće koncentracije mirisa sa biljnim i zemljanim aromama: eugenol, *cis*-3-heksenol, 1,8-cineol, 3-izobutil-2-metoksipirazin (IBMP) i 3-izopropil-2-metoksipirazin (IPMP) (Teissedre, 2018).

2.2.2. Sekundarne aromatične materije i njihovi prekursori

2.2.2.1. Nezasićene masne kiseline

Prekursori arome vina su estri linolne i linoleinske kiseline koji predstavljaju acil lipide grožđa (Slika 8) (Baumes, 2009). Ova jedinjenja su locirana u čvrstim delovima bobice, opadaju sa zrelošću i slabo zavise od sorte grožđa. C₆ aldehidi i alkoholi su jedna od važnih aromatičnih grupa jedinjenja u grožđu, nastaju iz nezasićenih masnih kiselina u prefermentativnoj fazi kao što su berba, transport, muljanje, maceracija i presovanje, pod uticajem različitih enzima grožđa.

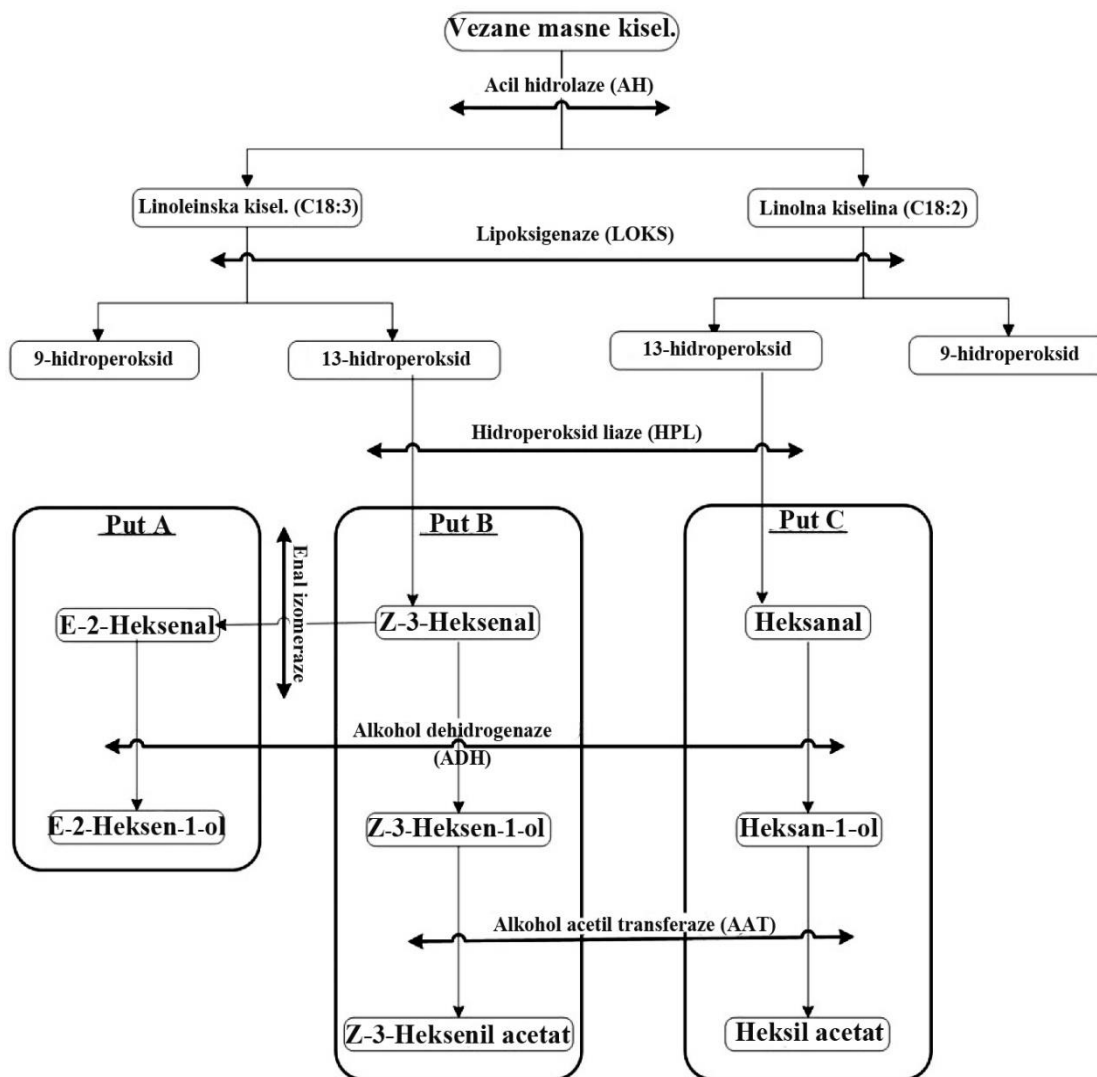


Slika 8. Glavni nezasićeni acil lipidi grožđa, prekursori C₆ jedinjenja (Baumes, 2009)

Delovanjem enzima lipoksigenaza (LOKS), hidroperoksid liaza (HPL), alkohol dehidrogenaza (ADH), i (3Z) - (2E) enalne izomeraze, formiraju se C₆ jedinjenja, usled aktiviranja navedenih enzima sa muljanjem grožđa (Schwab et al., 2008). Četiri enzimski aktivnosti su uzastopno uključene. Prvo acil hidrolaza oslobađa linolnu i linoleinsku kiselinu iz membranskih lipida, zatim lipoksigenaza katalizuje fiksaciju kiseonika na ove C₁₈ nezasićene kiseline i formiraju se odgovarajući 13-hidroperoksidi. Dobijeni peroksidi se zatim cepaju do C₆ aldehida pod dejstvom hidroperoksid liaza (Ribéreau-Gayon et al., 2006a).

Formiraju se heksanali iz hidroperoksida linolne kiseline, i Z-3-heksenal i E-2-heksenal iz hidroperoksida linoleinske kiseline. Izomeraza može međusobno da konvertuje dva heksanala, dok alkohol dehidrogenaza redukuje aldehide u odgovarajuće alkohole, E-2-heksen-1-ol, Z-3-heksen-1-ol i heksan-1-ol (Slika 9). Na kraju pod dejstvom alkohol acetil transferaze (AAT) nastaju Z-3-heksenil acetat i heksil acetat (Kalua i Boss, 2010).

C₆ aldehidi i alkoholi su karakteristični za nemuskatne sorte grožđa (Gomez et al., 1995). Odgovorni su za „zelenu“ aromu šire grožđa, dok imaju manji uticaj na aromu vina (Kotseridis i Baumes, 2000).

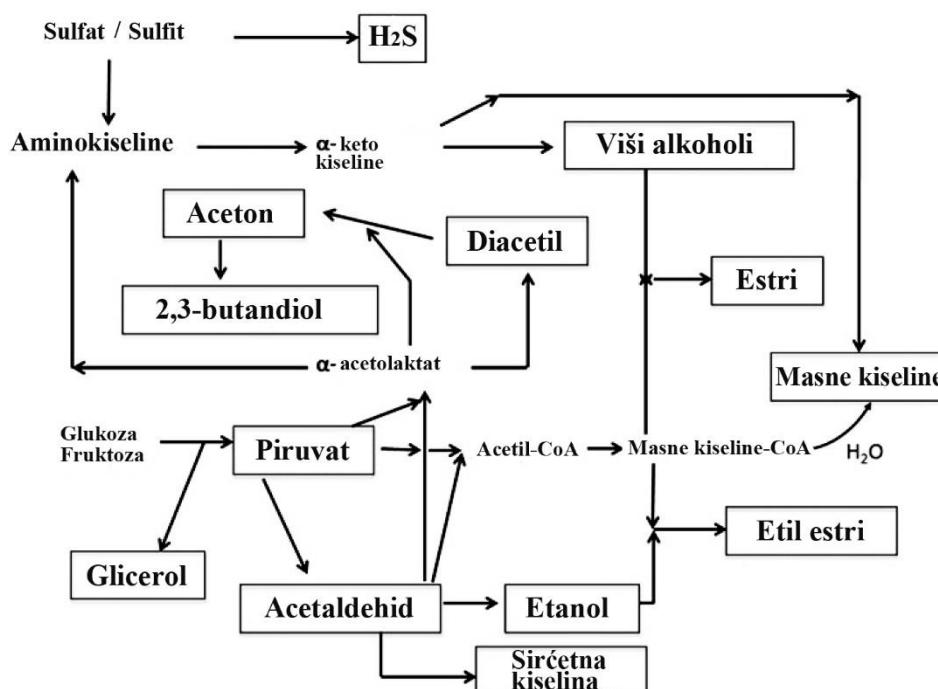


Slika 9. Put lipoksigenaze za grožđe *Vitis vinifera* na osnovu isparljivih jedinjenja sa C₆ delom (Kalua i Boss, 2010)

2.2.3. Tercijarne aromatične materije

Tercijarna ili fermentaciona aroma nastaje pod uticajem kvasaca tokom alkoholne fermentacije. Formiranje estara, masnih kiselina, estara masnih kiselina i viših alkohola vezan je za metabolizam ćelija kvasaca. Metabolizam kvasaca podrazumeva biohemijsku asimilaciju i disimilaciju hranljivih materija u ćelijama kvasaca (Walker, 1998).

Neka od navedenih isparljivih jedinjenja imaju specifičnu funkciju u kvascima, dok funkcija drugih nije utvrđena (Mendes-Ferreira et al., 2011). Sinteza aromatičnih jedinjenja je varijabilna i zavisi od soja kvasca koji učestvuje u alkoholnoj fermentaciji. Takođe, temperatura alkoholne fermentacije igra važnu ulogu u formiranju fermentacione arome i senzornih karakteristika (Robinson et al., 2014). Najvažnija aromatična jedinjenja koja se formiraju tokom alkoholne fermentacije su prikazana na slici 10.



Slika 10. Glavna jedinjenja fermentacione arome (Styger et al., 2011)

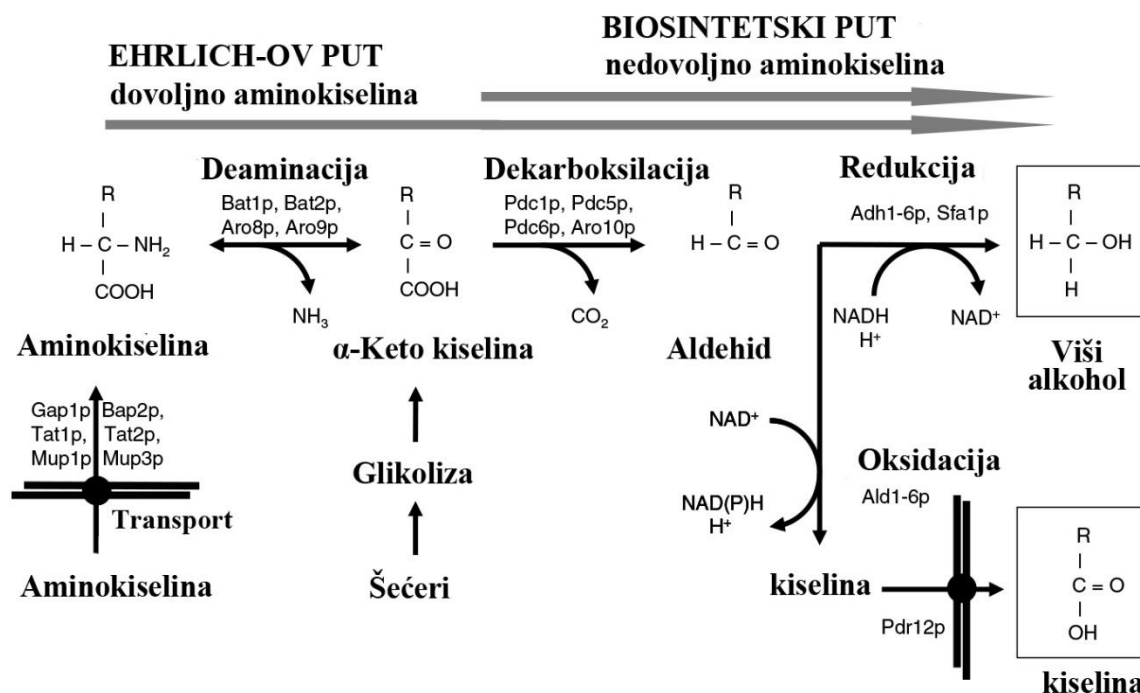
2.2.3.1. Viši alkoholi

Viši alkoholi (fuzelni alkoholi) su jedinjenja koja poseduju više od dva atoma ugljenika, veću molekulsku masu i tačku ključanja od etanola (Lambrechts i Pretorius, 2000; Mendes-Ferreira et al., 2011). Kvantitativno su najzastupljenija jedinjenja u belim vinima i drugim alkoholnim pićima i predstavljaju sekundarne proizvode alkoholne fermentacije. U zavisnosti od koncentracija u vinu, mogu pozitivno ili negativno uticati na aromu. U koncentracijama iznad 400 mg/l pokazuju oštru, neprijatnu aromu, dok u koncentracijama ispod 300 mg/l doprinose poželjnoj složenosti arome (Rapp i Versini, 1995; Lambrechts i Pretorius, 2000). Kada se uporede sa crvenim vinima, bela vina imaju niže koncentracije viših alkohola (Lambrechts i Pretorius, 2000).

Viši alkoholi se sastoje od alifatičnih i aromatičnih alkohola. U alifatične alkohole spadaju aktivni amil alkohol i izoamilalkohol, propanol i izobutil alkohol, dok je najvažniji aromatični alkohol 2-feniletil alkohol (Lambrechts i Pretorius, 2000). Izoamil alkohol je najzastupljeniji fuzelni alkohol kojeg sintetizuje kvasac tokom alkoholne fermentacije (Lambrechts i Pretorius, 2000). Biomasa

kvasaca, visoka temperatura, prisustvo kiseonika i materije u suspenziji povećavaju sintezu viših alkohola (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

Kvasac sintetishe izobutil alkohol, izoamil alkohol i aktivni amil alkohol iz aminokiselina razgranatog lanca, valina, leucina i izoleucina, respektivno (Mendes-Ferreira et al., 2011). Proizvodnja viših alkohola je rezultat dekarboksilacije i redukcije odgovarajućih α -keto kiselina (Slika 11), koje se sintetisu ili transaminacijom aminokiselina Ehrlich-ovim mehanizmom (katabolitički put) ili degradacijom ugljenih hidrata (anabolitički put) (Rapp i Versini, 1995).



Slika 11. Formiranje viših alkohola iz šećera i aminokiselina Ehrlich-ovim putem (Ugliano i Henschke, 2009)

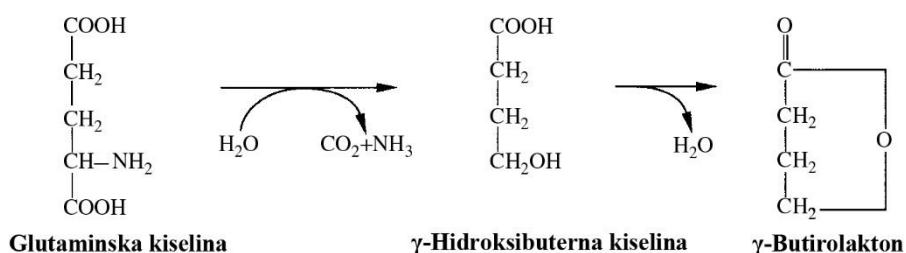
2.2.3.2. Estri

Estri predstavljaju jednu od najvažnijih grupa jedinjenja vina, koja daju voćne arome i uglavnom prijatne mirise (Lambrechts i Pretorius, 2000; Styger et al., 2011). Sekundarni su proizvodi alkoholne fermentacije i važni su za senzorne karakteristike mladih belih i crvenih vina (Ugliano i Henschke, 2009). Najvažniji estri su etil estri masnih kiselina linearnog lanca kao što su etil butanoat, etil heksanoat, etil oktanoat, etil dekanat, etil dodekanoat, i acetatni estri viših alkohola (izoamil acetat, izobutil acetat, feniletil acetat) (Lambrechts i Pretorius, 2000). Izoamil acetat i 2-feniletil acetat su prisutni u vinima u umerenim koncentracijama, imaju neobične mirise (banane, jabuke) i veći sadržaj ovih jedinjenja se formira kada je fermentacija usporena usled odsustva kiseonika i niskih temperatura (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Etil estri organskih kiselina, etil laktat i etil hidrogen sukcinat značajno učestvuju u aromi nekih vina (Sonni et al., 2015).

Koncentracija etil estara i acetata je uglavnom slična ili viša u belim vinima kada se uporede sa crvenim vinima (Robinson et al., 2014). Acetatni estri nastaju reakcijom acil-CoA sa alkoholima, koji se formiraju razgradnjom ugljenih hidrata i aminokiselina, dok etil estri nastaju etanolizom acil-CoA koji je srednji metabolit metabolizma masnih kiselina (Styger et al., 2011).

2.2.3.3. Laktoni

Laktoni su posebna podgrupa estara koja se formiraju unutrašnjom esterifikacijom između kiselinskog i alkoholnog dela u istom molekulu (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Rezultat ove reakcije je formiranje cikličnog estera koji je u ravnoteži sa hidroksi kiselinama (Jackson, 2008). Najzastupljeniji lakton u vinu je γ -butirolakton. Način proizvodnje γ -butirolaktona je sličan višim alkoholima i izokiselinama (Carrau et al., 2008). γ -butirolakton je rezultat laktonizacije γ -hidroksibuterne kiseline, koja je sintetizovana prema Ehrlich-ovoj reakciji, dezaminacijom i dekarboksilacijom glutaminske kiseline (Slika 12).



Slika 12. Sinteza γ -butirolaktona (Ribéreau-Gayon et al., 2006b)

Laktoni mogu da potiču iz grožđa, da se sintetišu tokom fermentacije i ekstrahuju iz hrasta tokom sazrevanja vina u buradima (Jackson, 2008). Obično laktoni iz grožđa ne doprinose aromi, izuzetak je 2-vinil-2-metiltetrahidrofuran-5-on koji se nalazi u sorti grožđa Rizling (Jackson, 2008). Sotolon (3-hidroksi-4,5-dimetilfuranon) je jedinjenje koje je karakteristično za šeri vina (Martin et al., 1992) i vina dobijena od grožđa sa plemenitom plesni (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Ovaj lakton daje tipičnu aromu „oraha“ i ima nizak prag percepcije (Peinado i Mauricio, 2009).

U vinima koja sazrevaju u buradima, oslobađaju se laktoni iz hrasta. Najznačajniji su *cis*- i *trans*- izomeri 3-metil- γ -oktalaktona, poznati kao „hrastovi laktoni“ i „laktoni viskija“ koji imaju karakterističan miris kokosa (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

2.2.3.4. Isparljive masne kiseline

Najvažnije masne kiseline koje doprinose aromi vina su masne kiseline srednjeg lanca, heksanska (C6), oktanska (C8), dekanska (C10) kiselina (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Formiraju se pod uticajem kvasaca i predstavljaju međuproizvode u biosinezi dugolančanih masnih kiselina (Ugliano i Henschke, 2009; Mendes-Ferreira et al., 2011). Proizvodnja masnih kiselina sa kvascima je povezana sa metabolizmom ugljenih hidrata, preko glukoze koji je glavni prekursor acetyl-CoA. Za sintezu masnih kiselina pored soja kvasaca, bitan je visok sadržaj azotnih materija u širi, temperatura fermentacije i prisustvo kiseonika (Mendes-Ferreira et al., 2011).

Više koncentracije masnih kiselina su toksične za kvasce, i to utiče na usporavanje fermentacije. Ova pojava je posebno prisutna kod proizvodnje belih vina zbog odvijanja alkoholne fermentacija na niskim temperaturama i bez aeracije (Mendes-Ferreira et al., 2011).

2.2.4. Arome nastale odležavanjem vina

2.2.4.1. Arome nastale odležavanjem vina u inertnom sudu

Starenje je proces u proizvodnji vina koji utiče na promenu hemijskog sastava, arome i senzornih karakteristika. Smatra se, da starenje vina ima dve faze: „sazrevanje“ (maturacija), kada starenje utiče na poboljšavanje senzornih karakteristika i kvaliteta vina (obično traje 6 do 24 meseca), i druga faza je reduktivno starenje uz odsustvo kiseonika (Jackson, 2008). Često se termin „starenje“ primenjuje kada je starenje vina povezano sa negativnim senzornim karakteristikama i kvalitetom

(Linsenmeier et al., 2010). Starenje izaziva degradaciju jedinjenja koja daju cvetne i voćne arome vina, a dolazi i do formiranja novih jedinjenja koja su karakteristična za „odležala“ vina. U davna vremena (Rimsko doba) su se cenila stara vina, dok se u poslednje vreme preferiraju mlada vina (Linsenmeier et al., 2010).

Tokom starenja, boja belog vina postaje intenzivnija, tamnije, zlatno žute i na kraju smeđe boje, dok se intenzitet boje crvenih vina smanjuje. Pojedine sorte imaju veliki potencijal za starenje vina kao što su Rizling, Šardone, Sovinjon blan za bela vina, i Kaberne sovinjon, Širaz, Pino noar za crvena vina (Jackson, 2008).

Tokom starenja vina, sadržaj estara se može povećati ili smanjiti usled reakcija hidrolize i hemijske esterifikacije. Prvo dolazi do smanjenja sadržaja jedinjenja koja su karakteristična za mlada vina sa voćnom i cvetnom aromom. To su u prvom redu acetati (izoamil acetat, 2-feniletil acetat, heksil acetat) i etil estri (etil butirat, etil heksanoat, etil oktanoat i etil dekanat) (Linsenmeier et al., 2010). Potrebno je istaći da se acetati brže hidrolizuju u poređenju sa etil estrima. Takođe, niže temperature skladištenja vina (ispod 10°C) rezultiraju manjim odvijanjem hidrolitičkih procesa, i boljem zadržavanju voćnih aroma mladih vina (Robinson et al., 2014). Sa druge strane, tokom odležavanja vina, dolazi do generisanja estara organskih kiselina, dietil sukcinata, etil laktata, dietil malata i etil acetata (Linsenmeier et al., 2010).

2.2.5. Razvoj arome grožđa tokom sazrevanja i uticaj vinogradarskih činilaca

Sastav grožđa, koji će odrediti senzorni kvalitet vina, zavisi od svojstvenih faktora grožđa (sorte), kao i spoljašnjih faktora (zemljište, klimatski uslovi, tehnika gajenja) (Gómez-Miguéz et al., 2007). Neka istraživanja su pokušala da uspostave vezu između ovih vinogradarskih parametara i sastava vina (Gómez-Miguéz et al., 2007). Robinson et al. (2014) navode da razne studije ukazuju na složenosti koje su uključene u razumevanje odnosa između vinogradarske prakse, sastava i kvaliteta grožđa i vina. Pošto je više jedinjenja uključeno u aromu, postupci koji unapred regulišu odabrane metaboličke puteve, takođe mogu izmeniti druge puteve i proizvode metabolizma, što otežava krajnji ishod s obzirom na sastav voća (Robinson et al., 2014). Aroma vina zavisi od interakcija više jedinjenja, koje sadrže aktivni miris (Robinson et al., 2014). Takođe, intenzitet arome zavisi od oslobađanja aromatičnih jedinjenja iz bezmirisnih prekursora tokom sazrevanja vina, i modifikacije isparljivih sastojaka usled hemijskih promena (Robinson et al., 2014).

Tokom sazrevanja grožđa se nakupljaju slobodni i vezani oblici terpenskih jedinjenja, od promene boje pa nadalje. Mnoga istraživanja pokazuju da terpenska jedinjenja se mogu koristiti za razlikovanje sorti grožđa, i predstavljaju osnovu senzorne ekspresije bukea vina (Oliviera et al., 2004; Conde et al., 2007). Rasprostranjenije mišljenje autora je da slobodni monoterpeni počinju da se smanjuju pre nego se dostigne maksimalni nivo šećera, dok drugi autori govore o kontinuiranoj akumulaciji monoterpena, čak i u prezrelom grožđu (Ribéreau-Gayon et al., 2006b; Conde et al., 2007).

Terpenski heterozidi počinju da se formiraju u fazi porasta bobice grožđa, kada je bobica i dalje zelena (250 µg/kg), dok slobodni terpenoli postoje samo u malim količinama (30-90 µg/kg) (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Neki nisu prisutni u ovoj fazi (α -terpineol i citronelol), ali počinju da se pojavljuju od šarka (véraison, fra.) pa nadalje (npr. linalol). Sadržaj vezanih frakcija je veći u odnosu na slobodne frakcije tokom cele faze sazrevanja, čak se povećavaju i nakon zrelosti. Povećanje slobodnih frakcija se usporava i njena koncentracija može da se i smanji (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Povećano nagomilavanje glikozida u grožđu može biti faktor temperature, kao i izloženost svetlosti i enzimaska aktivnost (Robinson et al., 2014). Garcia et al. (2003) navodi da su terpeni prisutni u zelenim plodovima samo u malim količinama, ali njihove koncentracije postepeno rastu tokom sazrevanja, posle kojeg opadaju. Terpeni su izvor karakterističnih cvetnih i voćnih aroma

vina proizvedenih od sorti grožđa kao što su Muskat, i u manjoj meri vina proizvedenih od sorti Rizling i Albarino (Garcia et al., 2003).

Garcia et al. (2003) navode da je pokožica sorti Airen, Makabeo i Šardone kvalitativno i kvantitativno bogatija u isparljivim jedinjenjima, nego šira. Teško je odrediti optimalan nivo sazrevanja grožđa za svaku sortu na osnovu sadržaja isparljivih jedinjenja, jer promene u koncentraciji isparljivih jedinjenja tokom sazrevanja nisu ujednačene (Garcia et al., 2003). Skoro sva aromatična jedinjenja koja su trenutno identifikovana, nalaze se u brojnim sortama, koje ne poseduju posebno specifičnu sortnu aromu (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Za neke sorte, međutim, karakteristika arome je rezultat ograničenog broja specifičnih jedinjenja sa niskim koncentracijama (od nanograma do mikrograma). Tako karakteristična sortna jedinjenja su: 2-metoksi-3-izobutil pirazin u Kaberne sovinjonu i 4-merkaptio-4-metil pentan-2-on prisutan u sorti Šenin i Sovinjon blanu (Ribéreau-Gayon et al., 2006a).

C₆ aldehidi i alkoholi su prisutni u grožđu i dostižu najviše koncentracije u toku sazrevanja (Garcia et al., 2003). Tokom sazrevanja grožđa se smanjuje sadržaj polinezasićenih masnih kiselina (Garcia et al., 2003). Garcia et al. (2003) ističu da je to razlog zbog kojeg su istraživači primetili veće koncentracije C₆ aldehida i alkohola, pre nego grožđe dostigne zrelost (Garcia et al., 2003). C₆ aldehidi su delimično odgovorni za manje prijatnu aromu vina (zelenu, zeljastu i gorku aromu), ali na svu sreću, skoro celokupna koncentracija ovih aldehida se pretvara u alkohole na početku fermentacije (Garcia et al., 2003).

Razvoj aromatičnog potencijala odgovornog za oslobađanje sortnih tiola su pažljivo proučavani kako bi se bolje razumela biogeneza takvih molekula tokom zrenja (Ronald et al., 2011). Istraživanja Peyrot des Gachons et al. (2002), koje je naveo Ronald et al. (2011), pokazuju da sazrevanje direktno utiče na koncentraciju cisteiniliranih prekursora tiola (Cis3MH, Cis4MMP i Cis4MMPOH), povećavajući njihovu početnu količinu u bobicama. Za grožđe Sovinjon blana, koji je gajen u dva Francuska vinograda, koncentracije Cis3MH, G3MH, G4MMP su se znatno povećale tokom sazrevanja (Roland et al., 2011).

Opšte je poznato da je moment berbe veoma važan faktor za dobijanje kvalitetnih vina. Uslovi klime variraju od godine do godine, i berba ima veliki uticaj na sastav grožđa. Studije aromatičnog sastava Šardonea, Sovinjon blana, Semijona, Merlo noara su potvrdile ovo zapažanje na analitičkom nivou (Robinson et al., 2014). Na osnovu karakteristika vinograda, nekoliko istraživača su pronašli uticaj zemljišta na celokupni kvalitet grožđa, koji utiče na senzorni kvalitet gotovog vina (Gómez-Miguéz et al., 2007). Nivoi brojnih jedinjenja grožđa su pod uticajem izlaganja svetlosti (Robinson et al., 2014). Izlaganje grožđa sunčevoj svetlosti pogoduje nakupljanju monoterpena i drugih neterpenskih aglikona, slobodnih norizoprenoida kao i glikoziliranih norizoprenoida (Robinson et al., 2014). Kvalitet, a ne intenzitet svetlosti, reguliše nagomilavanje norizoprenoidnih jedinjenja (Robinson et al., 2014). Izlaganje grožđa sunčevoj svetlosti tokom sazrevanja ubrzava razgradnju karotenoida. Prekomerni ugljovodonični mirisi, koji se ponekad razvijaju u Rizling vinima, odnose se na izuzetno visoke temperature, posebno tokom sazrevanja (Conde et al., 2007). Stoga, iako topla klima je, povoljna za akumulaciju šećera, nije nužno najbolja za kvalitet vina (Ribéreau-Gayon et al., 2006b; Conde et al., 2007).

Koncentracija metoksipirazina je najviša u nezrelom grožđu i postepeno opada tokom sazrevanja. Grožđe koje je gajeno na dobro isušenom šljunkovitom zemljištu, ima manju koncentraciju metoksipirazina (Ribéreau-Gayon et al., 2006b; Conde et al., 2007). Na krečnjaku ili zemlji od gline i mulja, Kaberne sovinjon ima viši sadržaj metoksipirazina, često izražen sa biljnim karakterom (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). U određenim regionima za proizvodnju vina, znak „zelene paprike“, povezan je sa prisustvom pirazina i smatra se tipičnim za Kaberne sovinjon u Bordou, dok jak miris zelene paprike ukazuje na nedostatak zrelosti u grožđu i definitivno se smatra nedostatkom (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Kada je povećana izloženost grožđa suncu tokom

zrenja, smanjuje se sadržaj metoksipirazina, verovatno zbog osetljivosti ovih jedinjenja na svetlost (Ribéreau-Gayon et al., 2006b; Conde et al., 2007; Robinson et al., 2014).

Koncentracija cisteiniliranih prekursora u grožđu Sovinjon blana je povezana sa deficitom vode (Roland et al., 2011). Količina Cis3MH je direktno proporcionalna deficitu vode, dok je količina Cis4MMP obrnuto proporcionalna njemu. Umereni deficit vode rezultira višom koncentracijom Cis3MH u grožđu Sovinjon blana (Roland et al., 2011). Za cisteinilirane i glutatilonilirane prekursore 3MH, objavljeno je da nadmorska visina i sastav tla mogu uticati na količinu tih molekula u grožđu sorte Košu (Koshu) (Roland et al., 2011).

Istraživanja su pokazala da na oko 18 % gena mogu da utiču uslovi životne sredine, i to klima ima najveći uticaj na ekspresiju gena kod šarka (Robinson et al., 2014). Konkretno, geni vezani za fenilpropanoide, koji su bili uključeni u formiranje aromatičnih jedinjenja i polifenola, su bili pod jakim uticajem specifičnih sezonskih klimatskih uslova (Robinson et al., 2014). U poslednje vreme dosta istraživanja se bave ispitivanjem uticaja klime na sastav grožđa i kvalitet vina. Studije o uticaju klime na sastav grožđa je teško interpretirati, jer klima obuhvata sve uticaje spoljne sredine, temperature, sunčeve svetlosti, vlažnosti i padavine u regionu, a sve igraju važnu ulogu u rastu i razvoju vinove loze i bobica (Robinson et al., 2014).

Nivoi prekursora aromatičnih jedinjenja i aroma variraju unutar i između klime (Robinson et al., 2014). Nivoi luteina i β -karotena, pronađeni su u većim koncentracijama u vinima toplijeg podneblja (južna Afrika) u poređenju sa hladnijom klimom (Nemačka). Sa druge strane, obrnut odnos je pomećen u Sovinjon blanu iz hladne klime (Novi Zeland), u poređenju sa toplom klimom (Australija) (Robinson et al., 2014). Da li su ovi efekti posledica izlaganja suncu, temperaturi, ili drugim promenljivim koje su povezane sa različitim klimatskim karakteristikama je nejasno, i ove nedoumice dovode do poteškoća u razlikovanju ovih uticaja (Robinson et al., 2014).

U vinarijama je teško proizvesti aromatični Sovinjon blan, ili uopšte bela vina, u prekomerno vrućoj i suvoj klimi, i zemlji sa malim rezervama vode, osim ako je vinova loza navodnjavana (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Grožđe vinove loze Sovinjon blan koje je podvrgnuto umerenom vodenom stresu, imalo je više koncentracije cisteiniliranih prekursora, od onog sa neograničenim snadbevanjem vodom (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Umereni deficit vode, pre promene količine antocijana, dovodi do značajnog povećanja ukupnog sadržaja fenola, koji ima negativan uticaj na aromatičnu stabilnost vina (Ribéreau-Gayon et al., 2006b). Međutim, umereni deficit vode posle promene boje, dovodi do povećanja cisteiniliranih prekursora, bez ikakvih značajnih varijacija ukupnog fenolnog sadržaja (Ribéreau-Gayon et al., 2006b).

2.3. Uticaj načina primarne prerade grožđa na aromatski profil vina

2.3.1. Uticaj prefermentativne maceracije kljuka i primene enzimskih preparata

Maceracija je proces koji se uglavnom primenjuje u proizvodnji crvenog vina i utiče na njegove specifične karakteristike kao što su boja, miris i ukus. Tokom maceracije se u vino oslobađaju polifenoli, aromatična jedinjenja i prekursori arome, jedinjenja azota, polisaharidi itd. (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Uglavnom se u našim vinarijama ne primenjuje prefermentativna maceracija u proizvodnji belih vina. U zavisnosti od uslova maceracije, sazrevanja i zdravstvenog stanja grožđa može doći do povećanja oporosti, posmeđivanja i zeljastog karaktera vina (Selli et al., 2006a).

U literaturi se ističe da temperatura i trajanje maceracije moraju biti pažljivo odabrani, da ne bi došlo do preteranog prelaska polifenola u širu, koji mogu prouzrokovati enzimsko oksidativno posmeđivanje vina (Cabaroğlu et al., 1997; Selli et al., 2006). U proizvodnji belog vina maceracija se primenjuje nakon muljanja a pre ceđenja kljuka (Selli et al., 2006a). Maceracija smanjuje kiselost šire, a povećava koncentraciju aminokiselina, polisaharida i proteina, zbog čega vina zahtevaju višu

koncentraciju bentonita da bi se stabilizovala (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Kontakt groždanog soka sa pokožicom dovodi do povećanja količine aromatičnih jedinjenja u vinu (Cabaroglu et al., 1997; Cabaroglu i Canbas, 2002; Selli et al., 2006a, Selli et al., 2006b; Sánchez-Palomo et al., 2007; Maggu et al., 2007).

Ispitivan je uticaj maceracije na sadržaj aromatičnih jedinjenja autohtonih sorti grožđa kao što su Albiljo (Albillo) (Španija), Muskat Bornova, Emir i Narince (Turska) i Asirtiko (Grčka). U Muskat Bornova vinima ispitivan je uticaj maceracije u trajanju 6 i 12 sati, pri temperaturi 15°C, na sadržaj aromatičnih jedinjenja u vinu (Selli et al., 2006a). U navedenim istraživanjima, došli su do zaključaka da maceracija nije uticala na sadržaj viših alkohola (Selli et al., 2006a). Kontakt groždanog soka sa pokožicom nije statistički značajno uticao na sadržaj C₆ jedinjenja, dok su najviše koncentracije zabeležene u vinu gde je primenjeno duže trajanje maceracije (Selli et al., 2006a). Pored toga, maceracija je značajno uticala na porast sadržaja estara i masnih kiselina. U istraživanjima Selli et al. (2006a) vino koje je dobijeno maceracijom u trajanju 6 sati bilo je boljih senzornih karakteristika.

Sánchez-Palomo et al. (2007) su ispitivali uticaj maceracije u trajanju 15 i 23 sata (15°C) na sadržaj slobodnih i glikozidno vezanih jedinjenja u Albiljo širi i vinu. Utvrdili su da je maceracija značajno uticala na porast sadržaja slobodnih i vezanih aromatičnih jedinjenja. Zaključili su u svom radu da maceracija zajedno sa primenom enzima može poboljšati sortni karakter Albiljo vina (Sánchez-Palomo et al., 2007). Na osnovu istraživanja Cabaroglu et al. (1997), kontakt groždanog soka sa pokožicom dovodi do više koncentracije slobodnih i glikozidno vezanih jedinjenja. Cabaroglu et al. (1997) ističu da maceraciju treba primenjivati u proizvodnji vina, ali uz kontrolu i izbegavanje preteranog prelaženja polifenolnih jedinjenja u vino.

Maceracija u trajanju 7 sati na 15°C je poboljšala intenzitet, koncentraciju i kvalitet arome u Muskat Aleksandria vinima (Cabaroglu i Canbas, 2002). Sa primenom maceracije bio je viši sadržaj ukupnih slobodnih i glikozidno vezanih jedinjenja, posebno se poboljšao intenzitet terpenke arome i kvaliteta vina (Cabaroglu i Canbas, 2002). U ovom istraživanju sa maceracijom je bio viši sadržaj C₆ jedinjenja, ali porast koncentracija nije bio značajan. Maceracija je značajno uticala na sadržaj ukupnih alkohola, ukupnih estara, ali nije značajno uticala na sadržaj masnih kiselina (Cabaroglu i Canbas, 2002).

Selli et al. (2006b) u svojim istraživanjima su pronašli da je maceracija u trajanju 12 sati na 15°C uticala na sadržaj slobodnih i glikozidno vezanih aromatičnih jedinjenja. Vina koja su dobijena primenom maceracije imala su znatno viši sadržaj isparljivih jedinjenja u odnosu na kontrolu (Selli et al., 2006b). Studije su pokazale da maceracija nije značajno uticala na sadržaj heksanola. Takođe, vina dobijena maceracijom imala su višu koncentraciju estara, dok se sadržaj γ -butirolaktona značajno snizio (Selli et al., 2006b).

U vinima koja su dobijena od Asirtiko grožđa, Kechagia et al. (2008) su identifikovali dvadeset sedam isparljivih jedinjenja. U svojim istraživanjima nisu pronašli statističku značajnu razliku kada se porede vina dobijena direktnim presovanjem i sa maceracijom, kao i između vina dobijenih maceracijom i sa primenom taloženja.

Aromatična jedinjenja u grožđu mogu biti prisutna u slobodnom isparljivom i vezanom neisparljivom obliku. Slobodni oblici direktno doprinose aromi dok su vezani glikozidni oblici bez mirisa (Sánchez-Palomo et al., 2015). Primenom komercijalnih enzimskih preparata koji ispoljavaju aktivnost β glikozidaza, moguće je oslobađanje aglikona iz heterozida cepanjem glikozidnih veza, i na taj način formiranje isparljivih mirisnih jedinjenja. Ovo može uticati na aromatični profil vina (Diéguez et al., 2003; Sánchez-Palomo et al., 2015).

Sánchez-Palomo et al. (2015) su ispitivali koncentraciju slobodnih i glikozidno vezanih jedinjenja u belim Verdejo vinima. Aroma belih vina je veoma važna i među njima i jedinjenja koja

potiču iz grožđa (Sánchez-Palomo et al., 2015). Biosintezu C₆ jedinjenja katalizuju četiri enzima od kojih su najvažniji lipoksigenaza i hidroperoksid liaza (Sánchez-Palomo et al., 2015). Armada et al. (2010) su ispitivali uticaj enzimskih preparata na aromatski profil vina. Utvrdili su da primenom enzima, dobijena vina imaju drugačije aromatske karakteristike kada se uporede sa kontrolnim vinima. Kada se enzimski preparati dodaju tokom maceracije, ustanovili su da se povećavao sadržaj sortnih i poželjnih aromatičnih jedinjenja. Upotreba enzimskih preparata posebno dovodi do višeg sadržaja terpena i norizoprenoida (Armada et al., 2010). Upotreba enzimskih preparata tokom maceracije utiče na porast sadržaja C₆ alkohola, dok ne utiču na sadržaj fermentacionih aroma (Armada et al., 2010). U studiji Armada et al. (2010) su došli do zaključaka da kada se dodaju enzimi za maceraciju i bistrenje zajedno, nisu utvrđene neke prednosti što se tiče aromatskog sastava. Senzorna ocena je pokazala da enzimski preparati utiču na poboljšanje arome vina.

Rocha et al. (2005) su proučavali promene aromatičnog sadržaja belih vina pod uticajem enzimskih preparata. Utvrđeno je da dodavanjem enzimskih preparata dolazi do višeg sadržaja monoterpenola i aromatičnih alkohola u Maria Gomez vinima, dok u Bikal vinima nije utvrđena statistički značajna razlika, niti poboljšanje kvaliteta ovog vina (Rocha et al., 2005). Sama efikasnost enzimskih preparata zavisi od sortnog aromatskog kapaciteta i Rocha et al. (2005) preporučuju upotrebu enzimskih preparata u proizvodnji belih vina.

2.3.2. Uticaj pritiska ceđenja kljuka

Nema istraživanja o uticaju pritiska ceđenja kljuka na sadržaj aromatičnih jedinjenja u belim vinima. Uglavnom su istraživanja bila usmerena na sadržaj isparljivih jedinjenja u groždanom soku od kojeg se alkoholnom fermentacijom dobija belo vino. Autori ističu u svojim studijama da su operacije pre otpočinjanja alkoholne fermentacije važne, jer utiču na ekstrakcije jedinjenja iz pokožice u širu tj. groždani sok (Maggu et al., 2007). U prefermentativne procese spadaju maceracija, primena pritiska tokom ceđenja kljuka i taloženje šire. Pored maceracije, jačina pritiska koja se primenjuje tokom ceđenja kljuka utiče na ekstrakciju sortnih isparljivih jedinjenja.

U studiji Maggu et al. (2007) koji su proučavali kako kontakt pokožice (0, 4, 16, 32 h) i jačina pritiska tokom ceđenja (0, 0,4, 2 atm) utiču na sadržaj S-(3-heksan-1-ol) cisteina, 2-metoksi-3-izobutirpirazina, fenolnih jedinjenja i glutationa u Sovinjon blan širi. Sa višim pritiskom tokom presovanja u širi Sovinjon blana ekstrahovao se viši sadržaj 3MH-S-cisteina i polifenola, dok je koncentracija zaštitnog glutationa bila niža (Maggu et al., 2007). Takve šire su podložnije oksidativnom potamnjivanju pa vinari uglavnom za proizvodnju premium vina biraju samotok i lagano ceđene šire (Maggu et al., 2007).

Selli et al. (2011) su istraživali razlike u sadržaju aromatičnih jedinjenja između Emir šira koja su dobijena sa i bez presovanja kljuka. Primenom pritiska od 1,8 atm se povećao sadržaj aromatičnih jedinjenja ali se takođe povećao sadržaj polifenolnih jedinjenja, indeks posmeđivanja i C₆ jedinjenja, i time se smanjio kvalitet šire u odnosu na samotok (Selli et al., 2011). Presovanje kljuka je dovelo do višeg sadržaja skoro svih alkohola, ukupnih estara i kiselina, kao i γ -butirolaktona u širi sorte Emir (Selli et al., 2011).

2.3.3. Uticaj načina prečišćavanja šire

U proizvodnji belih vina, potrebno je prečišćavanjem ukloniti supstance iz šire koje daju nepoželjne karakteristike vina (Ferrando et al., 1998). Ferrando et al. (1998) su ispitivali uticaj tri tehnike za prečišćavanje šire belih sorti grožđa: vakuum filtracija, centrifugiranje i statičko taloženje šire. Tokom alkoholne fermentacije istraživali su sadržaj izoamil alkohola i etil acetata da bi utvrdili kako različite tehnike prečišćavanja utiču na proizvodnju izoamil alkohola i brzinu fermentacije. Ferrando et al. (1998) su utvrdili da vina koja su dobijena od šira sa više čvrstih materija i koje su

bile prečišćavane statičkim taloženjem i centrifugiranjem, imala su više koncentracije izoamil alkohola i niže koncentracije etil acetata.

Razni autori su ispitivali uticaj različitog vremena taloženja na aromatski sastav vina. Losada et al. (2011) su proučavali uticaj statičkog taloženja u trajanju 24 i 36 sati na aromatski profil vina. U vinu dobijenom od šire koje je bilo prozirnije tj. gde je primenjeno duže vreme taloženja, detektovan je viši sadržaj estara, terpenola i masnih kiselina (Losada et al., 2011). Vino koje je dobijeno od šire koje je taloženo duži vremenski period (36 sati), imalo je viši sadržaj estara, jer prečišćavanje stimuliše formiranje masnih kiselina srednjeg lanca pomoću kvasaca, a samim tim dolazi do sinteze etil estara masnih kiselina (Losada et al., 2011). Bolje su bila ocenjena vina sa dužim vremenom taloženja šire (Losada et al., 2011).

Ayesteran et al. (1995) su ispitivali uticaj statičkog taloženja i vakuum filtracije na sadržaj azotnih jedinjenja u širi, fermentacionu kinetiku i sastav vina. Važno je da prečišćavanje bude u dovoljnoj meri sprovedeno, jer ako je ono preterano dobija se vino lošeg kvaliteta i fermentacija se odvija sporije. Ayesteran et al. (1995) su utvrdili da je vrednost ukupnog azota bila viša u vinima gde nije primenjeno statičko taloženje i vakuum filtracija šire.

Ancín et al. (1996) su pratili uticaj statičkog taloženja i vakuum filtracije na sadržaj azotnih jedinjenja. Rezultati su pokazali da je sa većim stepenom prečišćavanja i smanjenjem zamućenosti šire, ukupna koncentracija viših alkohola bila niža (Ancín et al., 1996). Takođe, navedeni autori su utvrdili da postoji veza između stepena prečišćavanja šire i sadržaja izoamil i izobutil alkohola, i da je više prečišćena šira imala nižu koncentraciju izobutil alkohola.

Spontano gravitaciono taloženje na niskoj temperaturi se često primenjuje u praksi za uklanjanje čvrstih materija iz šire i poboljšanje kvaliteta gotovih vina. Burin et al. (2015) su proučavali uticaj sadržaja azotnih jedinjenja i statičkog taloženja šire u trajanju od 12 i 30 sati na aromatski profil vina. Na osnovu upravljanja sadržajem azotnih jedinjenja u širi, može se uticati na formiranje različitih aroma u vinu (Burin et al., 2015). Burin et al. (2015) su utvrdili da je sadržaj aminokiselina bio viši u širi koja se taložila kraće vreme, dok se aromatski profil formirao u zavisnosti od vremena taloženja šire. Vreme taloženja šire utiče na prekursore arome od kojih se formira karakteristična aroma u vinu. Pored vremena taloženja, sorta grožđa koja je upotrebljena za proizvodnju vina je uticala na sadržaj aminokiselina u širi i na aromatski profil vina (Burin et al., 2015). Burin et al. (2015) su utvrdili da su aromatični estri, acetati, terpeni i norizoprenoidi bili u korelaciji sa vinima proizvedenim od šira sa višom koncentracijom azota (12 sati taloženja), dok su etil estri masnih kiselina, viši alkoholi i polarni estri bili u korelaciji sa vinima koja su se taložila duži vremenski period (30 sati).

2.3.4. Uticaj primene bentonita za bistrenje šire

U proizvodnji belog vina bentonit se često primenjuje kao sredstvo za bistrenje šire i vina. Dodaje se u širu tokom njenog statičkog taloženja (Armada i Falqué, 2007; Lambri et al., 2012), u bistru širu pre alkoholne fermentacije (Puig-Deu et al., 1999; Horvat et al., 2019), na početku, u sredini i na kraju alkoholne fermentacije (Lira et al., 2014, 2015; Horvat et al., 2019), i u vinu (Lambri et al., 2010, 2013, 2016; Lira et al., 2015; Vincenzi et al., 2015).

Bentonit je prirodan mineral gline koji pripada grupi montmorilonita tj. aluminijum hidratnih silikata, bubri u vodi i negativno je naelektrisan. Lako reaguje sa pozitivno naelektrisanim proteinima i taloži se. Pored proteina bentonit uklanja i druge čestice i agregate (Dordoni et al., 2009). Šira se prečišćava da bi se uklonile čestice mutnoće (koloidi, ćelijske čestice), proteini i oksidabilni polifenoli koji mogu da izazovu mutnoću (Armada i Falqué, 2007). Prekomerna zamućenost šire izaziva prisustvo zeljaste arome, dok prekomerna izbistrenost može dovesti do prekida alkoholne fermentacije (Armada i Falqué, 2007). Ako šire nisu dovoljno izbistrene, imaju sklonost ka oksidaciji

polifenolnih jedinjenja i to dovodi do posmeđivanja i gubitka kvaliteta belih vina (Armada i Falqué, 2007).

Da bi se izbegli neželjeni efekti i postigla optimalna bistrina potrebno je da se odredi koncentracija bentonita za bistrenje. Upotreba sredstava za bistrenje mogu pozitivno i negativno uticati na sastav šire. Postoje oprečna mišljenja o ulozi bentonita koji je bio dodavan u širu tokom taloženja. U istraživanjima Wehrung et al. (1996) gubitak aromatičnih jedinjenja u širi nije bio veliki, pa su predložili upotrebu bentonita tokom taloženja šire, dok nasuprot njima Piug-Deu et al. (1999) ističu da je dodavanjem bentonita dolazilo do gubitka arome.

Armada i Falqué (2007) su ispitivali uticaj dva sredstva za bistrenje (bentonit i silikagel) na sadržaj isparljivih aromatičnih jedinjenja. Spontano statičko taloženje na niskoj temperaturi se često primenjuje u vinarijama za proizvodnju belih vina. U istraživanjima Armada i Falqué (2007) su primenjivali statičko taloženje šire zajedno sa dodavanjem bentonita. Ispitivali su uticaj sredstava za prečišćavanje na sadržaj etil estara, acetata, masnih kiselina, viših alkohola, C₆ alkohola i slobodnih monoterpena. U svom radu su utvrdili da je bentonit uticao na snižavanje koncentracija C₁₃-norizoprenoida, terpena i C₆ alkohola, odgovornih za sortnu aromu (Armada i Falqué, 2007).

Horvat et al. (2019) su proučavali uticaj bentonita u koncentraciji od 100 g/hl na sadržaj fenolnih jedinjenja, monoterpena, C₁₃-norizoprenoida, alkohola, acetata, etil estara u Malvazija vinima. Na osnovu rezultata, zaključili su da je bentonit koji je dodat u širu pre alkoholne fermentacije imao nižu koncentraciju β damascenona i C₆ jedinjenja. Bentonit je u prefermentativnoj fazi limitirao enzime lipoksigenaze, pa je sinteza C₆ jedinjenja bila manja (Horvat et al., 2019).

Dodavanje bentonita tokom alkoholne fermentacije, uticalo je na porast fermentativnih aroma, dok se tretiranjem groždanog soka pre fermentacije uticalo na manju sintezu isparljivih jedinjenja, ali su koncentracije bile više nego u kontroli.

2.4. Uticaj načina vinifikacije na aromatski profil vina

2.4.1. Uticaj vrste i soja kvasca

Aromatična jedinjenja kao što su etil estri, acetati, masne kiseline, etil estri masnih kiselina i viši alkoholi su povezani sa metabolizmom ćelijskih kvasaca (Lambrechts i Pretorius, 2000). Alkoholna fermentacija može da se izvodi spontanom ili dirigovanom fermentacijom zasejavanjem određenih sojeva komercijalnih kvasaca. Kvasci mogu direktno da otpuštaju aktivne supstance u širu, ili da se formiraju jedinjenja pod dejstvom ekstracelularnih enzima. Pod uticajem metaboličke aktivnosti kvasaca formiraju se nova aromatična jedinjenja ili se transformišu prekursori jedinjenja koji su prisutni u širi (Romano et al., 2003). Kao posledica različitih kvalitativnih i kvantitativnih razlika u sastavu groždane šire, fermentacijom šire različitog porekla isti kvasac proizvodi različita vina (Romano et al., 2003). Tokom alkoholne fermentacije formiraju se razna fermentativna jedinjenja, etil estri, acetati, viši alkoholi, aldehidi, sumporna i polifenolna jedinjenja, isparljive kiseline i dr. (Furdiková et al., 2007).

Razni autori su ispitivali uticaj sojeva kvasaca na sadržaj aromatičnih jedinjenja (Antonelli et al., 1999; Eglinton et al., 2000; Nurgel et al., 2002; Herjavec et al., 2003; Romano et al., 2003; Torija et al., 2003; Hernández-Orte et al., 2005; Furdiková et al., 2007; Beltran et al., 2008).

Antonelli et al. (1999) su proučavali uticaj devet *Saccharomyces cerevisiae* i četiri *Saccharomyces bayanus* kvasaca na koncentraciju isparljivih jedinjenja u Trebiano vinima. Kada su se koristili navedeni kvasci postojala je statistički značajna razlika u sadržaju isparljivih jedinjenja ispitivanih vina. Neki sojevi *Saccharomyces cerevisiae* su sintetizovali viši sadržaj n-propanola i 3-etoksipropanola a *Saccharomyces bayanus* više koncentracije isparljivih jedinjenja, uglavnom

feniletil alkohola i etil laktata, dok su proizvodili mali sadržaj sirćetne i jabučne kiseline (Antonelli et al., 1999). Antonelli et al. (1999) ističu da su kvasci malo uticali na formiranje C₆ jedinjenja, jer se oni formiraju u prefermentativnoj fazi.

Herjavec et al. (2003) su istraživali uticaj epifitnih i različitih komercijalnih kvasaca na promene u sastavu isparljivih jedinjenja u Šardone vinima. Utvrdili su da vina koja su proizvedena spontanom fermentacijom imala viši sadržaj 2-feniletil alkohola i feniletil acetata. Pored toga, navedena vina gde je primenjena spontana fermentacija bila su dobrog kvaliteta (Herjavec et al., 2003). Prema Herjavec et al. (2003), najbolje vino je bilo sa komercijalnim kvascem Lalvine-71 B. Navedeno vino kada se uporedilo sa vinom proizvedenom spontanom fermentacijom, imalo je višu koncentraciju buterne, heksanske i etil buterne kiseline (Herjavec et al., 2003).

Nurgel et al. (2002) su proučavali uticaj raznih sojeva *Saccharomyces cerevisiae* na sadržaj isparljivih jedinjenja Emir vina. Utvrdili su da su viši alkoholi, estri i isparljive kiseline glavni sastojci vina, dok su fenoli i karbonilna jedinjenja bila nižih koncentracija u Emir vinima. Prema Nurgel et al. (2002), vina koja su dobijena dodavanjem komercijalnih kvasaca, imala su viši sadržaj etil estara masnih kiselina srednjeg lanca, heksil acetata, 2-feniletil acetata i masnih kiselina srednjeg lanca, dok su vina dobijena spontanom fermentacijom imala višu koncentraciju masnih kiselina srednjeg lanca. Takođe, navedeni autori su istakli da su postojale razlike u sadržaju isparljivih jedinjenja.

Eglinton et al. (2000) su istraživali uticaj dva soja *Saccharomyces bayanus* i jednog soja *Saccharomyces cerevisiae* na aromatski profil Šardone vina. *Saccharomyces bayanus* sojevi su proizvodili vina sa drugačijim hemijskim sastavom, aromatskim profilom i senzornim karakteristikama, nego vina koja su dobijena korišćenjem kvasaca *Saccharomyces cerevisiae*.

Prema Torija et al. (2003) koji su istraživali uticaj temperatura fermentacije (13 i 25°C) i sojeva *Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces bayanus* kvasaca na sadržaj isparljivih jedinjenja, utvrđeno je da je sadržaj isparljivih jedinjenja bio viši na nižim temperaturama i da je zavisio od primenjenog soja kvasca. *Saccharomyces bayanus* je proizvodio tri puta više 2-feniletil alkohola nego *Saccharomyces cerevisiae*, dok je *Saccharomyces cerevisiae* sintetisao više acetata, etil estara masnih kiselina i masnih kiselina srednjeg lanca (Torija et al., 2003). *Saccharomyces bayanus* je proizvodio više koncentracije masnih kiselina srednjeg lanca na nižim temperaturama (Torija et al., 2003).

2.4.2. Uticaj primenjenog hraniva za kvasce

Pored kvasaca, važan faktor koji utiče na formiranje fermentativnih aromatičnih jedinjenja je dodavanje preparata na bazi azota, amonijuma i amonikiselina. Mnogi autori ističu važnost dodavanja preparata na bazi azota (Hernández-Orte et al., 2005, 2006; Garde-Cerdán et al., 2008; Torrea et al., 2011; Vilanova et al., 2012).

Hernández-Orte et al. (2005) su proučavali kako tip hraniva za kvasce koji se dodaje (amonijum ili aminokiseline) utiču na sintezu aromatičnih jedinjenja u vinu. Kada se preparati na bazi aminokiselina dodaju širi, proizvedena vina su imala viši sadržaj izobutanola, izobuterne kiseline i γ -butirolaktona, dok su vina koja su dobijena dodavanjem hraniva na bazi amonijuma imala više koncentracije etil laktata i c-3-heksenola (Hernández-Orte et al., 2005). Ovi autori su utvrdili da je uticaj preparata na bazi aminokiselina zavisio od kvasca koji je upotrebljen u eksperimentu. Takođe, u navedenim istraživanjima je utvrđeno da prilikom dodavanja bilo kojeg preparata na bazi azota u vinima dolazi do smanjenja sadržaja 2-feniletil alkohola, metionola i izoamil alkohola (Hernández-Orte et al., 2005).

Često se u vinarstvu dodaju preparati na bazi diamonijum fosfata (DAP) da bi se sprečili razni problemi tokom proizvodnje vina, a među njima usporavanje i zastoj fermentacije (Garde-Cerdán et al., 2008). Garde-Cerdán et al. (2008) su ispitivali uticaj dodavanja različitih koncentracija

aminokiselina Masuelo (Mazuelo) širi koja je imala nizak sadržaj azota, na sintezu aromatičnih jedinjenja u vinu. Postojala je korelacija između formiranja 2-feniletil alkohola, ukupnih estara, 2-feniletil acetata, izoamil acetata, oktanske, dekanske i ukupnih kiselina, i dodavanja različitih koncentracija aminokiselina širi (Garde-Cerdán et al., 2008). Navedeni autori su zaključili u svom radu da suplementacija aminokiselina u koncentracijama 40, 120 i 250 mg/l je uticala na formiranje aromatičnih jedinjenja u vinu.

Torrea et al. (2011) su proučavali uticaj dodavanja različitih koncentracija preparata na bazi azota širi, na sintezu fermentativnih aromatičnih jedinjenja u Šardone vinima. Na formiranje isparljivih aromatičnih jedinjenja u velikoj meri je zavisio tip i koncentracija azota koji su prisutni u širi (Torrea et al., 2008). Ovi autori su zaključili da tip i koncentracija azota u rasponu od 160 do 480 mg/l mogu bitno menjati sastav isparljivih jedinjenja Šardone vina. Torrea et al. (2011) su utvrdili da je dodavanje preparata na bazi aminokiselina i amonijuma dovelo do povećanja sadržaja acetata i etil estara masnih kiselina srednjeg lanca i smanjenja viših alkohola, dok je dodavanje preparata na bazi amonijuma uticalo na višu koncentraciju etil acetata i sirćetne kiseline.

Vilanova et al. (2012) su ispitivali uticaj neorganskog azotnog preparata na sadržaj isparljivog i neisparljivog sastava vina. Albarino vina koja su dobijena od šira kojima su dodati diamonijum fosfat preparati (DAP), imala su više koncentracije etil estara, isparljivih masnih kiselina i viših alkohola. Ovi preparati nisu imali uticaja na sadržaj ukupnih slobodnih sortnih jedinjenja i acetatnih estara (Vilanova et al., 2012).

2.4.3. Uticaj malolaktičke fermentacije

Malolaktička fermentacija (MF) je proces koji uključuje biokonverziju jabučne u mlečnu kiselinu i CO₂, nije prava fermentacija, nego predstavlja enzimsku dekarboksilaciju L-jabučne u monokarbonsku L-mlečnu kiselinu (Gil-Sánchez et al., 2019).

Potrebna je u proizvodnji crvenih vina, dok se u proizvodnji belih vina primenjuje kada se želi smanjiti kiselost vina. Odvija se obično posle alkoholne fermentacije, ali može da se sprovede istovremeno sa njom. Pored prevođenja jabučne u mlečnu kiselinu čime se postiže bolji ukus vina, dolazi i do modifikacije aromatskog profila vina kroz biosintezu i modifikaciju isparljivih jedinjenja, čime se poboljšava složenost arome i kvaliteta vina (Gil-Sánchez et al., 2019). Uticaj bakterija mlečne fermentacije na aromatski sastav je veoma varijabilan u zavisnosti od vrste vina (Jeromel et al., 2008). Gil-Sánchez et al. (2019) ističu da se tokom mlečne fermentacije modifikuju aromatska svojstva vina, koja dobijaju puterastu aromu. Malolaktička fermentacija može da se izvodi spontano sa epifitnim bakterijama mlečne fermentacije ili dodavanjem komercijalnih kultura, u prvom redu *Oenococcus oeni* i *Lactobacillus plantarum*.

Jeromel et al. (2008) su proučavali promene sadržaja isparljivih jedinjenja u vinima sorte Kraljevina pod uticajem kontrolisane malolaktičke fermentacije. Ovi autori su zaključili da je malolaktička fermentacija uticala na poboljšanje senzornih karakteristika i kvaliteta vina. Jeromel et al. (2008) su utvrdili promene sadržaja isparljivih jedinjenja, viših alkohola, etil estara, kiselina, acetaldehida, slobodnih i vezanih monoterpena.

Knoll et al. (2012) su istraživali promene u sadržaju isparljivih jedinjenja inokulacijom sa dva različita soja *Oenococcus oeni*, u različitim fazama proizvodnje Rizling vina. Utvrđeno je da bakterijski soj i vreme inokulacije utiče na sadržaj isparljivih jedinjenja. Takođe, zaključeno je da je sadržaj ukupnih viših alkohola i 2-feniletil alkohola bio viši u vinima gde je primenjena malolaktička fermentacija (Knoll et al., 2012).

U vinima gde je sprovedena malolaktička fermentacija, sadržaj etil estera mlečne kiseline, dietil sukcinata i etil estera sirćetne kiseline je bio viši, dok je sadržaj svih acetata snizio (Knoll et al., 2012).

Iako se u vinarijama pretežno koristila bakterija mlečne kiseline *Oenococcus oeni*, utvrđeno je da je *Lactobacillus plantarum* jednako efikasan u sprovođenju malolaktičke fermentacije (Pozo-Bayón et al., 2005). Bakterija mlečne kiseline *Oenococcus oeni* je sintetizovala višu koncentraciju γ -butirolaktona u odnosu na *Lactobacillus plantarum*. U zavisnosti od bakterije mlečne kiseline koja se koristila, koncentracije etil dekanoata, oktanske, dekanske kiseline i γ -butirolaktona su se znatno razlikovale (Pozo-Bayón et al., 2005). *Oenococcus oeni* je tolerantan na nizak pH i visoku koncentraciju etanola. Pozo-Bayón et al. (2005) su utvrdili značajne metabolitičke razlike između bakterija mlečne kiseline *Lactobacillus plantarum* i *Oenococcus oeni*.

2.5. Uticaj sredstava za bistrenje i stabilizaciju vina

2.5.1. Uticaj primene bentonita za bistrenje vina

Najčešće korišćeni tretman za uklanjanje proteina u proizvodnji vina je bistrenje bentonitom (Lambri et al., 2012; Vela et al., 2017). Važno je utvrditi dozu i vreme dodavanja bentonita, jer prekomerna upotreba može negativno uticati na aromu i kvalitet finalnog vina (Lira et al., 2015). Bentonit se lako koristi, nije skup i efikasan je za uklanjanje proteina koji mogu izazvati mutnoću u vinu (Ribéreau-Gayon et al., 2006b; Vela et al., 2017).

Bentonit je negativno naelektrisan i lako se vezuje sa pozitivno naelektrisanim hidrokoloidima, tako da se ne vezuje samo sa proteinima nego i sa drugim molekulima (Lambri et al., 2010). Mnogi autori ističu uticaj bentonita na koncentraciju isparljivih jedinjenja u vinu (Lambri et al., 2010; 2012; Vela et al., 2015). Kod vina koja su tretirana bentonitom dolazi do snižavanja koncentracija aromatičnih isparljivih jedinjenja na dva načina, direktnom adsorpcijom bentonitom i indirektnim uklanjanjem proteinima koji vezuju aromatična jedinjenja (Armada i Falqué, 2007; Lambri et al., 2010).

Vela et al. (2017) su istraživali promene u sadržaju aromatičnih jedinjenja u vinima Sovinjon blana, sa dodavanjem bentonita u toku fermentacije i posle fermentacije. Utvrdili su da je bistrenje vina uticalo na isparljivi sastav Sovinjon blan vina koji je zavisio od toga kada je bentonit dodat, hemijskog sastava i godine berbe (Vela et al., 2017). Vela et al. (2017) su utvrdili uticaj bentonita na sadržaj terpena i dugolančanih masnih kiselina, kao i da je uklanjanje proteina bilo efikasnije u vinu nego u širi.

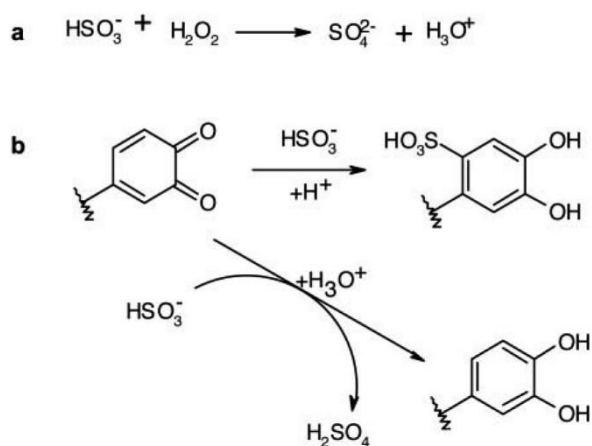
Lambri et al. (2010) su proučavali uticaj tri koncentracije bentonita na sadržaj isparljivih jedinjenja u dva Šardone vina koja su dobijena različitim postupcima proizvodnje. Utvrdili su da je većina jedinjenja uklonjena deproteinizacijom, dok u manjoj meri direktno adsorpcijom. Delovanje bentonita u ovom eksperimentu je zavisilo od prirode i količine proteina, kao i od početne koncentracije isparljivih jedinjenja (Lambri et al., 2012).

2.5.2. Uticaj sumpordioksida i askorbinske kiseline

Sumpordioksid kao antioksidans direktno uklanja kiseonik, reaguje sa vodonik peroksidom i smanjuje koncentraciju hinona (slika 13) (Danielewich et al., 2008; Oliviera et al., 2011). Prekomerna koncentracija sumpordioksida može da dovede do formiranja neprijatnih mirisa, zamućenja tokom skladištenja i pogoršanja kvaliteta vina (Li et al., 2008). Neki autori ističu efikasnost delovanja askorbinske kiseline kada se koristi u kombinaciji sa sumpordioksidom (Zoecklein et al., 1995; Barill et al., 2016). Kada se askorbinska kiselina koristi kao dopuna sumpordioksidu, lakše se oksidiše i štiti aromatična i polifenolna jedinjenja od oksidacije (Bradshaw et al., 2011). Morozeva et al. (2015) navode da kada se askorbinska kiselina koristila zajedno sa sumpordioksidom, imala je veći uticaj na smanjenje oksidativnih aroma i bolje su se očuvale voćne arome, nego kada se primenjivao sam sumpordioksid. Askorbinska kiselina je efikasnija u vezivanju molekularnog kiseonika u poređenju

sa sumpordioksidom (Danilewich et al., 2008), i na taj način sprečava oksidaciju polifenolnih jedinjenja. Takođe redukuje *o*-hinone do originalnog polifenolnog stanja (Bradshaw et al., 2011).

Kada se upotrebljava askorbinska kiselina zajedno sa sumpordioksidom, vino može imati produženi rok trajanja, jer askorbinska kiselina ima sposobnost da održava višu koncentraciju sumpordioksida za datu količinu potrošnje kiseonika (Barill et al., 2016). Garde-Cerdán et al. (2007) su utvrdili da su vina koja su čuvana u boci sa sumpordioksidom imala višu koncentraciju isparljivih jedinjenja, uglavnom estara i alkohola, nego odležalo vino u boci bez sumpordioksida. Hidroliza etil estara masnih kiselina se više odvija u vinu odležalom bez SO₂, nego u vinu sa SO₂, i to je objašnjavalo postojanje viših koncentracija etil estara u vinu koje je sazrevalo sa SO₂ (Garde-Cerdán et al., 2007).



Slika 13. Antioksidantna uloga SO₂ u vinu a) uklanjanje vodonik peroksida b) uklanjanje *o*-hinona (Bradshaw et al., 2011)

3. CILJ I ZNAČAJ ISTRAŽIVANJA

Aromatične materije su među glavnim činiocima „dopadljivosti“ vina. Iako je važnost ovih jedinjenja velika, aromatična jedinjenja nisu dovoljno istraživana u belim sortama grožđa i belim vinima. Svedoci smo sve većeg širenja vinogradarskih površina pod „stranim“ tj. introdukovanim sortimentom. Zbog razvoja turizma u Crnoj Gori, u poslednje vreme se poklanja velika pažnja autohtonim sortama vinove loze kao i vinima koja su proizvedena od njih.

Zbog svega navedenog, osnovni cilj ove doktorske disertacije je bio da se utvrdi sadržaj aromatičnih materija u grožđu autohtonih belih sorti Krstač i Žižak, odnosno da se istraži koje su najdominantnije mirisne materije u belim vinima kod ovih sorti.

U okviru ove doktorske disertacije, praćena je dinamika sadržaja aromatičnih materija tokom fenofaza sazrevanja (šarak, puna zrelost i prezrelost). Cilj je bio da se identifikuju i kvantifikuju jedinjenja u grožđu sorti vinove loze Krstač i Žižak

Tokom istraživanja, ispitivan je uticaj prefermentativnih postupaka (maceracije i glikolitičkih enzima, različitih pritisaka, različitih vremena trajanja gravitacionog taloženja šire) na sadržaj aromatičnih jedinjenja u vinu. Takođe, cilj je bio identifikovati i kvantifikovati jedinjenja u vinu.

Pored toga, utvrđivan je uticaj rastućih koncentracija bentonita i jona teških metala na aromatski profil vina.

Cilj ovog istraživanja je bio da se utvrdi kako različiti sojevi kvasaca, različite glikozidolitičke aktivnosti, i hraniva za kvasce, utiču na sadržaj aromatičnih jedinjenja. Takođe je ispitivana dinamika sadržaja pojedinih aromatičnih jedinjenja tokom alkoholne fermentacije (prvi, treći, peti, sedmi i deseti dan).

Na proizvedenim gotovim vinima ispitivan je uticaj malolaktičke fermentacije, rastućih koncentracija bentonita, i rastućih koncentracija SO₂, na sadržaj aromatičnih materija. Osim toga, utvrđivane su promene sadržaja aromatičnih materija posle godinu dana sazrevanja.

Ova istraživanja imaju veliki praktični značaj, jer proizvođačima vina obezbeđuju informacije o načinu vinifikacije, čime se poboljšava kvalitet belih vina. Rezultati ovih istraživanja dali su doprinos opštim saznanjima o karakteru arome vina, jer su prvi put objavljeni podaci o aromatskom profilu autohtonih sorti Krstač i Žižak.

4. MATERIJAL I METODE

4.1. Određivanje sadržaja aromatičnih materija grožđa u različitim fenofazama sazrevanja: šarak, puna zrelost, prezrelost

U prvoj fazi istraživanja, grožđe je brano u fenofazama: šarak, puna zrelost i prezrelost. U eksperimentu su korišćene autohtone sorte Krstač i Žižak, iz vinograda na Čemovskom polju, u Crnoj Gori. Krstač se gaji na mikrolokalitetu „Dinoš“ i „Pista“, „13 Jul Plantaže“ a.d.. Plantaže su jedina vinarija koja proizvodi vino od ove autohtone sorte. Grozd je u obliku krsta po kome je i sorta dobila ime. Uzgojni oblik vinove loze sorte Krstač je Gijov jednogubi, a način rezidbe luk-kondir (kondir 2 okca, luk 9 okaca). Nadmorska visina zasada vinove loze sorte Krstač je 66 m „Dinoš“ i 54 m (Pista). Navodnjavanje vinove loze sprovedeno je sistemom kap po kap. Prinos grožđa po čokotu je bio 5,46 kg (Dinoš) i 1,83 kg (Pista). Berba grožđa sorte Krstač se odvijala ručno i grožđe je bilo zdravo. Druga bela autohtona sorta grožđa je Žižak, koja je brana na lokalitetu „Bunar 17“. Uzgojni oblik vinove loze sorte Žižak je Gijov a način rezidbe luk-kondir (kondir 2 okca, luk 9 okaca). Nadmorska visina zasada vinove loze sorte Žižak je 33 m. Navodnjavanje vinove loze sprovedeno je sistemom kap po kap. Prinos grožđa po čokotu je bio 3,39 kg. Berba grožđa sorte Žižak se odvijala ručno i grožđe je bilo zdravo. Grožđe sorte Žižak ima izraženu otpornost prema sivoj plesni *Botrytis cinerea*. Zbog toga grožđe može da se duže zadržava na čokotu i da nakupi višu količinu šećera. Uzorci grožđa Krstača su brani 27.07.2017. godine (šarak), 15.08.2017. (faza pune zrelosti) i 29.08.2017. (faza prezrelosti). Grožđe sorte Žižak je ubrano 28.07.2017. (šarak), 15.09.2017. (puna zrelost) i 29.09.2017. (prezrelost). Uzorci su prethodno bili zamrzavani na temperaturi od - 20 °C. Nakon toga se vršila priprema uzoraka i njihovo snimanje na gasnom hromatografu sa masenom spektrofotometrijom, u laboratoriji Hemijskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.

4.2. Ispitivanje uticaja vremena prefermentativne maceracije kljuka sorti Krstač i Žižak i enzimskih preparata na aromatski profil vina

Grožđe sorte Krstač i Žižak je ubrano ručno u stanju pune zrelosti, fitosanitarno je bilo zdravo (određeno vizualno). Bobice grožđa obe sorte su ručno odvojene od šepurine, izmuljane, i dobijeni kljuk je sulfitisan sa 10 g $K_2S_2O_5$ /100 kg. Kljuk svake sorte je pojedinačno podeljen na 5 tretmana: Ctrl (kontrola) – bez enzima, CB4h i CB8h - oba uz dodatak Cuvee blanc (Lallemend, Kanada), maceracija 4 h i 8 h; EB4h i EB8h - obe uz dodatak enzimskog preparata beta (Lallemend, Kanada), maceracija 4h i 8h. Sve prefermentativne maceracije su se odvijale na temperaturi 5°C, i količina dodatog enzima iznosila je 2 g/100 kg kljuka. Dobijene šire su 48 sati bistrene gravitacionim taloženjem, a zatim odvojene od taloga. Sve bistre šire, koje su bistrene gravitacionim taloženjem, su se zasejavale čistom kulturom selekcionisanog vinskog kvasca *Saccharomyces cerevisiae* 20 g/hl (ICV D47, Lallemend, Kanada), i ostavljene da fermentišu. Praćene su specifične težine, širomerom po Oechle-u (0-130 °Oe) (Tlos, Hrvatska) pa zatim areometrom (0,900 - 1,000 g/cm³) (Tlos, Hrvatska) i kad su bile 0,993, konstantovano je da je fermentacija završena. Nakon tihe fermentacije mlada vina su odvojena od taloga pretakanjem i sulfitisana sa 5 g vinobrana/hl. Nakon mesec dana izvršeno je prvo pretakanje uz korekciju slobodnog SO₂ na 30 mg/l (dodato 3g vinobrana/hl) a nakon mesec i po dana i drugo pretakanje uz korekciju SO₂ kao i kod prethodnog. U ovim vinima nije rađena korekcija pH (nije dodavana vinska kiselina), nije dodavan bentonit za bistenje, i nije sprovedena malolaktička fermentacija.

4.3. Ispitivanje uticaja pritiska cedjenja kljuka na aromatski profil vina sorti Krstač i Žižak

Grožđe je sulfitisano sa 10 g vinobrana/100 kg na muljači kapaciteta 3-5 t/ha (Nuova Enopieve, Italija) i kljuk je dobijen muljanjem grožđa uz odvajanje šepurine. Nakon toga, presovan je preko pneumatske prese tip PST 5 (Škrli, Slovenija) i odvojene su dve frakcije: samotok (0 bar) i preševina (blizu 2 bara). Dobijena šira je 48 h gravitaciono taložena, na t 5°C, nakon čega je bistra šira odvojena od taloga, i zasejana čistom kulturom selekcionisanog vinskog kvasca *Saccharomyces*

cerevisiae (ICV D 47, Lallemand, Kanada). Alkoholna fermentacija se odvijala na t 18°C, kako za Krstač tako i za Žižak. Alkoholna fermentacija šire sorte Krstač je trajala 10 dana, dok Žižka 12 dana.

Pračene su specifične težine, širomerom po Oechle-u (0-130°Oe) (Tlos, Hrvatska), areometrom (0,900 - 1,000 g/cm³) i kad su bile 0,993, konstantovano je da je fermentacija završena. Nakon obavljene fermentacije mlada vina su odvojena od taloga otakanjem i sulfitisana sa 5 g vinobrana/hl. Nakon mesec dana izvršeno je prvo pretakanje uz korekciju slobodnog SO₂ na 30 mg/l (dodato 3g vinobrana/hl), a nakon mesec i po dana i drugo pretakanje uz korekciju SO₂ kao i kod prethodnog. U ovim vinima nije rađena korekcija pH (nije dodavana vinska kiselina), nije dodavan bentonit za bistrenje, i nije sprovedena malolaktička fermentacija.

4.4. Ispitivanje uticaja načina prečišćavanja šire na aromatski profil vina sorti Krstač i Žižak

Grožđe sorte Krstač je ubrano na mikrolokalitetu „Dinoš“ a Žižak sa „Bunara 17“. Krstač i Žižak su ubrani ručno i u letvaricama dopremljeni u pogon za mikroviniifikaciju, „13 Jul Plantaže“ a.d.. Grožđe je rashlađeno tokom 24 sata i nakon toga prerađeno. Vinifikacija po postupku za bela vina podrazumevala je muljanje grožđa uz odvajanje šepurine na muljači kapaciteta 3-5 t/ha (Nuova Enopieve, Italija), sulfitisanje sa 10 g K₂S₂O₅/100 kg kljuka i presovanje preko hidraulične prese kapaciteta 300 l (Nuova Enopieve, Italija). Šira se spontano bistrila taloženjem 10, 20 i 30 sati, na temperaturi od 5°C, u staklenim balonima od 15 l, posle čega su uzorci odvojeni od taloga. Sve bistre šire su zasejane čistom kulturom selekcionisanog vinskog kvasca *Saccharomyces cerevisiae* (ICV D 47, Lallemand, Kanada) u količini 20 g/hl.

Alkoholna fermentacija se odvijala na t 15°C, kako za Krstač tako i za Žižak. Za ovaj eksperiment nije bilo potrebno dodavati hranivo (amonijačno i aminokiselinsko), bentonit, nije izvođena malolaktička fermentacija, niti korekcija pH. Pračene su specifične težine širomerom po Oechle-u (0-130°Oe) (Tlos, Hrvatska), areometrom (0,900 - 1,000 g/cm³) i kad su bile 0,993, konstantovano je da je fermentacija završena. Tiho vrenje se odvijalo na temperaturi od 12°C. Ogledi su postavljeni u pogonu za mikroviniifikaciju, „13 Jul Plantaže“ a.d.. Prilikom pretakanja dodavan je vinobran do 30 mg/l slobodnog SO₂. Sprovođila se nega vina, pretakanje, dolivanje sudova i sulfitisanje sve do flaširanja

4.5. Ispitivanje uticaja primene bentonita za bistrenje šire na aromatski profil vina sorti Krstač i Žižak

Posle praćenja dinamike sazrevanja grožđa sorte Krstač i Žižak, ono je ubrano ručno sa lokaliteta „Dinoš“ i „Bunar 17“ koji se nalaze na Čemovskom polju. Krstač je prerađen 20.08.2017. godine a Žižak 16.09.2017. godine. Krstač i Žižak su ubrani ručno i u letvaricama dopremljeni u pogon za mikroviniifikaciju, „13 Jul Plantaže“ a.d.. Grožđe je rashlađeno tokom 24 sata i nakon toga prerađeno. Vinifikacija po postupku za bela vina podrazumevala je muljanje grožđa uz odvajanje šepurine, sulfitisanje sa 10 g K₂S₂O₅/100 kg grožđa i presovanje preko hidraulične prese. Šira se gravitaciono taložila 48 h na temperaturi od 5°C, posle čega je bistra šira otočena sa taloga. Šira se zatim grejala na sobnoj temperaturi.

U pet uzoraka se pratilo kakav uticaj ima bentonit, koji se najčešće primenjuje u cilju bistranja šire, na smanjenje pojedinih aromatičnih jedinjenja, koja se nalaze u grožđu i vinu. U pet staklenih balona od 15 l su se dodavale rastuće koncentracije bentonita.

U prvi stakleni balon od 15 l (kontrola), nije se dodavao bentonit, u drugi 50 g/hl, u treći 100 g/hl, u četvrti 150 g/hl bentonita i u peti 200 g/hl bentonita, nakon čega je sadržaj dobro homogenizovan. Nakon toga su šire zasejane selekcionisanim kvascem *Saccharomyces cerevisiae* u

količini 20 g/hl (ICV D 47, Lallemand, Kanada), tako da razlika u temperaturi između kvasca i šire ne bude viša od 10°C.

Alkoholna fermentacija se odvijala na t 15°C, kako za Krstač tako i za Žižak. Praćene su specifične težine širomerom po Oechle-u (0-130°Oe) (Tlos, Hrvatska), areometrom (0,900 - 1,000 g/cm³) i kad su bile 0,993, konstantovano je da je fermentacija završena. Tiho vrenje se odvijalo na temperaturi od 12°C. Nije se sprovodila jabučno mlečna fermentacija. Po obavljenoj fermentaciji, mlado vino je odvojeno sa taloga pretakanjem i sulfitisano sa 5 g vinobrana/hl. U toku narednih meseci sprovedene su mere nege vina koje su podrazumevale pretakanje, dolivanje sudova i sulfitisanje. Za ovaj eksperiment nije bilo potrebno dodavati hranivo (amonijačno i aminokiselinsko), nije izvođena malolaktička fermentacija, niti korekcija pH. Ogledi su postavljeni u pogonu za mikroviniifikaciju „13 Jul Plantaže“ a.d..

4.6. Ispitivanje uticaja mikrooksigenacije šire i katalitičkog delovanja jona teških metala na aromatski profil vina sorti Krstač i Žižak

Grožđe sorte Krstač je ubrano 20.08.2017. godine a Žižak 16.09.2017. godine sa lokaliteta koji se nalaze na Čemovskom polju. Grožđe je ubrano ručno kada je bilo u punoj zrelosti. Prvo je rashlađeno a zatim je prerađeno po postupku za dobijanje belih vina. Taj postupak je podrazumevao muljanje grožđa uz odvajanje šepurine, sulfitisanje sa 10 g K₂S₂O₅/100 kg i presovanje preko hidraulične prese. Šira se gravitaciono taložila 48 h na temperaturi od 5°C, posle čega je bistra šira otočena sa taloga. Šira se zatim grejala na sobnu temperaturu. Na atomskom apsorpcionom spektrometru (AAS) Varian SpectraAA 55 su izmerene koncentracije cinka (Zn), bakra (Cu) i gvožđa (Fe) u bistroj širi, u Centru za ekotoksikološka ispitivanja Podgorica d.o.o. (CETI). Da bi se utvrdilo u kojoj meri joni teških metala utiču na pojedina aromatična jedinjenja ispitivanih sorti grožđa uzorci su tretirani jonima bakra (CuSO₄ x 5H₂O) u dve koncentracije (3 i 6 mg/l), cinka (ZnSO₄ x 7H₂O) u dve koncentracije (3 i 6 mg/l) i gvožđa (FeSO₄ x 7H₂O) u količini (5 i 15 mg/l) i utvrđivano je njihovo katalitičko delovanje na oksidaciju pojedinih aromatičnih jedinjenja pojedinih sorti. Šire su homogenizovane i tretirane kiseonikom u trajanju od 1 minut, pod pritiskom od 2 bara.

Nakon toga, šire sorti Krstač i Žižak su zasejavane selekcionisanim kvascem *Saccharomyces cerevisiae* (ICV D 47, Lallemand, Kanada) u količini 20 g/hl. Alkoholna fermentacija se odvijala na temperaturi 15°C. Praćene su specifične težine, širomerom po Oechle-u (0-130°Oe) (Tlos, Hrvatska), areometrom (0,900 - 1,000 g/cm³) i kad su bile 0,993, konstantovano je da je fermentacija završena. Tiho vrenje se odvijalo na temperaturi 12°C i nisu se dodavala nikakva sredstva. Nije se čekalo da jabučna kiselina pređe u mlečnu kiselinu. Nakon tihog vrenja vino je sulfitisano sa K₂S₂O₅, tako da slobodni SO₂ bude 30 mg/l. Sprovedene su mere nege do momenta razlivanja vina u boce, dolivanje sudova, pretakanje, sulfitisanje. Nije se dodavalo hranivo za kvasce, bentonit, nije se korigovao pH. Takođe, nije se sprovodila hladna stabilizacija.

4.7. Ispitivanje uticaja soja i hraniva za kvasce na aromatski profil vina sorti Krstač i Žižak

U ovom eksperimentu praćeno je kako će različiti sojevi kvasaca, različite glikolitičke aktivnosti, imati uticaj na aromatski profil i senzorne karakteristike vina sorti Krstač i Žižak. Pored toga, primenjena su različita hraniva koja se dodaju tokom alkoholne fermentacije i praćeno je kakav uticaj imaju na aromatski profil i senzorne karakteristike vina. Kvasci koji su dodavani tokom eksperimenta su *Saccharomyces cerevisiae* (ICV D47, Lallemand, Kanada) i *Saccharomyces bayanus* (Enartis, Italija). Hraniva za kvasce koja su primenjena tokom eksperimenta su amonijačno + aminokiselinsko (Fermaid E, Lallemand, Kanada) i aminokiselinsko (Fermaid O, Lallemand, Kanada). Fermaid E sadrži specifični inaktivni kvasac (*Saccharomyces cerevisiae*), amonijum sulfat, diamonijum fosfat (DAP), tiamin hidrohlorid. Specifični sadržaj organskog azota inaktivisanog kvasca < 9,5 suve materije (N ekvivalent). Fermaid O sadrži autolizate kvasca (*Saccharomyces cerevisiae*): sadržaj organskog azota autolizata kvasca < 11,5 % suve materije (N ekvivalent),

10 % < aminokiselinski sadržaj autolizata kvasca i < 20 % suve materije (ekvivalent glicina). Fermaid O ne sadrži soli amonijuma (DAP) ili mikroelemente.

Grožđe sorte Krstač je ubrano na mikrolokalitetu „Dinoš“ a Žižak sa „Bunara 17“. Krstač i Žižak su ubrani ručno i u letvaricama dopremljeni u pogon za mikrovinifikaciju, „13 Jul Plantaže“ a.d.. Grožđe je rashlađeno tokom 24 sata i nakon toga prerađeno. Vinifikacija po postupku za bela vina podrazumevala je muljanje grožđa uz odvajanje šepurine, sulfitisanje sa 10 g K₂S₂O₅/100 kg grožđa i presovanje preko hidraulične prese. Šira se gravitaciono taložila 48 h na temperaturi 5°C, posle čega je otočena sa taloga, a zatim se grejala na sobnoj temperaturi.

Alkoholna fermentacija je sprovedena po metodi mikrovinifikacije u staklenim balonima od 15 l, na temperaturi od 15°C. U ovom eksperimentu bilo je pet uzoraka a kvasci i hraniva za kvasce su dodavani po sledećoj šemi (Tabela 1):

Tabela 1. Kvasci i hraniva za kvasce koji su primenjeni u eksperimentu

Uzorak 1	Uzorak 2	Uzorak 3	Uzorak 4
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (20 g/hl)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (20 g/hl)	<i>Saccharomyces bayanus</i> (20 g/hl)	<i>Saccharomyces bayanus</i> (20 g/hl)
Fermaid E (15 g/hl)	Fermaid O (15 g/hl)	Fermaid E (15 g/hl)	Fermaid O (15 g/hl)

Kvasci su se dodavali u količini od 20 g/hl šire a hraniva za kvasce treći dan od početka alkoholne fermentacije u količini od 15 g/hl šire. Praćena je specifična težina šire i kada je šećer prevreo, odnosno kada je specifična težina šire, merena širomerom po Oechle-u (0-130°Oe) (Tlos, Hrvatska), areometrom (0,900 - 1,000 g/cm³) bila 0,993, otočena je sa taloga, tj. mlado vino je odvojeno od taloga. Tiho vrenje se odvijalo na temperaturi od 12°C i nisu se dodavala nikakva sredstva. Nije se izvodila malolaktička fermentacija, a dalje su vršeni postupci nege vina. Nije se korigovao pH, dodavao bentonit, i nije se sprovodila hladna stabilizacija.

4.8. Dinamika aromatičnih materija tokom alkoholne fermentacije šire sorti Krstač i Žižak

Posle muljanja i odvajanja šepurine, sulfitisanja kljuka sa 10 g K₂S₂O₅/100 kg, kljuk se presovao. Nakon taloženja, bistra šira je odvojena od taloga i zasejana čistom kulturom selekcionisanog vinskog kvasca *Saccharomyces cerevisiae* (ICV D47, Lallemand, Kanada). Alkoholna fermentacija se odvijala na temperaturi od 18°C i na slavini za uzimanje uzoraka iz fermentora uzimani su uzorci prvog, trećeg, petog, sedmog i desetog dana. Svaki uzorak se konzervisao sa 10 g/hl kalijum sorbata (C₆H₇KO₂) i 3 g/hl K₂S₂O₅. U boci se ostavljalo malo otpražnjenog prostora. Uzorci su ostavljani u frižideru na 5°C. Posle tri dana se formirao talog i oni su prebacivani u staklene bočice od 200 ml.

Uzorci šire Žižka su uzimani iz „Hladnjače“, „13 Jul Plantaže“ a.d., uzeto je 5 uzoraka po 2 l šire. Šira Žižka je bila zasejana kvascem *Saccharomyces cerevisiae* (ICV D47, Lallemand, Kanada) i temperatura alkoholne fermentacije je bila 18°C. Uzorci šire su se uzimali identično kao kod Krstača. Analize određivanja dinamike pojedinih aromatičnih jedinjenja tokom alkoholne fermentacije (prvi, treći, peti, sedmi i deseti dan) su se sprovodile na gasnom hromatografu sa masenom spektrometrijom, u laboratoriji Hemijskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.

4.9. Ispitivanje uticaja malolaktičke fermentacije na aromatski profil vina sorti Krstač i Žižak

Ovaj eksperiment se sprovodio na gotovim vinima Krstača i Žižka „13 Jul Plantaže“ a.d. Bakterije koje su se koristile za malolaktičku fermentaciju su *Oenococcus oeni* (VP 41, Lallemand, Kanada) i *Lactobacillus plantarum* (ML Prime, Lallemand, Kanada). Za izvođenje malolaktičke fermentacije dodano je 1 g bakterija *Oenococcus oeni* /hl šire i 10 g *Lactobacillus plantarum* /hl.

Izmerena je količina jabučne i mlečne kiseline (metodom papirne hromatografije, Daničić, 1973). Priprema uzoraka sa bakterijama je rađena na Poljoprivrednom fakultetu, Univerziteta u Beogradu. Izmeren je pH, slobodan i ukupan SO₂. Jedan deo uzoraka je zasejan bakterijama, dok je drugi deo služio kao kontrola. Uzorci su termostatorirani na 28°C oko 3 meseca, nakon čega su rađene gasnohromatografske analize.

4.10. Ispitivanje uticaja primene bentonita za bistrenje vina na aromatski profil sorti Krstač i Žižak

Ovaj eksperiment se sprovodio na gotovim vinima Krstača i Žižka „13 Jul Plantaže“ a.d.. Eksperimenti su se sprovodili u laboratoriji Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu. Pripremljen je 10 % rastvor bentonita (10 g bentonita u 100 ml H₂O). Postavljen je ogled, sa rastućim koncentracijama bentonita 0 g/hl, 100 g/hl, 200g/hl. Sedimentacija bentonita je sprovedena u toku 14 dana, nakon čega su uzorci pretočeni sa taloga i pripremljeni za analizu.

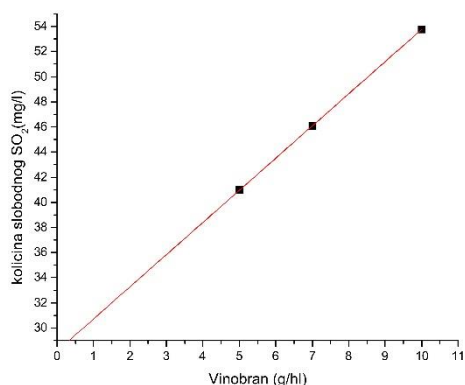
4.11. Ispitivanje uticaja rastućih koncentracija SO₂ i askorbinske kiseline na aromatski profil vina sorti Krstač i Žižak

Ovim eksperimentom bio je cilj utvrditi kako rastuće količine SO₂ i askorbinska kiselina utiču na dinamiku mirisnih materija. Prvo su određene količine slobodnog i ukupnog SO₂. Posle su K₂S₂O₅ i askorbinska kiselina dodavane po sledećoj šemi (Tabela 2):

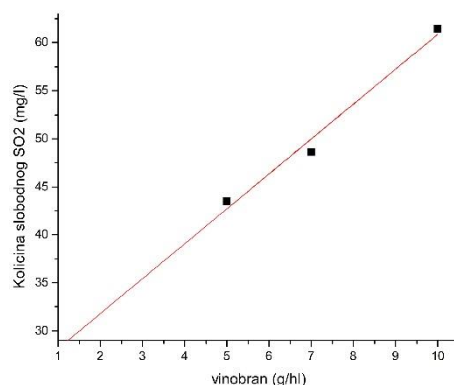
Tabela 2. Količina K₂S₂O₅ i askorbinske kiseline koji su dodavani u uzorke vina Krstača i Žižka „13 Jul Plantaže“ a.d.

Vina	Tretman	Uzorak 1	Uzorak 2	Uzorak 3	Uzorak 4	Uzorak 5
Krstač	K ₂ S ₂ O ₅ (g/hl)	0	0,8	5	7	10
	Askorbinska (mg/l)	200	200	200	200	200
Žižak	K ₂ S ₂ O ₅ (g/hl)	0	1,5	5	7	10
	Askorbinska (mg/l)	200	200	200	200	200

Količine K₂S₂O₅ koje su dodate u uzorak 2 su određene iz grafika 1 tako da je koncentracija slobodnog SO₂ 30 mg/l.



(a)



(b)

Grafik 1. Odnos količine slobodnog SO₂ i dodatog vinobrana: a) Krstač b) Žižak

4.12. Ispitivanje uticaja sazrevanja vina na aromatski profil

U ovom eksperimentu su se pratile promene sadržaja aromatičnih jedinjenja u vinima Krstača i Žižka, posle 12 meseci sazrevanja. Vina su odležavala u komori, na konstantnoj temperaturi od 8°C. Nakon godinu dana, analizirana su 52 vina metodom gasne hromatografije sa plameno jonizujućom i masenom detekcijom (GC/FID-MS). Analize su urađene u laboratoriji Hemijskog fakulteta u Beogradu. U isto vreme je urađena senzorna analiza svih uzoraka, prema Bux-Baum-ovoj metodi.

4.13. Metode za identifikaciju aromatičnih materija

4.13.1. Hemikalije

U ovom istraživanju korišćene su sledeće hemikalije: metilen hlorid, anhidrovani natrijum sulfat, metil alkohol i 4-metil-1-pentanol. Sve hemikalije su nabavljene od Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), osim metilen hlorida koji je nabavljen od Merck (Darmstadt, Germany). Korišćeni su rastvarači analitičke čistoće (metilenhlorid i metanol), koji su dodatno prečišćeni destilacijom i osušeni sa anhidrovanim kalcijum-hloridom ili natrijum-sulfatom.

4.13.2. Tečno-tečna ekstrakcija

Uzorci su pripremljeni tečno-tečnom ekstrakcijom (Avram et al., 2014). U erlenmajer sa šlifom je odmereno 25 ml vina i 5 ml metilen hlorida. Ekstrakcija je vršena uz mešanje magnetnom mešalicom tokom 1 h na 0°C, u ledenom kupatilu. Nakon ekstrakcije, dobijena smeša je ostavljena u ultrazvučnom kupatilu 5 minuta, kako bi se „razbila“ dobijena emulzija. Organska faza je odvojena i osušena sa anhidrovanim natrijum sulfatom i onda filtrirana. Zatim je 0,6 ml anhidrovanog uzorka vina korišćeno za dalju GC/FID-MS analizu.

4.13.3. GC/FID-MS analiza

Analiza isparljivih jedinjenja je obavljena korišćenjem GC/FID-MS sistema prema prethodno opisanoj metodi uz određene modifikacije (Veljović et al., 2014). Analiza je sprovedena na sistemu gasnog hromatografa (GC) Agilent 7890A (Santa Klara, Kalifornija, SAD). Uređaj je opremljen sa Agilent 19091N-113 HP-INNOWax kapilarnom kolonom fuzionisanog silicijum dioksida (30 m × 0,32 mm i debljine filma 0,25 mm) koja je korišćena za odvajanje. Injektovanje je bilo u podeljenom režimu 3:1 sa helijumom kao nosećim gasom pri 1,46 ml min⁻¹, a zapremina injektovanja je bila 1 μL. Temperatura GC peći je održavana na 40°C tokom 5 minuta, a zatim programirana na 220°C na 10°C min⁻¹, a potom je držana 4 minuta na 220°C. Instrument je opremljen sa dvostrukim

detektorima: maseno-selektivnim detektorom (MSD) 5975C inertan KSL EI/CI MSD i plameno-jonizujućim detektorom (FID) povezan sistemom kapilarnog protoka, 2-smerni razdelnik sa dopunskim gasom. Jonski izvor MSD-a i linija prenosa su održavani na 230°C i 280°C, redom. Maseni selektivni detektor je radio u pozitivnom jonskom (EI) modu. Spektri udara elektrona u režimu skeniranja snimljeni su pri 70 eV u opsegu mase od 29 do 300 m/z. FID detektor je zagrejan na 300°C.

Za kvantitativnu procenu primenjena je metoda internog standarda (IS), sa poznatom količinom 4-metil-1-pentanola. Relativni procenti identifikovanih jedinjenja su izračunati iz površine pikova gasne hromatografije. Koncentracija svake isparljive supstance je izračunata u odnosu na IS i predstavljena kao relativna koncentracija svake komponente u analiziranom uzorku.

Identifikacija komponenti je zasnovana na poređenju sa referentnim spektrima (baza podataka Wiley i NIST). Procenti identifikovanih jedinjenja su izračunati iz površine pikova hromatograma.

4.13.4. Headspace ekstrakcija i GC/FID-MS analiza za određivanje aromatičnih jedinjenja u pokožici grožđa

Pokožica je odvojena od bobica grožđa i stavljena u bočicu za Headspace, vreme inkubacije je bilo 10 minuta na temperaturi 90°C, dok je temperatura šprica bila 95°C. Analiza isparljivih jedinjenja je obavljena korišćenjem GC/FID-MS sistema. Gasna hromatografska analiza urađena je na gasnom hromatografu (GC) Agilent 7890A (Santa Klara, Kalifornija, SAD) sa plameno-jonizujućim (FID) i maseno spektrometrijskim detektorom (MSD). Razdvajanje je vršeno na Agilent koloni 19091S-433HP-5MS dimenzija 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm. Protok helijuma je bio 3 ml/min na 280°C. Temperatura injektora je bila 280°C, FID detektora 150°C, dok je početna temperatura kolone bila 35°C u trajanju od 5 min, a zatim povećavana kontinualno, 3°C/min do temperature od 50°C, kada je temperaturni gradijent rastao 10°C/min do 150°C, da bi na kraju temperatura rasla 50°C/min do finalnih 250°C koja je ostala konstanta 4 min (Aćimović et al., 2015).

Injektovana zapremina je bila 1500 µl uzorka i injektovanje je vršeno u split režimu 10:1. Identifikacija komponenti je zasnovana na poređenju masenih spektara isparljivih komponenti grožđa sa referentnim spektrima (baza podataka Wiley i NIST). Na osnovu površina pikova u GC/FID hromatogramu određena je relativna zastupljenost isparljivih jedinjenja.

4.14. Metoda za senzornu ocenu vina

Senzorna ocena uzoraka vina je obavljena po Bux-Baumovoj metodi. Uzorke vina je ocenjivao degustacioni panel u sastavu tri člana, koji su visoko rangirani u senzornom ocenjivanju. Ocenjivali su se boja (do 2 poena), bistrina (do 2 poena), ukus (do 12 poena) i miris (do 4 poena), a najviša ukupna ocena je bila 20 poena. Za degustaciju vina korišćena je standardna čaša za vino.

4.15. Statistička obrada podataka

Statistički test uparenih uzoraka T-test (The paired samples T-test), jednofaktorska Anova sa Tjukijevim post hoc-testom (engl. one-way Anova and Tukey post-hoc test) i analiza glavnih komponenata PCA (Principal Component Analysis) su urađeni u programu SPSS V20.0 (IBM, Chicago, IL, USA; 2014). Linearna regresiona analiza je izvedena u programu Origin Pro 9 (OriginLab, Northampton, MA, USA; 2012).

5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA I DISKUSIJA

5.1. Količina aromatičnih materija u grožđu tokom sazrevanja

U tabeli 3 su prikazani procentualni relativni odnosi isparljivih jedinjenja u grožđu sorti Krstač i Žižak tokom fenofaza sazrevanja (šarak, puna zrelost i prezrelost). Metodom headspace urađena je ekstrakcija isparljivih jedinjenja u pokožicama grožđa, dok su primenom GC/FID-MS analize detektovana isparljiva jedinjenja. U pokožici grožđa sorte Krstač su identifikovani alkoholi: aktivni amil alkohol (2-metil-1-butanol), 1-heksanol, aldehidi: heksanal, (E) 2-heksenal, 3-metil butanal (izovaleraldehid), pentanal (valeraldehid) i terpen limonen. Za razliku od Krstača, u pokožici Žižka nisu identifikovani alkoholi.

Sazrevanje grožđa je fiziološki period koji traje 40 do 50 dana. Počinje sa šarkom i završava se kad grožđe postigne zrelost (Gómez et al., 1995; González-Barreiro et al., 2015). Period sazrevanja utiče na kvalitet grožđa i vina (Gómez et al., 1995), i zavisi od sorte grožđa, vinogradarske prakse i spoljašnjih faktora (Coelho et al., 2007). Grožđe može da pretrpi fizičke promene kao što su masa, zapremina i čvrstoća, i hemijske promene, aroma, boja, pH i kiselost (Gómez et al., 1995). Pokožica grožđa, pored zaštitne funkcije, igra ulogu u sintezi raznih aromatičnih i polifenolnih jedinjenja (González-Barreiro et al., 2015). Prema Williams et al. (1988), a koje su citirali Gómez et al. (1995), aromatični profil nearomatičnog grožđa je uglavnom sastavljen od C₆ aldehida i alkohola, nema karakterističnih jedinjenja ili grupa jedinjenja, uglavnom su nižih koncentracija, za razliku od sorti Muskata.

Aromatična jedinjenja su obično locirana u pokožici i pulpi (Lund et al., 2006). U pokožici grožđa, aromatična isparljiva jedinjenja su prisutna u slobodnom obliku, direktno su uključena u aromu, dok su vezani glikozidni oblici bez mirisa, i hidrolizom se mogu transformisati u isparljive mirisne oblike (Sánchez-Palomo, 2015). Garcia et al. (2003) zaključuju da tokom sazrevanja promene sadržaja isparljivih jedinjenja nisu bile ujednačene, i da se na osnovu sadržaja isparljivih jedinjenja nisu mogli utvrditi optimalni nivoi sazrevanja grožđa određenih sorti vinove loze.

Na osnovu rezultata prikazanih u tabeli 3 može se konstatovati, da je u pokožici prezrelog grožđa sorte Krstač detektovan amil alkohol (2-metil-1-butanol) u tragovima. Gómez et al. (1994) ističe da je važno prisustvo alifatičnih jedinjenja u nearomatičnim sortama. Jedini C₆ alkohol koji je detektovan u pokožici sorte Krstač je 1-heksanol. On se nalazi u uzorku koji je bio u fenofazi šarak i udeo ovog jedinjenja je bio 3,2 %, u odnosu na ukupan sadržaj isparljivih jedinjenja. Heksanol nastaje redukcijom odgovarajućih jedinjenja pod dejstvom alkohol dehidrogenaze (Garcia et al., 2003). C₆ aldehidi i alkoholi se formiraju iz linolne i linoleinske kiseline, uz prisustvo vazduha, a katalizovani su enzimima lipoksigenaze, alkohol dehidrogenaze i peroksidaze (Crouzet et al., 1999).

Može se konstatovati, da su u pokožici grožđa Krstač i Žižak, najzastupljeniji aldehidi heksanal i (E) 2-heksenal. Maksimalni procentualni udeo heksanala je bio 80,1 % i 75% u pokožici grožđa fenofaze šarak kod sorti Krstač i Žižak, respektivno. Može se zaključiti da se procentualni udeo heksanala snižavao sa sazrevanjem, i da je bio najniži u uzorcima grožđa Krstača i Žižka koji su bili prezreli. Gómez et al. (1995) navode da je maksimalna koncentracija isparljivih jedinjenja bila na početku sazrevanja. Prema Bayanove et al. (1987) i Crouzet (1986), koje su citirali Gómez et al. (1995), najviša koncentracija C₆ jedinjenja je bila na početku sazrevanja, kada je utvrđena najviša aktivnost lipoksigenaza.

Najniži sadržaj (E) 2-heksanala je utvrđen u fenofazi šarak 14,7 % i 22,3 %, sa sazrevanjem je rastao, i najviša vrednost je bila 31,7 % i 35,0 % kod uzoraka prezrelog grožđa Krstača i Žižka, respektivno. U Rizling grožđu sadržaj (E) 2-heksanala je rastao posle fenofaze šarak (Kalua i Boss, 2010). Porast koncentracije (E) 2-heksanala, mogao bi da se tumači većim dejstvom hidroperoksid liaze (Kalua i Boss, 2010). Pored toga, u grožđu nije detektovan Z-3-heksenal, pa se viši sadržaj (E)

2-heksenala, takođe može tumačiti izomerizacijom Z-3-heksenala u (E) 2-heksenal (Kalua i Boss, 2010).

Sadržaj pentanala je opadao sa sazrevanjem grožđa sorti Krstač i Žižak. Najviše vrednosti su utvrđene u pokožici grožđa (fenofaza šarak) i iznosile su 2,0 % i 2,3 %, respektivno, a najniže kod prezrelih uzoraka (tabela 3). Za razliku od pentanala, 3-metil butanal je imao najvišu vrednost kod prezrelog grožđa Krstača (0,65 %) i Žižka (0,7 %).

U pokožici grožđa sorte Krstač i Žižak je detektovan terpen limonen. D-limonen je detektovan u pokožici grožđa, koje je bilo u punoj zrelosti (0,3 % od ukupnog sadržaja isparljivih jedinjenja). Za sortu grožđa Krstača može se zaključiti, da se maksimalni sadržaj terpena postizao kada je grožđe bilo u fazi pune zrelosti. Generalno su tvrdnje istraživača, da su terpeni u većoj količini prisutni u bobici, u vreme kada su približne berbi, nego kada su bobice u fazi ranog razvoja (Ribéreau-Gayon et al., 2000b; Garcia et al., 2003; Palomo et al., 2007). Posle postizanja optimalnog nivoa šećera, sadržaj terpena se snižava (Ribéreau-Gayon et al., 2000b; Garcia et al., 2003). Lois et al. (2001) ističe da se D-limonen u isparljivom obliku pojavljuje ranije kod sorti grožđa Albarino, nego Louriera, dok su koncentracije bile slične na dan berbe. Za razliku od Krstača, u pokožici Žižka, D-limonen je detektovan u fenološkoj fazi šarak (0,4 %). Postoje istraživanja gde je sadržaj monoterpena najviši 20 dana nakon pojave šarka (Coelho et al., 2007).

Tabela 3. Sadržaj aromatičnih materija u pokožici grožđa sorti Krstač i Žižak

Jedinjenje	Krstač	Krstač	Krstač	Žižak	Žižak	Žižak
	(šarak)	(puna zrelost)	(prezrelost)	(šarak)	(puna zrelost)	(prezrelost)
	%	%	%	%	%	%
Aktivni Amil alkohol (2-Metil-1-Butanol)	-	-	t	-	-	-
1-Heksanol	3,2	-	-	-	-	-
3-Metil Butanal (Isovaleraldehid)	-	-	0,65	-	0,6	0,7
Pentanal (Valeraldehid)	2,0	0,9	t	2,3	0,5	0,2
Heksanal	80,1	71,7	67,6	75,0	70,3	64,2
(E) 2- Heksenal	14,7	27,1	31,7	22,3	28,6	35,0
D-Limonen	-	0,3	-	0,4	-	-

5.2. Količina aromatičnih jedinjenja u vinu dobijenom postupkom prefermentativne maceracije kljuka i primenom enzimskih preparata

U tabelama 4 i 5 prikazan je sadržaj aromatičnih jedinjenja u vinima sorti Krstač i Žižak, koja su dobijena prefermentativnom maceracijom kljuka u trajanju 4 h i 8 h, i primenom glikolitičkih enzima Lallzyme cuvé blanc i Lallzyme β (Lalemand, Kanada). U navedenim vinima gasnom hromatografijom su detektovani alkoholi (aromatični, alifatični i C₆ alkoholi), estri, acetati, laktoni i kiseline. Nakon izvršene GC/FID-MS analize u proizvedenim vinima ukupan sadržaj detektovanih aromatičnih jedinjenja u uzorcima Krstača je bio u rasponu od 159,3 do 180,0 mg/l, dok u vinu Žižka od 161,7 do 192,5 mg/l. Ove koncentracije ukupnih aromatičnih jedinjenja u vinima su bile slične onima koji su naveli Cabaroglu et al. (1997) i Selli et al. (2006a; 2006b), koristeći grožđe drugih sorti. U literaturi, kontrola i Emir vina (gde je primenjena maceracija kljuka) su sadržala 162,0 i 187,0 mg/l isparljivih jedinjenja (Cabaroglu et al., 1997), dok kontrola, 6 i 12 h Muskat Bornova vina (gde su primenjene 6 i 12 h maceracija kljuka) su imala 158, 168, i 172 mg/l isparljivih, respektivno (Selli et al, 2006a). Rocha et al. (2005) navodi da primenom enzima, sadržaj isparljivih jedinjenja u Maria Gomez i Bikal vinima je bio 199 i 188 mg/l, respektivno.

Statistička analiza u kojoj je primenjen t-test uparenih uzoraka (The paired samples T-test), pokazala je značajnu razliku u sadržaju svih aromatičnih jedinjenja ($p < 0,05$) između Krstač Ctrl i Krstač EB4h vina (Tabela 4), i Ctrl i CB4h vina proizvedenih od sorte Žižak (Tabela 5). Do sličnih zaključaka su došli Selli et al. (2006a). Prefermentativna maceracija kljuka (15°C , 6 i 12 h) je uticala na porast sadržaja ukupnih aromatskih komponenata u vinu, u poređenju sa kontrolnim vinima (Selli et al., 2006a).

U odnosu na kontrolu, koncentracije aromatičnih jedinjenja u vinima koja su dobijena primenom maceracije (K CB8h, Z CB8h, Z EB8h), nisu se pokazale statistički značajnim, iako su koncentracije bile znatno više. Ovi rezultati su bili u skladu sa onima koji su naveli Kechagia et al. (2008). Najviše koncentracije ukupnih aromatičnih materija imali su uzorci gde je maceracija trajala 8 sati i dodavan enzim Lallzyme cuveé blanc (K CB8h, Z CB8h). U literaturi, istraživači su ispitivali uticaj prefermentativne maceracije kljuka na sadržaj aromatičnih jedinjenja (Cabaroğlu et al., 1997; Cabaroğlu i Canbas, 2002; Selli et al., 2006a; Selli et al., 2006b; Maggu et al. 2007; Kechagia, 2008), u zavisnosti od sorte grožđa, temperature i trajanja maceracije. Selli et al. (2006b) navode da je vino koje je dobijeno primenom prefermentativne maceracije kljuka imalo znatno viši sadržaj isparljivih jedinjenja, nego kontrolno vino. Takođe, primenom maceracije u trajanju od 7 h na 15°C , Muskat Aleksandria vina su bila značajno obogaćena aromatičnim jedinjenjima (Cabaroğlu i Canbas, 2002). Tokom alkoholne fermentacije nastaju jedinjenja kao što su estri i alkoholi, pa se zbog toga značajno povećavaju isparljivi sastojci u vinu u odnosu na sok (Cabaroğlu et al., 1997). Primenjeni enzimski glikolitički preparati tokom maceracije cepaju glikozidne veze i na taj način povećavaju sadržaj slobodnog oblika različitih jedinjenja, potencijalno odgovornih za aromu vina (Cabaroğlu et al., 2003; Sánchez-Palomo et al., 2007). Upotreba enzimskog preparata u eksperimentu sa Bikal vinima, nije značajno uticala na viši sadržaj aromatičnih alkohola (Rocha et al. 2005).

Alkoholi: Među alkoholima, u vinima Krstač i Žižak najviše su bili zastupljeni viši alkoholi kao što su: izoamil alkohol, feniletil alkohol i izobutil alkohol. Ukupan detektovani sadržaj alkohola u K Ctrl iznosio je 153,3 mg/l (tabela 4), dok je u Z Ctrl 147,7 mg/l (tabela 5). Važno je istaći da su literaturni podaci ukazivali na više alkohole kao glavne sastojke Muskat Bornova vina (Selli et al., 2006a). Oko 84 % ukupnih slobodnih isparljivih materija u belim vinima su bili viši alkoholi, što ih je označilo kao najistaknutija jedinjenja (Selli et al., 2006b). U koncentracijama ispod 300 mg/l, viši alkoholi sigurno doprinose poželjnoj složenosti vina. Kada njihove koncentracije pređu 400 mg/l, fuzelni alkoholi se smatraju negativnim faktorom kvaliteta (Rapp i Versini, 1995). Primenom različitog vremena trajanja prefermentativne maceracije kljuka, ne postoji statistički značajna razlika u sadržaju alkohola ($p > 0,05$). Do sličnih istraživanja došli su Selli et al. (2006a), tj. da viši alkoholi uglavnom nisu zavisili od vremena kontakta sa pokožicom.

Sadržaj 2-feniletil alkohola u vinu Krstača kretao se od 40,8 do 50,7 mg/l, dok je u vinu Žižka bio u rasponu od 31,4 do 41,6 mg/l. Statistička analiza u kojoj je primenjena jednofaktorska analiza sa Tjukijevim post-hok testom je pokazala značajnu razliku u sadržaju 2-feniletil alkohola ($p < 0,05$) između Žižak Ctrl i Z CB8h, i Krstač Ctrl kada se uporedi sa K CB4h i K EB8h. U Albarino vinima koja nisu prošla kroz malolaktičku fermentaciju, koncentracija 2-feniletil alkohola je bila 20 mg/l (Falqué et al., 2008). Podaci iz literature sugerišu da feniletil alkohol doprinosi prijatnoj aromi vina koja podseća na ružu (Selli et al., 2006a; Kechagia et al., 2008).

Primenom maceracije (4h i 8 h) i glikolitičkih enzima, sadržaj 2-feniletil alkohola je bio viši u vinima sorti Žižak, dok kod sorte Krstač nije došlo do porasta njegovog sadržaja u svim vinima, u odnosu na kontrolu. Naše zaključke potkrepljuju podaci iz literature koji ukazuju da maceracija i/ili upotreba enzimskih preparata sa glikolitičkom aktivnosti stvaraju viši sadržaj slobodnog oblika feniletil alkohola (Armada et al., 2010). Primena enzimskog preparata u eksperimentu sa Bikal vinima nije značajno uticala na viši sadržaj aromatičnih alkohola (Rocha et al., 2005). Vina proizvedena primenom maceracije su imala značajno viši sadržaj feniletil i drugih fuzelnih alkohola (Kechagia et

al., 2008). Maceracija je značajno uticala na porast sadržaja ukupnih alkoholnih jedinjenja Muskat Aleksandria vina (Cabaroglu et al., 2002).

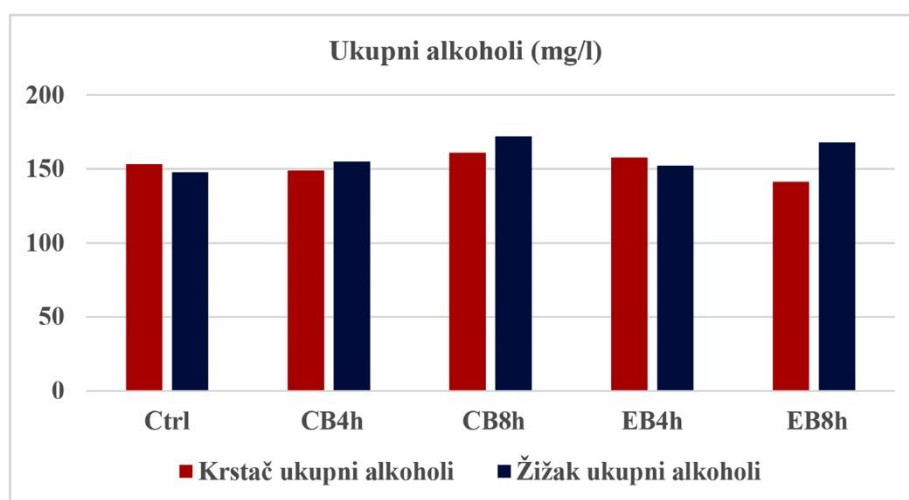
Važno je istaći da se veća sinteza alkohola uglavnom sprovodi Ehrlich-ovim mehanizmom. Primenom enzima Lallzyme beta i sa povećanjem trajanja maceracije kod vina Krstača, smanjio se sadržaj alkohola. Smanjenje sadržaja viših alkohola može se objasniti činjenicom da je blokada Ehrlich-ovog mehanizma rezultat višeg nivoa azotnih materija u vinifikacijama (Rapp i Versini, 1995; Sánchez-Palomo et al., 2007).

Koncentracije 2,3 butandiola u vinima Krstača i Žižka su bile niske i kretale su se u vinima Krstača od 0,10 do 0,14 mg/l (Tabela 4) a u vinima Žižka od 0,20 do 0,36 mg/l (Tabela 5). Ne postoji statistički značajna razlika u sadržaju 2,3 butandiola u Krstač i Žižak vinima ($p > 0,05$).

Vina Krstača i Žižka koja su dobijena dodavanjem različitih enzimskih preparata (cuveé blanc, β -enzim) i maceracija u trajanju 8 h imala su statistički značajno viši sadržaj izoamil i izobutil alkohola ($p < 0,05$), u poređenju sa kontrolnim vinima (osim K EB 8h za izoamil alkohol). Koncentracija izoamil alkohola je bila 91,2 mg/l u uzorku vina K Ctrl, što je u saglasnosti sa istraživanjima Selli et al. (2006a).

Gasnom hromatografijom u vinima je detektovano jedinjenje koje pripada C_6 jedinjenjima, 1-heksanol. Jedinjenja sa 6 atoma ugljenika mogu se formirati tokom prefermentativne faze iz masnih kiselina prisutnih u grožđu (Armada et al., 2010). Značajno povećanje C_6 alkohola je rezultat procesa maceracije koja obezbeđuje više masnih kiselina i enzima lipoksigenaze tokom fermentacije (Cabaroglu et al., 1997; Kechagia et al., 2008, Armada et al., 2010). Njihovo formiranje takođe je zavisilo od dostupnosti kiseonika kojeg zahteva lipooksigenaza (Cabaroglu et al., 1997). Rezultati suprotni onima dobijenim u ovoj studiji su bila istraživanja Cabaroglu et al. (1997) i Kechagia et al. (2008). C_6 alkoholi su odgovorni za zeljaste i lisnate note, koji kada se nađu u višim koncentracijama su nepovoljni za senzorne karakteristike vina (Selli et al., 2006a; Cabaroglu et al., 1997).

U vinima Krstača, sadržaj 1-heksanola se kretao od 0,39 do 0,58 mg/l, dok u vinima Žižka od 0,39 do 0,73 mg/l, respektivno. Maceracija u trajanju 8 h i upotreba enzimskog preparata Lallzyme β rezultirali su višim sadržajem 1-heksanola u vinu Žižka, u poređenju sa Z CB8h ($p < 0,05$). Najviši sadržaj ukupnih alkohola su imali uzorci vina Krstača i Žižka gde je primenjena prefermentativna maceracija kljuka u trajanju 8 sati, i gde je dodavan Lallzyme cuveé blanc. Sadržaj ukupnih alkohola u vinima Krstač i Žižak (primena maceracija i glikolitičkih enzima) su prikazani na grafiku 2.



Grafik 2. Sadržaj ukupnih alkohola (mg/l) u vinima Krstača i Žižka

Estri: Estri su veoma važna jedinjenja i vinu daju voćni miris (etil butanoat – ananas, izoamil acetat – banana, etil heksanoat – zrela banana, 2-feniletal acetat – voćni, ruža) (Selli et al., 2006a; Kechagia et al., 2008). Važno je istaći da su najviše koncentracije etil butirata, etil heksanoata, dietil sukcinata, etil hidrogen sukcinata bile utvrđene u vinima proizvedenih od obe sorte. Značajne koncentracije etil oktanoata i etil 4-hidroksibutanoata su bile detektovane u Žižak vinima.

Na osnovu t-testa uparenih uzoraka utvrđen je statistički značajan porast etil estara, acetata i laktona ($p < 0,05$) u vinu Krstača (K CB8h), u odnosu na K CB4h i K EB8h. Kod sorte Žižak, primenom prefermentativne maceracije kljuka u trajanju 4h i 8 h i glikolitičkog enzima Lallzyme cuveé blanc (Z CB4h, Z CB8h), i prefermentativne maceracije kljuka u trajanju 4h i enzima Lallzyme beta (Z EB4h), postoji statistički značajan porast sadržaja etil estara, acetata i laktona ($p < 0,05$), u odnosu na kontrolu (Z Ctrl). Slične zaključke za estre su naveli Cabaroglu i Canbas (2002), Selli et al. (2006a) i Sánchez-Palomo et al. (2007), koristeći grožđe drugih sorti. Međutim, suprotno našim rezultatima bili su zaključci Kechagia et al. (2008), gde je utvrđeno da je sadržaj ukupnih etilnih estara bio viši za vino kontrole, u odnosu na vino dobijeno primenom maceracije.

Primenom jednofaktorske Anova analize utvrđeno je da su maceracija (4 h, 8 h) i enzimski preparati uticali na statistički značajan porast koncentracija etil butirata, etil heksanoata, etil hidrogen sukcinata, izoamil acetata i feniletal acetata u svim vinima Krstača ($p < 0,05$), dok je došlo do smanjenja sadržaja etil laktata i γ -butirolaktona (osim K CB8h za etil laktat i K EB4h za γ -butirolakton). Prema literarnim podacima, primenom prefermentativne maceracije kljuka došlo je do porasta sadržaja etil heksanoata (Cabaroglu i Canbas, 2002; Selli et al. 2006a), etil butanoata, 2-feniletal acetata (Cabaroglu i Canbas, 2002), etil oktanoata, dietil sukcinata i izoamil acetata (Selli et al. 2006a). Naši rezultati su u saglasnosti sa zaključcima gde je istaknuto snižavanje koncentracija etil laktata (Sánchez-Palomo *et al.*, 2007) i γ -butirolaktona (Selli et al. 2006a; Selli et al., 2006b).

U svim vinima Krstača i Žižka prisutne su koncentracije heksil acetata, etil 9-decenoata i 3-etoksi-1-propanola u tragovima. Maceracija je uticala na porast sadržaja heksil acetata u Albillo vinima (Sánchez-Palomo et al., 2007) i snižavanje koncentracija 3-etoksi-1-propanola u Bornova Muskat vinima (Selli et al. 2006a). Dodavanje glikolitičkih enzimskih preparata je dovelo do porasta sadržaja 3-etoksi-1-propanola u vinima (Rocha et al., 2005). Najveći uticaj na sadržaj 3-etoksi-1-propanola imao je soj kvasca koji se koristio tokom alkoholne fermentacije (Antonelli et al., 1999). C₆ alkoholi i C₆ aldehidi su prekursori heksil acetata (Dennis et al., 2012). U literaturi, na osnovu proučavanja Šardone vina, koncentracije heksil acetata su varirale između 0,020 i 0,068 mg/l (Selli et al., 2006a; Sánchez-Palomo et al., 2007), etil 9-decenoata 0,020 mg/l (Li et al., 2008) i 3-etoksi-1-propanola 0,099 mg/l (Selli et al., 2006a), što je u skladu sa našim istraživanjima.

Izoamil acetat je najzastupljeniji acetat u vinima Krstača i Žižka. Koncentracija izoamil acetata je bila niža u uzorku vina K Ctrl (0,27 mg/l) u odnosu na njegovu koncentraciju u vinu Z Ctrl (0,69 mg/l), i ove vrednosti su slične onima koji su naveli Falqué et al. (2002). Više koncentracije izoamil acetata su bile odgovorne za „banana“ nijansu vina (Armada et al., 2010). Pored njega, u vinima Krstača i Žižka, značajni acetati su 2-feniletal acetat i 1,3-propandiol diacetat. Vina Žižka koja su proizvedena dodavanjem enzimskog preparata Lallzyme β i maceracije u trajanju 4 h, imala su statistički značajno viši sadržaj 1,3 propandiol diacetata ($p < 0,05$), u odnosu na vino proizvedeno istim enzimskim preparatom i produženim trajanjem maceracije (8 h).

U vinima Krstača koncentracija 2-feniletal acetata je bila od 0,16 do 0,30 mg/l, dok u vinima Žižka od 0,13 do 0,29 mg/l. U kontroli i Muskat Aleksandria vinu, dobijenih primenom maceracije, bile su detektovane slične koncentracije ovog jedinjenja (Cabaroglu i Canbas, 2002). Sadržaj 2-feniletal acetata je bio oko 0,26-0,30 mg/l u Loureira vinima (Falqué et al., 2002). U vinima Krstača koncentracija dietil sukcinata je bila u opsegu od 0,68 mg/l do 1,07 mg/l, dok u vinu Žižka od 0,45 do 0,96 mg/l, što je u skladu sa rezultatima Falqué et al. (2008). U Albarino vinima, dietil sukcinat je

imao različite koncentracije koje su bile u rasponu od 0,363 do 1,377 mg/l (Falqué et al., 2008). γ -butirolakton je jedini lakton i koncentracije su bile više u vinima Krstača, u odnosu na vina Žižka.

Tabela 4. Rezultati jednofaktorske ANOVA analize zajedno sa Tjukijevim post-hok testom aromatičnih jedinjenja (mg/l) u Krstač vinima, dobijenih primenom maceracije (4 h, 8 h, 5°C) i glikolitičkih enzimskih preparata Lallzyme cuveé blanc i Lallzyme β .

Jedinjenja	K Ctrl	K CB4h	K CB8h	K EB4h ^{a*}	K EB8h	F	p
1-Heksanol	0,57 a	0,54 a	0,39 b	0,58 a	0,48 ab	12,4	0,001
Izobutil alkohol	2,45 b	3,62 a	4,03 a	3,88 a	3,97 a	29,3	0,000
Izoamil alkohol	91,19 bc	94,42 ab	99,14 a	94,32 abc	87,61 c	8,8	0,003
4-Metil-1-Pentanol	8,13	8,13	8,13	8,13	8,13		
3-Etoksi-1-Propanol	t	t	t	t	t		
2,3 Butandiol	t	t	0,12	0,14	0,10	1,7	0,259
3-(Metiltio)-1-Propanol	0,22 b	0,22 b	0,25 ab	0,27 a	0,21 b	6,5	0,008
2-Feniletil alkohol	50,69 a	41,94 b	48,82 a	50,38 a	40,83 b	11,4	0,001
Ukupni alkoholi	153,25	148,87	160,87	157,69	141,33		
Heksanska kiselina	1,98 b	2,52 ab	2,76 a	2,73 a	3,08 a	6,5	0,008
Oktanska kiselina	4,20 c	4,73 bc	5,56 a	5,34 ab	5,65 a	15,4	0,000
Dekanska kiselina	0,87 a	0,58 b	0,59 b	0,64 b	0,50 b	19,2	0,000
Izobuterna kiselina	t	0,24	t	0,25	0,26	0,2	0,863
9-Decenska kiselina	1,30 a	0,56 b	0,51 b	0,64 b	t	8,7	0,007
Ukupne kiseline	8,35	8,63	9,42	9,59	9,49		
Etil butirat	0,89 c	1,12 b	1,35 a	1,22 ab	1,21 ab	20,7	0,000
Etil heksanoat	0,19 c	0,31 b	0,30 b	0,30 b	0,41 a	26,8	0,000
Etil (S)-(-) laktat	0,98 a	0,68 bc	0,89 ab	0,74 bc	0,64 c	9,7	0,002
Etil oktanoat	t	0,16	0,20	0,18	0,25	2,1	0,178
Etil dekanat	t	0,19	0,17	t	t	1,7	0,267
Dietil sukcinat	0,68 b	1,01 ab	1,07 a	1,07 a	1,00 ab	4,5	0,024
Etil 9-decenoat	t	t	t	t	t		
Etil 4-hidroksibutanoat	t	t	t	t	t		
Dietil hidroksibutandioat	t	t	t	t	t		
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	t	0,18	0,22	t	t	0,6	0,482
Etil hidrogen sukcinat	2,20 b	3,12 a	3,40 a	3,18 a	3,01 a	9,1	0,002
Izoamil acetat	0,27 b	0,61 a	0,69 a	0,66 a	0,60 a	6,1	0,009
Heksil acetat	t	t	t	t	t		
1,3-Propandiol diacetat	0,14 c	0,15 c	0,19 ab	0,21 a	0,17 bc	19,7	0,000
2-Feniletil acetat	0,16 b	0,25 a	0,30 a	0,28 a	0,26 a	8,9	0,002
γ -Butirolakton	1,44 a	0,78 c	0,93 bc	1,21 ab	0,96 bc	12,3	0,001
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	6,94	8,56	9,72	9,05	8,51		
Ukupna aromatična jedinjenja	168,54	166,06	180,01	176,33	159,33		

a*-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u sadržaju svih detektovanih aromatičnih jedinjenja kada se uporede sa K Ctrl.

Koncentracije jedinjenja su srednje vrednosti ($n=3$), praćene različitim malim slovima (a, b, c), koja ukazuju na značajne razlike između tretmana na nivou od 5 %.

Skraćenice: kontrola-Ctrl. maceracija 4 h Lallzyme cuveé blanc-CB4h. maceracija 8 h Lallzyme cuveé blanc-CB8h. maceracija 4 h Lallzyme enzimski preparat β -EB4h. maceracija 8 h Lallzyme enzimski preparat β -EB8h. jedinjenja u tragovima (t).

Tabela 5. Rezultati jednofaktorske ANOVA analize zajedno sa Tjukijevim post-hok testom aromatičnih jedinjenja (mg/l) u Žižak vinima, dobijenih primenom maceracije (4 h, 8 h, 5°C) i glikolitičkih enzimskih preparata Lallzyme cuveé blanc i Lallzyme β.

Jedinjenja	Z Ctrl	Z CB4h ^{a*}	Z CB8h	Z EB4h	Z EB8h	F	p
1-Heksanol	0,62 a	0,53 ab	0,39 b	0,68 a	0,73 a	8,49	0,003
Izobutil alkohol	5,00 c	5,58 b	6,15 a	5,20 bc	5,58 b	20,77	0,000
Izoamil alkohol	102,17 b	102,82 b	115,21 a	96,51 b	112,81 a	23,50	0,000
4-Metil-1-Pentanol	8,13	8,13	8,13	8,13	8,13		
3-Etoksi-1-Propanol	t	t	t	t	t		
2,3 Butandiol	0,20	0,36	0,33	0,30	t	0,92	0,474
3-(Metiltio)-1-Propanol	0,24 ab	0,15 b	0,25 ab	0,26 ab	0,29 a	4,71	0,041
2-Feniletil alkohol	31,37 b	37,46 ab	41,58 a	41,09 ab	40,41 ab	3,79	0,040
Ukupni alkoholi	147,73	155,03	172,04	152,17	167,94		
Heksanska kiselina	1,94 b	3,54 a	3,12 a	3,40 a	2,92 a	15,91	0,000
Oktanska kiselina	3,53 b	6,97 a	6,21 a	6,74 a	5,59 a	3,74	0,021
Dekanska kiselina	0,57	0,86	0,83	1,07	1,06	2,59	0,102
Izobuterna kiselina	0,34 ab	0,31 bc	0,38 a	0,36 ab	0,26 c	17,41	0,000
9-Decenska kiselina	0,25 b	1,07 a	0,40 b	0,98 a	0,95 a	6,23	0,009
Ukupne kiseline	6,63	12,75	11,23	12,55	10,78		
Etil butirat	1,40 b	1,96 a	1,43 b	1,97 a	1,61 ab	11,34	0,001
Etil heksanoat	0,41 c	0,51 a	0,44 bc	0,50 ab	0,45 c	11,53	0,001
Etil (S)-(-) laktat	0,26 ab	0,15 b	0,19 ab	0,23 ab	0,32 a	3,62	0,045
Etil oktanoat	0,19 b	0,25 a	0,22 ab	0,22 ab	0,26 ab	4,85	0,020
Etil dekanat	t	0,20	t	t	0,12	1,13	0,348
Dietil sukcinat	0,45 b	0,84 a	0,96 a	0,85 a	0,74 a	10,11	0,002
Etil 9-decenoat	t	t	t	t	t		
Etil 4-hidroksibutanoat	1,21 c	1,43 b	1,30 bc	1,69 a	1,41 b	33,62	0,000
Dietil hidroksibutandioat	0,10 bc	0,08 bc	0,06 c	0,11 b	0,21 a	26,29	0,000
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	t	t	t	t	t		
Etil hidrogen sukcinat	1,63 a	2,29 a	2,33 a	2,23 a	0,54 b	4,18	0,030
Izoamil acetat	0,69	0,71	1,13	0,79	0,83	2,72	0,091
Heksil acetat	t	t	t	t	t		
1,3-Propaniol diacetat	0,23 ab	0,28 a	0,23 ab	0,28 a	0,23 b	3,53	0,048
2-Feniletil acetat	0,13 b	0,18 b	0,29 a	0,21 ab	0,17 b	6,85	0,006
γ-Butirolakton	0,65	0,63	0,64	0,74	0,82	3,30	0,057
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	7,36	9,51	9,22	9,83	7,71		
Ukupna aromatična jedinjenja	161,72	177,29	192,49	174,55	186,43		

a*-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u sadržaju svih detektovanih aromatičnih jedinjenja kada se uporede sa Z Ctrl.

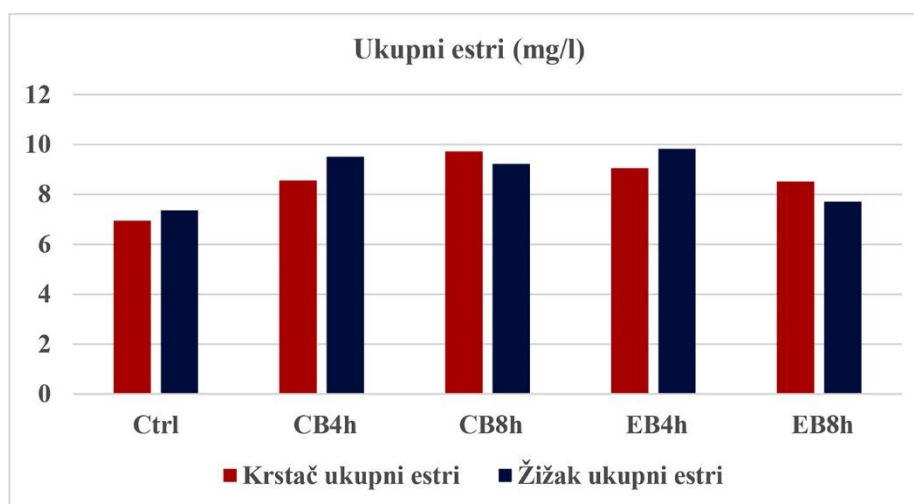
Koncentracije jedinjenja su srednje vrednosti ($n=3$), praćene različitim malim slovima (a, b, c), koja ukazuju na značajne razlike između tretmana na nivou od 5 %.

Skraćenice: kontrola-Ctrl. maceracija 4 h Lallzyme cuveé blanc-CB4h. maceracija 8 h Lallzyme cuveé blanc-CB8h. maceracija 4 h Lallzyme enzimski preparat β-EB4h. maceracija 8 h Lallzyme enzimski preparat β-EB8h. jedinjenja u tragovima (t).

Maceracija 4 h i upotreba enzimskog preparata cuveé blanc rezultirali su višim sadržajem etil oktanoata u vinu Žižka ($p < 0,05$), u poređenju sa vinom Žižak Ctrl.

Dietil hidroksibutandioat (dietil malat) i etil 4-hidroksibutanoat su prisutni u Žižak vinima, dok se njihove koncentracije nalaze u tragovima u Krstač vinima (Tabele 4 i 5). Prekursor dietil hidroksibutanoata je jabučna kiselina (Khvalbota et al., 2021). Korelacija dietil hidroksibutandioata i njegovog prekursora ukazuje na potencijalni razlog za različiti sadržaj ovog jedinjenja u sortama Krstač i Žižak. Vinifikacija sa primenom maceracije u trajanju 8 h i upotreba enzimskog preparata Lallzyme β su uticale na porast sadržaja dietil hidroksibutandioata ($p < 0,05$), kada se uporedi sa vinima Z CB 8h i Z EB4h. Koncentracija je znatno viša u vinima dobijenih maceracijom (Z EB8h) nego u kontrolnom vinu ($p < 0,05$), što je u saglasnosti sa podacima iz literature (Cabaroglu i Canbas, 2002).

Veći sadržaj etil 4-hidroksibutanoata u Žižak vinima u poređenju sa vinima Krstač, moglo bi se tumačiti kao rezultat više koncentracije glutaminske kiseline u groždanom soku sorte Žižak. Etil 4-hidroksibutanoat se sintetiše iz glutaminske kiseline preko 4-hidroksibutanske (Antonelli et al., 1999; Dufossé et al., 1994). Primenom Tjukijevoog post-hok testa utvrđena je najviša statistički značajna razlika u sadržaju etil 4-hidroksibutanoata između Z CB4h i Z EB4h. Koncentracije estara, acetata i laktona su najviše u uzorcima K CB8h i Z EB4h (Grafik 3).



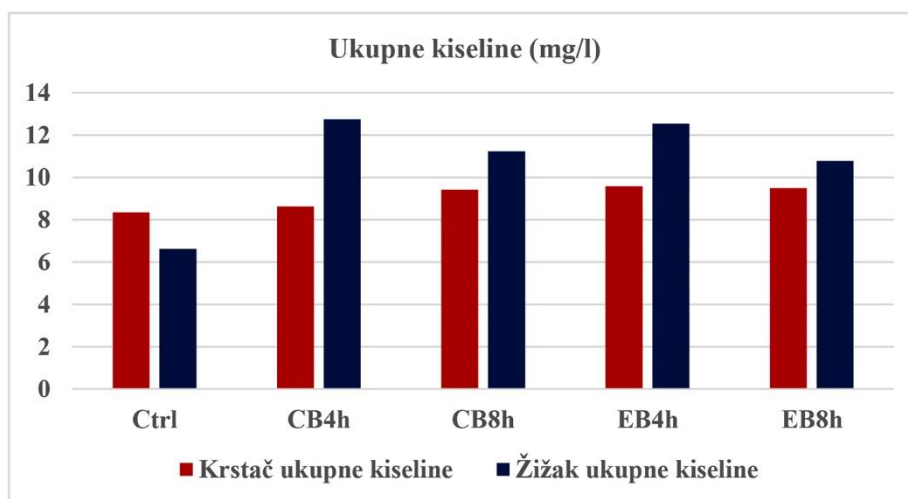
Grafik 3. Sadržaj ukupnih estara (mg/l) u vinima Krstača i Žižka (maceracija i enzimi)

Kiseline: U vinima Krstač i Žižak, koja su dobijena prefermentativnom maceracijom kljuka i dodavanjem glikolitičkih enzima, najdominantnije kiseline su bile heksanska, oktanska, dekanska i 9-decenska kiselina. U vinu kontrole Krstača, sadržaj ovih kiselina je bio 1,98 mg/l, 4,20 mg/l, 0,87 mg/l i 1,30 mg/l, respektivno, i u vinu kontrole Žižka 1,94 mg/l, 3,53 mg/l, 0,57 mg/l i 0,25 mg/l, respektivno. Naši rezultati su u skladu sa literaturnim podacima koji naglašavaju prosečan sadržaj masnih kiselina sa 6 (3,7 mg/l), 8 (3,3 mg/l) i 10 (0,8 mg/l) atoma ugljenika (Falqué et al., 2008). Falqué et al. (2002) su objavili u drugoj studiji skoro slične vrednosti za sadržaj heksanske, oktanske i dekanske kiseline.

Vina Krstača dobijena primenjenom prefermentativnom maceracijom (4h i 8h) i upotrebom enzimskog preparata glikozidaze, pokazala su viši sadržaj heksanske i oktanske kiseline (Tabela 4). Vina dobijena od sorte Žižak, istim postupkom vinifikacije, obogaćena su heksanskom, oktanskom i dekanskom kiselinom (tabela 5). Na osnovu Tjukijevoog testa (Tukey post-hoc test), utvrđena je statistički značajna razlika u sadržaju heksanske i oktanske kiseline ($p < 0,05$), između kontrolnih uzoraka (K Ctrl, Z Ctrl) i svih drugih Krstač i Žižak vina dobijenih primenom maceracije (osim

K CB4h za heksansku i oktansku kiselinu). U Emir i Muskat Bornova vinima, koja su dobijena maceracijom, povećan je sadržaj masnih kiselina (Cabarouglu et al., 1997; Selli et al., 2006a). Primenom t-testa uparenih uzoraka, utvrđena je statistički značajna razlika u sadržaju kiselina ($p < 0,05$), između uzoraka vina Z EB4h i Z CB8h.

Albariño vina proizvedena upotrebom enzimskog preparata tokom maceracije imala su skoro dvostruku koncentraciju heksanske i oktanske kiseline, u odnosu na druge uzorke (Armada et al., 2010). Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim zaključcima za vina Žižka (gde su primenjene maceracije). Koncentracija kiselina je viša u vinima Žižka u poređenju sa vinima Krstača gde su primenjene maceracije (Grafik 4).



Grafik 4. Sadržaj ukupnih kiselina (mg/l) u vinima Krstača i Žižka (maceracija i enzimi)

5.3. Količina aromatičnih jedinjenja u vinu dobijenom pri rastućim pritiscima ceđenja kljuka i različitim vremenom prečišćavanja šire taloženjem

Uticaji pritiska i različitog vremena taloženja šire na aromatični sastav šire i vina, nisu dovoljno istraživani kod proizvodnje belih vina. U našim istraživanjima smo pratili promene sadržaja aromatičnih jedinjenja u vinima proizvedenim od sorti Krstač i Žižak. Nakon izvršene GC/FID-MS analize, koncentracije ukupnih detektovanih jedinjenja u vinima K sam i Z sam su iznosile 224,3 mg/l i 211,1 mg/l, respektivno, dok u vinima K pres i Z pres, 146,5 mg/l i 199,6 mg/l, respektivno (Tabela 6). Sadržaj ukupnih aromatičnih jedinjenja je bio viši u vinima dobijenim fermentacijom samotoka (K sam, Z sam), u poređenju sa vinima dobijenih primenom pritiska tokom presovanja kljuka (K pres i Z pres). Važan parametar koji određuje sastav šire za proizvodnju vina je visina pritiska tokom presovanja (Maggu et al., 2007). U literaturi se ističe, da se sa presovanjem smanjuje kvalitet šire za proizvodnju vina, dolazi do povećanja ukupnih fenolnih jedinjenja, posmeđivanja i porasta sadržaja C₆ jedinjenja (Selli et al., 2011).

U našem eksperimentu, gde smo ispitivali uticaj različitog vremena statičkog taloženja (10 h, 20 h, 30 h) na aromu vina, najviši sadržaj ukupnih aromatičnih jedinjenja imali su uzorci Krstača K 30 (174,4 mg/l) i Žižka Z 10 i Z 30 (197,8 mg/l, 197,3 mg/l), respektivno (Tabela 7). Taloženje šire je važan proces tokom proizvodnje belih vina i ima veliki uticaj na njihov kvalitet i stabilnost (Burin et al., 2015). Statičko gravitaciono taloženje na niskoj temperaturi se često primenjuje za uklanjanje čvrstih materija iz šire belog grožđa, i ima povoljan uticaj na organoleptičke karakteristike vina (Burin et al., 2015).

Primenom rastućeg pritiska ne beleži se statistički značajna razlika u sadržaju aromatičnih jedinjenja ($p > 0,05$), između K sam, Z sam i K pres, Z pres vina. Primenom prefermentativnog

taloženja šire u trajanju 10 i 30 sati, kao i 20 i 30 sati, beleži se statistički značajna razlika u sadržaju svih aromatičnih jedinjenja vina Krstača ($p < 0,05$). Pored toga, postoji statistički značajna razlika u sadržaju svih aromatičnih jedinjenja vina Žižka primenom taloženja u trajanju 20 sati ($p < 0,05$), u odnosu na kontrolu.

Alkoholi: Nakon izvršene gasno-hromatografske analize utvrđeno je da su koncentracije ukupnih alkohola u vinima Krstača i Žižka iznosile 207,4 mg/l i 189,9 mg/l (K sam, Z sam), respektivno, dok u vinima dobijenih primenom presovanja kljuka su 115,1 mg/l i 179,1 mg/l (Tabela 6). Koncentracije ukupnih alkohola su bile više u vinima dobijenim fermentacijom samotoka. Primenom presovanja, koncentracije 1-heksanola su bile više u Krstač i Žižak vinima (Tabela 6), kada se uporede sa K sam i Z sam, što je u saglasnosti sa rezultatima Selli et al. (2011) za C₆ alkohole u Emir soku. C₆ jedinjenja nastaju tokom prefermentativnih faza kao što su berba, muljanje, presovanje, kao i tokom maceracije (Oliveira et al., 2006).

U vinu Krstača, gdje je primenjen pritisak 1,8 bara (K pres), sadržaj 1-heksanola je bio 5,5 puta viši, dok u vinu Žižka (Z pres) 7 puta, u poređenju sa K sam i Z sam vinima. Ovi rezultati su u saglasnosti sa istraživanjima Selli et al. (2011) koji navode da je sadržaj 1-heksanola viši u presovanom soku, u odnosu na sok koji je dekantiran (bez presovanja). Pored toga, u vinu Krstača (K pres), sadržaj 2-feniletil alkohola je niži 4,1 puta, u vinu Žižka 1,6 puta, u odnosu na K sam i Z sam vina. 2-feniletil alkohol je derivat metabolizma fenilpropanoide u grožđu, ali ga uglavnom stvara kvasac tokom fermentacije iz nekoliko prekursora grožđa (Selli et al., 2011). Primenom pritiska od 1,8 bara, koncentracije izobutil alkohola su više u vinima Krstača i Žižka, u odnosu na vina gde tokom proizvodnje nije primenjeno presovanje.

U našim istraživanjima pratili smo uticaj različitog vremena taloženja (10 h, 20 h, 30 h) na sadržaj aromatičnih jedinjenja u vinima Krstač i Žižak. Primenom prefermentativnog taloženja šire u trajanju 10, 20 i 30 sati, nije se utvrdila statistički značajna razlika u sadržaju svih alkohola ($p > 0,05$). Primećeno je da između uzoraka vina Z 20 i Z 30, nema neke razlike u sadržaju 1-heksanola, što je u skladu sa istraživanjima Losada et al. (2011) koji su istraživali uticaj dva različita vremena taloženja (24 h, 36 h) na sadržaj C₆ alkohola. Značajno prisustvo prekursora masnih kiselina, podrazumeva visoku koncentraciju 1-heksanola (Ferreira et al., 1995). Gubitak prekursora C₆ jedinjenja se u velikoj meri dešava u početnim fazama taloženja (Losada et al., 2011), pa zbog toga nema nekih većih razlika u sadržaju 1-heksanola sa primenom statičkog taloženja u trajanju 20 i 30 sati (Tabela 7). Vina Krstača i Žižka koja su proizvedena od šira koja su se taložila 30 h, imala su viši sadržaj izoamil alkohola, izobutil alkohola i feniletil alkohola, u odnosu na K 20 i Z 20 vina, što je u saglasnosti sa istraživanjima Losada et al. (2011).

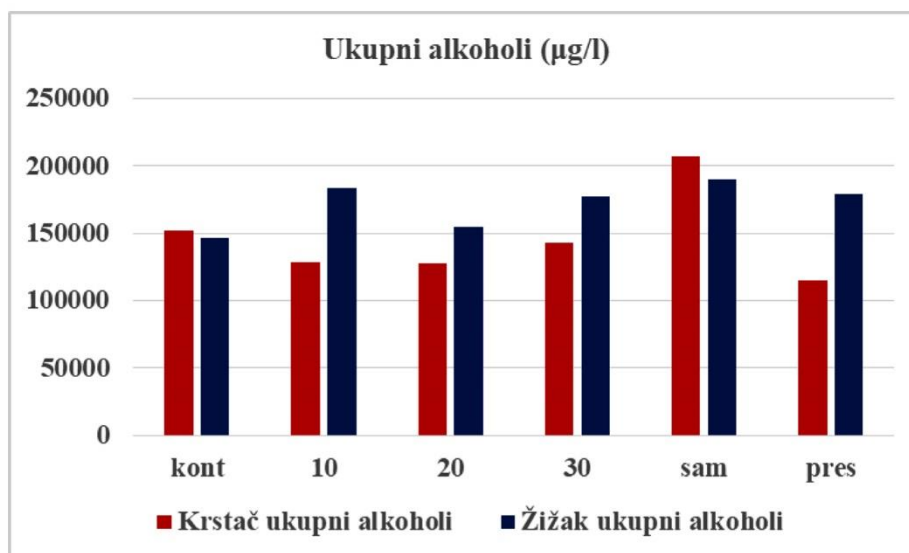
Vina Krstača koja su proizvedena od šira koja su se taložila 30 sati, imala su viši sadržaj izobutil alkohola, izoamil alkohola, 3-etoksi-1-propanola i 2,3 butandiola i niži sadržaj 1-heksanola, u poređenju sa vinima proizvedenim od šira koja su se taložila 10 sati, što je u saglasnosti sa istraživanjima vina drugih sorti grožđa (Burin et al., 2015). Burin et al. (2015) su istakli u svojim studijama, da uticaj vremena taloženja na sadržaj viših alkohola i 1-heksanola u velikoj meri je zavisio od sadržaja nerastvorljivih čvrstih supstanci šire. U literaturi se navodi da šire koji su izbistrene taloženjem i imaju viši sadržaj čvrste komponente, imaju tendenciju da proizvode više koncentracije izoamil alkohola (Ferrando et al., 1998).

U vinima Krstača koncentracije 3-(metiltio)-1-propanola su bile u tragovima, dok u vinima Žižka proizvedenih od šira koja su taložena 30 i 10 sati, koncentracije su bile slične. Koncentracija 2-feniletil alkohola u vinima Žižka (Z 30) je viša, u odnosu na vina gde je primenjeno taloženje 10 h. Sadržaj ukupnih alkohola je najviši u uzorcima vina Krstača (K kont i K 30) i Žižka (Z 10 i Z 30) (Grafik 5).

Tabela 6. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Krstača i Žižka, dobijenih primenom pritiska (0; 1,8 bara) prilikom presovanja

Jedinjenja	K sam	K pres	Z sam	Z pres
1-Heksanol	801,1	4389,7	387,5	2699,8
3-Heksen-1-ol	nd	nd	nd	nd
Izobutil alkohol	5283,9	5467,8	6594,7	9401,7
Izoamil alkohol	126399,9	80702,6	130106,0	132283,0
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	t	186,1	t	nd
2,3 Butandiol	t	104,7	2206,2	nd
3-(Metiltio)-1-Propanol	375,0	t	141,1	397,7
2-Feniletil alkohol	66465,8	16077,2	42312,7	26213,8
Ukupni alkoholi	207455,7	115058,1	189878,2	179126,0
Etil butirat	1074,9	7798,3	1759,2	1968,6
Etil heksanoat	250,2	640,1	504,1	509,2
Etil 3-heksenoat	nd	nd	nd	nd
Etil (S)-(-) laktat	1019,1	1506,3	214,7	3193,6
Etil oktanoat	145,6	203,9	248,3	261,9
Etil 3-hidroksibutirat	nd	nd	nd	nd
Etil dekanat	134,6	128,2	224,9	124,9
Dietil sukcinat	832,8	411,7	844,2	932,9
Etil 9-decenoat	nd	nd	t	nd
Etil 4-hidroksibutanoat	955,0	623,1	1452,1	2461,9
Dietil hidroksibutandioat	269,0	36,3	47,8	239,9
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	nd	nd	nd	nd
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	nd	t	t	nd
Etil hidrogen sukcinat	1547,9	859,9	802,8	nd
Izoamil acetat	702,0	2443,3	1320,0	727,5
Heksil acetat	t	313,1	t	nd
1,3-Propandiol diacetat	201,4	504,0	219,6	391,4
2-Feniletil acetat	368,6	221,5	215,7	nd
γ -Butirolakton	1314,4	891,9	846,4	2033,5
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	8815,5	16581,6	8699,8	12845,3
Heksanska kiselina	2246,7	4502,9	3658,6	2757,7
Oktanska kiselina	4261,2	8275,8	6476,4	4448,3
Dekanska kiselina	560,1	1629,8	870,4	424,0
Izobuterna kiselina	nd	275,8	665,5	nd
9-Decenska kiselina	973,0	205,2	872,9	nd
Ukupne kiseline	8041,0	14889,5	12543,8	7630,0
Ukupna aromatična jedinjenja	224312,2	146529,2	211121,8	199601,3

Skraćenice: Krstač i Žižak vino [samotok ($p=0$ bar) (K sam, Z sam), pritisak $p=1,8$ bar (K pres, Z pres), koncentracija jedinjenja u trgovima (t), nije detektovano (nd).



Grafik 5. Sadržaj ukupnih alkohola ($\mu\text{g/l}$) u vinima Krstača i Žižka (različito vreme statičkog taloženja šire, različiti pritisci prilikom presovanja kljuka)

Estri: Primenom različitog pritiska ($p=0$, $p=1,8$ bar) prilikom presovanja kljuka sorte Krstač i Žižak, ne beleži se statistički značajna razlika u sadržaju etil estara, acetata i laktona ($p > 0,05$). Sadržaj ukupnih estara je bio viši u vinima K pres i Z pres i iznosio je $16,6 \text{ mg/l}$ i $12,8 \text{ mg/l}$, dok u vinima K sam i Z sam je bio $8,8 \text{ mg/l}$ i $8,7 \text{ mg/l}$, respektivno (Tabela 6). Vina Krstača i Žižka koja su proizvedena fermentacijom šire dobijenom presovanjem kljuka ($p = 1,8$ bar), imala su viši sadržaj etil butirata, etil heksanoata, etil laktata, etil oktanoata, 1,3 propandiol diacetata, u odnosu na vina K sam i Z sam.

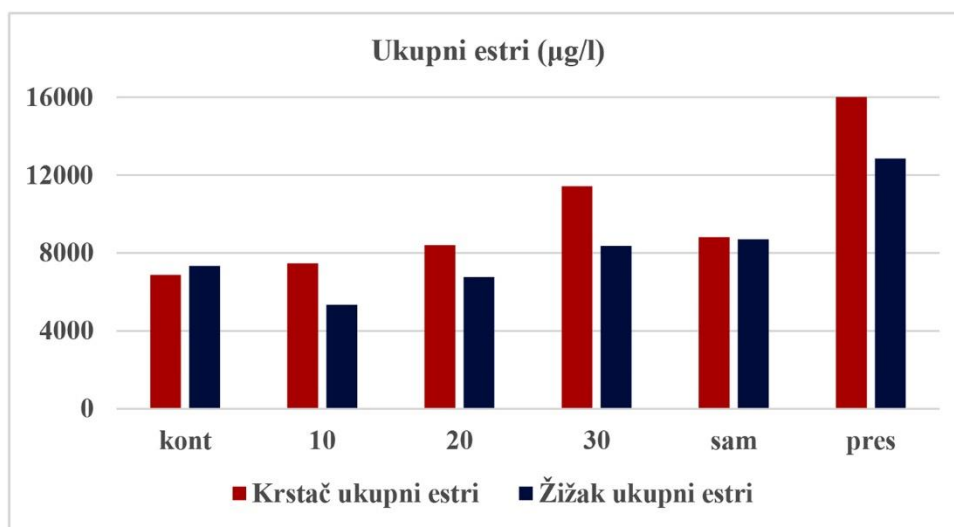
Primenom presovanja, zapažaju se niže koncentracije etil dekanata, etil hidrogen sukcinata i feniletil acetata u vinima sorte Krstač i Žižak, u poređenju sa vinima koja su dobijena fermentacijom samotoka (K sam, Z sam). Kada se upoređi sa Z sam, uočava se kod Žižka pres viša koncentracija dietil sukcinata i γ -butirolaktona. U literaturi, presovanje povećava sadržaj γ -butirolaktona u Emir soku (Selli et al., 2011). Ovaj lakton potiče iz glutaminske kiseline i nalazi se u fermentisanim proizvodima (Selli et al., 2011).

Na osnovu t-testa uparenih uzoraka (The paired samples T-test), utvrđena je značajna razlika u sadržaju etil estara, acetata i laktona ($p < 0,05$), između vina Žižka (Z 30) u odnosu na Z 20 i Z kont. Nije utvrđena statistički značajna razlika u sadržaju etil estara, acetata i laktona ($p > 0,05$) između vina Krstača K 10, K 20 i K 30. Vino Krstača, dobijenom od šire koje se taložilo 30 sati, imalo je viši sadržaj svih estara, acetata i laktona (osim etil butirata i dietil sukcinata), u odnosu na vino gde je primenjeno prefermentativno taloženje šire u trajanju 10 sati. Najvišu koncentraciju etil estara, acetata i laktona su imali uzorci vina K 30 ($11,4 \text{ mg/l}$) i Z 30 ($8,4 \text{ mg/l}$), što je u skladu sa istraživanjima Burin et al. (2015).

Burin et al. (2015) navodi u svojim studijama, da su vina, koja su dobijena taloženjem šire u trajanju 30 sati, bila u korelaciji sa etil estrima masnih kiselina i polarnim estrima (Burin et al., 2015). Koncentracije izoamil acetata i feniletil acetata su bile više u vinima Krstača i Žižka koja su dobijena taloženjem šire u trajanju 30 sati, u odnosu na vina K 10 i Z 10, što nije u saglasnosti sa istraživanjima Burin et al. (2015). Drugi autori ističu da su koncentracije izoamil acetata bile značajno više u uzorcima gde je sprovedeno taloženje (Kechagia et al., 2008). Vreme trajanja taloženja šire je bitan faktor koji utiče na količinu prekursora u širi i na taj način na formiranje arome u vinu (Burin et al., 2015).

U uzorku Žižka Z 30, sadržaj svih estara, acetata i laktone je bio viši u odnosu na Z 20 i Z kont (osim etil butirata) (Tabela 7). Ovi rezultati su u saglasnosti sa istraživanjima Losada et al. (2011), gde navode da vina koja su dobijena primenom dužeg vremenskog perioda taloženja šire (36 h) imaju viši sadržaj estara, nego vina sa statičkim taloženjem u trajanju od 24 sata. Vina Krstača K 30 su imala niži sadržaj dietil sukcinata, u odnosu na vina K 20, što je u skladu sa istraživanjima Losada et al. (2011).

Prema Delfini et al., koje su naveli Losada et al. (2011), taloženje šire stimuliše stvaranje masnih kiselina srednjeg lanca pomoću kvasaca, što dovodi do veće sinteze estara masnih kiselina u vinima. U vinima proizvedenim od šira sa nižim sadržajem azota bile su prisutne više koncentracije etil estara masnih kiselina (Burin et al., 2015). Na grafiku 6 je prikazan sadržaj ukupnih estara u vinima sorti Krstača i Žižka.



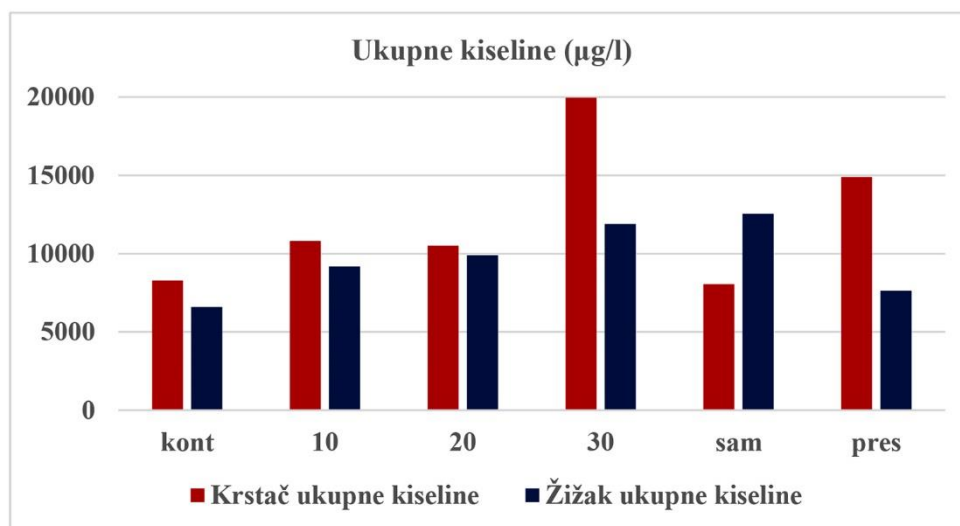
Grafik 6. Sadržaj ukupnih estara (µg/l) u vinima Krstača i Žižka (različito vreme statičkog taloženja šire, različiti pritisak prilikom presovanja kljuka)

Isparljivi estri su veoma važni u belim vinima jer doprinose značajnim cvetnim i voćnim senzornim svojstvima (Vianna et al., 2001). Houtman i Du Plessis (1981) su istraživali uticaj bistrine soka na proizvodnju aromatičnih komponenti i kvaliteta vina. Razlika u ponašanju fermentacije različitih sokova, uglavnom je u maloj količini zaostale zamućenosti koja ostaje u soku nakon taloženja (Houtman i Du Plessis, 1981). Acetatni estri se dobijaju reakcijom acetylCoA sa višim alkoholima, koji nastaju razgradnjom aminokiselina ili ugljenih hidrata, dok se etil estri masnih kiselina dobijaju etanolizom acetylCoA koji nastaje tokom razgradnje ili sinteze masnih kiselina (Vianna et al., 2001).

Kiseline: U vinima Krstača i Žižka, posle alkohola i estara, masne kiseline srednjeg lanca zauzimaju značajno mesto. Primenom pritiska od 1,8 bara, sadržaj heksanske, oktanske, dekanke kiseline je bio viši, a 9-decenske kiseline niži u vinu Krstača pres, nego u vinu K sam. U vinima Krstača i Žižka najzastupljenija je oktanska kiselina pa heksanska, dekanška i 9-decenska kiselina. Ukupna količina kiselina u vinu sorte Krstač koje je dobijeno primenom pritiska od 1,8 bara je bila viša (14,9 mg/l), u odnosu na vina koja su dobijena bez presovanja (8,04 mg/l) (Grafik 7), što je u saglasnosti sa zaključcima Selli et al. (2011) za ukupni sadržaj kiselina u presovanim Emir sokovima. Koncentracija heksanske kiseline je bila viša u presovanim sokovima, u odnosu na samotok (Selli et al., 2011).

Primenom prefermentativnog taloženja šire u trajanju 10, 20 i 30 sati, zapaža se da je najviša koncentracija ukupnih kiselina u uzorcima vina sorti Krstač i Žižak, gde je sprovedeno produženo vreme taloženja šire (30 h). Najviše koncentracije ukupnih kiselina su konstantovane u uzorcima vina

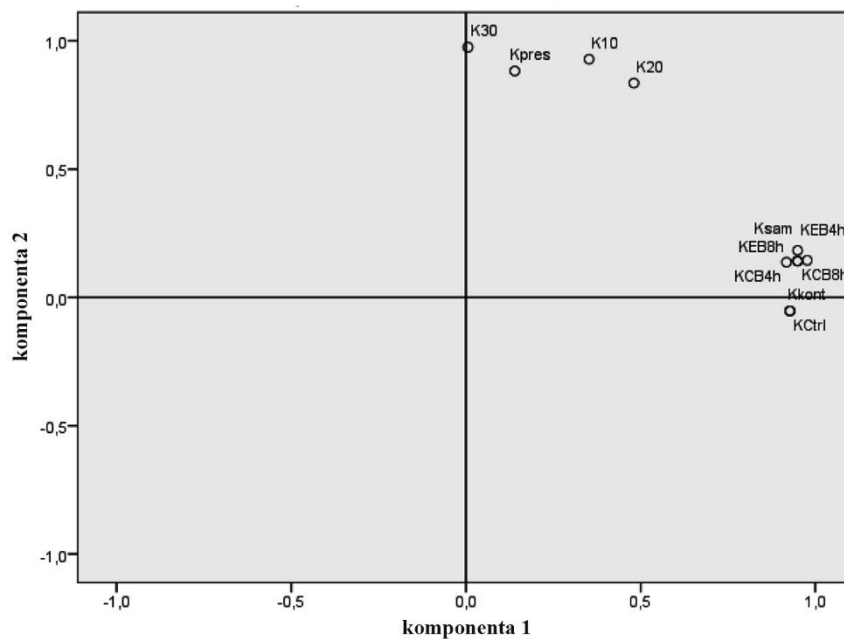
K 30 i Z 30 i iznosile su 19,9 mg/l i 11,9 mg/l, respektivno (Grafik 7). U vinima gde je primenjeno duže trajanje taloženja (30 h), koncentracije heksanske, oktanske, dekanske i izobuterne kiseline su bile znatno više, u odnosu na vina gde je sprovedeno prefermentativno taloženje u trajanju od 10 h i kontrolu (Tabela 7). Sa produženjem trajanja taloženja šire došlo je do porasta sadržaja masnih kiselina, što je u saglasnosti sa istraživanjima Losada et al. (2011). Primenom taloženja u trajanju 10 i 20 sati koncentracije ukupnih kiselina su bile približno jednake u uzorcima vina sorti Krstač. Vreme taloženja šire je uticalo na porast sadržaja izobuterne kiseline u vinima Krstača i Žižka i najviše koncentracije su bile u uzorcima K 30 i Z 30 (Tabela 7). Na osnovu naših i literaturnih podataka (Losada et al., 2011), može se konstatovati da statičko taloženje šire stimuliše sintezu masnih kiselina u vinima.



Grafik 7. Sadržaj ukupnih kiselina (µg/l) u vinima Krstača i Žižka (različito vreme statičkog taloženja šire, različiti pritisak prilikom presovanja)

Grupisanje vina Krstača, dobijenih prefermentativnim postupcima (maceracija i glikolitički enzimi, gravitaciono taloženje u trajanju 10, 20 i 30 sati, i primena pritiska), vršeno je u odnosu na 19 etil estara, acetata i laktona. Rezultati dobijeni u ovom eksperimentu su analizirani metodom redukcije faktora (PCA). Primenjena je ortogonalna quattrimax rotacija koja najbolje opisuje varijabilnost novih komponenti.

Prema najvažnijim faktorskim opterećenjima u PCA analizi, Katelovim kriterijumom jasno su se izdvojile dve tačke iznad kolena na dijagramu prevoja. Na osnovu primenjene analize, dobijeno je da prva komponenta objašnjava 59,9 % varijabiliteta, druga dodatnih 31,0 %, a obe zajedno 90,9 % varijanse. Jasno su razdvojena vina dobijena postupkom maceracije i glikolitičkih enzima i bez primene pritiska, od vina dobijenih taloženjem u trajanju 10, 20 i 30 sati, i primenom pritiska. Najveći uticaj na količinu stvorenih estara imali su maceracija u trajanju od 8 sati i enzim beta (K EB8h), zatim podjednak uticaj su imali maceracija u trajanju od 4 sata i enzim beta (K EB4h), K sam i K CB8h. Navedena vina su izdvojena u komponenti 1, dok je vino K 30 u komponenti 2. Grupisanje vina Krstača dobijenih različitim prefermentativnim postupcima, na osnovu 19 etil estara, acetata i laktona je prikazan na slici 14.



Slika 14. Grupisanje vina Krstača (maceracija i enzimi; samotok i primena pritiska od 1,8 bara prilikom presovanja; taloženje šire u trajanju 10, 20 i 30 sati), u odnosu na sadržaj etil estara, acetata i laktona

Tabela 7. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Krstača i Žižka, dobijenih primenom različitih vremena statičkog taloženja šire (10 h, 20 h, 30 h)

Jedinjenja	K kont	K 10	K 20	K 30	Z kont	Z 10	Z 20	Z 30
1-Heksanol	580,2	756,0	676,2	607,2	627,2	727,3	606,6	588,2
3-Heksen-1-ol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Izobutil alkohol	2425,0	4022,0	4137,0	4992,4	4948,6	6256,8	4947,4	6223,6
Izoamil alkohol	90280,7	88557,9	88620,1	100271,5	101151,0	131541,9	105927,3	120749,9
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	t	150,6	173,0	237,6	nd	nd	t	t
2,3 Butandiol	t	181,3	405,4	2908,0	205,3	1543,4	1010,5	1158,7
3-(Metilto)-1-Propanol	217,9	t	t	t	235,5	244,7	220,9	254,8
2-Feniletil alkohol	50694,2	26620,5	25012,3	25837,9	31366,6	34858,0	34100,6	39980,7
Ukupni alkoholi	152328,0	128418,3	127154,0	142984,6	146664,2	183302,1	154943,3	177085,9
Etil butirat	884,2	3115,3	3595,9	t	1385,0	t	t	t
Etil heksanoat	184,8	334,7	366,5	917,6	409,6	399,4	449,2	462,0
Etil 3-heksenoat	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Etil (S)-(-) laktat	966,8	434,7	369,3	454,5	254,8	248,8	284,2	315,5
Etil oktanoat	t	253,5	344,6	1720,0	194,7	811,4	193,9	214,5
Etil 3-hidroksibutirat	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Etil dekanat	t	143,1	196,3	405,6	t	317,0	165,8	234,8
Dietil sukcinat	677,7	512,2	607,0	82,7	453,0	104,1	629,0	795,3
Etil 9-decenoat	t	nd	t	516,7	nd	508,3	t	t
Etil 4-hidroksibutanoat	t	nd	t	979,5	1211,5	1400,1	1180,4	1553,6
Dietil hidroksibutandioat	t	nd	t	154,3	104,2	145,3	101,0	116,4
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	t	t	nd	1302,9	t	nd	t	t
Etil hidrogen sukcinat	2175,6	t	312,2	t	1617,8	t	1731,7	2372,4
Izoamil acetat	267,4	1330,1	1132,6	2627,2	690,4	498,9	994,6	1091,1
Heksil acetat	t	t	nd	201,0	t	t	t	t
1,3-Propandiol diacetat	139,8	272,8	301,8	374,4	232,2	180,9	177,3	204,0
2-Feniletil acetat	159,4	222,0	234,3	357,5	129,0	84,3	145,8	192,5
γ -Butirolakton	1423,0	848,1	929,6	1334,1	644,7	640,2	714,9	819,6
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	6878,7	7466,5	8390,1	11428,0	7326,9	5338,7	6767,8	8371,7

Jedinjenja (nastavak tabele)	K kont	K 10	K 20	K 30	Z kont	Z 10	Z 20	Z 30
Heksanska kiselina	1961,9	3326,7	3233,7	4494,0	1921,3	2041,2	2818,7	3113,2
Oktanska kiselina	4163,4	6112,6	5851,3	11409,2	3499,0	4634,7	5213,8	6274,5
Dekanska kiselina	866,2	857,3	747,6	2734,2	570,6	1719,3	857,4	1165,3
Izobuterna kiselina	t	184,3	315,6	479,7	337,2	271,7	392,9	493,8
9-Decenska kiselina	1284,6	322,8	361,8	829,7	249,2	499,7	607,8	844,9
Ukupne kiseline	8276,1	10803,7	10510,0	19946,8	6577,3	9166,6	9890,6	11891,7
Ukupna aromatična jedinjenja	167482,8	146688,5	146054,1	174359,4	160568,4	197807,4	171601,7	197349,3

Skraćenice: Krstač i Žižak vina [kontrola (K kont, Z kont), taloženje 10 h (K 10, Z 10), taloženje 20 h (K 20, Z 20), taloženje 30 h (K 30, Z 30)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

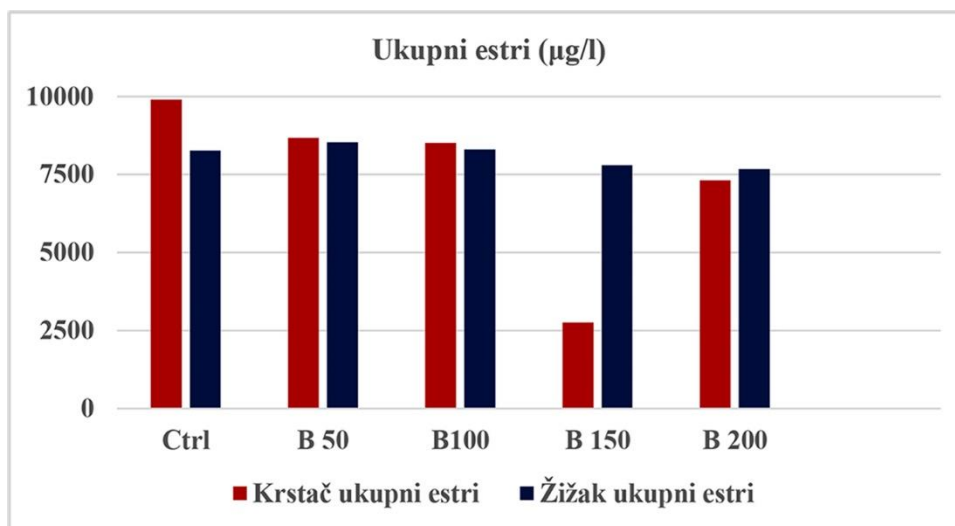
5.4. Količina aromatičnih jedinjenja u vinu dobijenom rastućim stepenom bistrenja šire bentonitom

Bentonit je sredstvo za bistrenje koje se u industriji najčešće primenjuje za uklanjanje proteina i za sprečavanje mutnoće u vinu (Lambri et al., 2010; Vela et al., 2017). On je prirodni materijal na bazi gline, bubri u vodi i pripada grupi aluminijum hidratnih silikata (Dordoni et al., 2009). Na osnovu literaturnih podataka bentonit se dodaje: širi u toku statičnog taloženja (Armada i Falqué, 2007; Lambri et al., 2012), bistroj širi pre alkoholne fermentacije (Puig-Deu et al., 1999; Horvat et al., 2019) tokom alkoholne fermentacije (Lira et al., 2014, 2015; Horvat et al., 2019) i u gotovom vinu. Postoji malo radova gde je proučavan uticaj bentonita na aromatična jedinjenja u širi, dok je naprotiv dosta radova gde su praćeni uticaji bentonita na sadržaj proteina i aromatična jedinjenja u vinu.

Prisustvo intenzivnih aromatičnih jedinjenja i stabilnost na taloženje proteina su dva važna zahteva za bela vina (Lambri et al., 2016). Kada se bentonit dodaje u širu dolazi do olakšavanja taloženja suspendovanih čvrstih materija i povećanja brzine taloženja (Puig-Deu et al., 1999). Da bi se izbegli neželjeni efekti sredstava za bistrenje, veoma su važni izbor, vreme dodavanja sredstava za bistrenje i doza (Armada i Falqué, 2007; Lambri et al., 2012). Nedovoljno izbistrene, mutne šire, daju zeljastu aromu, dok šire koje su previše izbistrene mogu dovesti do usporenja fermentacija (Armada i Falqué, 2007). Da bi se dobilo kvalitetno belo vino, potrebno je da se što bolje očuvaju aromatična svojstva, uz obezbeđivanje proteinske stabilnosti vina (Armada i Falqué, 2007). Neki autori navode da dodavanjem bentonita u širu je dovelo do smanjenja prefermentativnih i sortnih aroma (Armada i Falqué, 2007). U našem eksperimentu utvrđeno je da su najbolju senzornu ocenu dobila vina K B 200, K B 100 i Z B 100. To je u skladu sa zaključkom Armada i Falqué (2007), da se dobijaju bolje senzorne karakteristike belih vina, kada se bentonit dodaje u širu pre početka fermentacije.

Alkoholi: U eksperimentu su primenjene rastuće koncentracije bentonita (0, 50, 100, 150, 200 g/hl) u širama dve sorte grožđa (Krstač i Žižak). Bentonit je dodavan u širu, pre zasejavanja sa kvascem *Saccharomyces cerevisiae*. Zapaža se, da je došlo do najvišeg sniženja alkohola u vinu Krstača, gde je bilo dodato 150 g/hl bentonita za bistrenje šire. U ovom uzorku sniženje koncentracije 1-heksanola je iznosilo 58,82 %. Značajno smanjenje sadržaja C₆ jedinjenja, sa dodavanjem bentonita u širu, su utvrdili Armada i Falqué (2007) i Horvat et al. (2019). C₆ alkoholi se formiraju iz dugolančanih masnih kiselina, uz dejstvo enzima alkohol dehidrogenaze i lipoksigenaze (Horvat et al., 2019). Smanjenje sadržaja 1-heksanola, može se objasniti činjenicom, da dodavanjem bentonita u širu se možda ograničava delovanje navedenih enzima (Horvat et al., 2019). U odnosu na kontrolu, kod uzoraka K B 50 i K B 100, smanjenje koncentracije 1-heksanola je znatno manje 4,48 % i 11,63 %, respektivno. Primena različitih koncentracija bentonita, uticala je na smanjenje sadržaja izoamil alkohola, izobutil alkohola i 2,3 butandiola u vinima Krstača. U uzorku vina K B 150, došlo je do snižavanja koncentracija izoamil alkohola za 57,24 % i izobutil alkohola za 65,08 %, u odnosu na kontrolu. Dodavanjem bentonita, došlo je do najvećeg smanjenja sadržaja 2,3 butandiola u uzorku Z B 150, dok je najveće snižavanje koncentracije 2-feniletil alkohola bilo u uzorku Z B 200.

Estri: Primenom različitih koncentracija bentonita koji su dodati širi, beleži se statistički značajna razlika u sadržaju svih estara ($p < 0,05$), između sledećih uzoraka Krstača: K Ctrl i K B 150; K Ctrl i K B 200; K B 50 i K B 150; K B 100 i K B 150; K B 150 i K B 200. Kod Žižka, primenom t testa utvrđena je statistički značajna razlika u sadržaju svih estara ($p < 0,05$), između uzoraka Z B 50 i Z B 200; Z B 100 i Z B 200. Na osnovu t-testa može se zaključiti da je dodavanjem različitih koncentracija bentonita, došlo do značajnog uticaja na sadržaj estara u vinima Krstača i Žižka (Tabele 8 i 9). Rastuće koncentracije bentonita su značajno uticale na smanjenje sadržaja estara u vinima Krstača, dok je kod sorte Žižak smanjenje ukupnih estara uočeno u uzorcima Z B 150 i Z B 200, u odnosu na kontrolu (Grafik 8).



Grafik 8. Sadržaj ukupnih estara ($\mu\text{g/l}$) u vinima Krstača i Žižka

U vinima Krstača, primenom različitih koncentracija bentonita došlo je do snižavanja koncentracija etil butirata, etil heksanoata, etil laktata, dietil sukcinata, etil hidrogen sukcinata, izoamil acetata, 1,3 propandiol diacetata, 2-feniletil acetata, u odnosu na kontrolu (Tabela 8). U vinima Žižka, bentonit je negativno uticao na sadržaj etil heksanoata, etil oktanoata, etil dekanata, etil 9-decenoata i 2-feniletil acetata (tabela 9). Koncentracija bentonita od 150 g/hl najviše je uticala na smanjenje sadržaja estara u vinima Krstača i Žižka. Autori ističu da bistrenje bentonitom može uticati na uklanjanje nekih aromatičnih jedinjenja (Armada i Falqué, 2007; Lira et al. 2014, 2015). Bistrenjem se mogu ukloniti i materije koje utiču na rast kvasca i samim tim dolazi do manje sinteze fermentativnih aromatičnih jedinjenja (Riberéau-Gayon et al., 2000a). Kod uzoraka Z B 50 i Z B 100, sadržaj estara se povisio, što potvrđuje činjenicu da bistrenje bentonitom može uticati na proizvodnju fermentacionih aroma (Lira et al., 2015). Čvrste materije u širi mogu da inhibiraju proizvodnju estara, pa se dodavanjem bentonita one uklanjaju (Lukić et al., 2017). Puig-Deu et al. (1999) ističe važnost uklanjanja čvrstih materija iz šire, jer se na taj način poboljšava sinteza etil butanoata, etil heksanoata, etil oktanoata, 2-feniletil acetata i izoamil acetata, a ograničava proizvodnja fuzelnih alkohola.

Upotreba sredstava za bistrenje groždanog soka, može negativno i pozitivno uticati na sastav šire (Lambri et al., 2012). Sastav šire u velikoj meri utiče na formiranje fermentativne arome. Pored toga, važan je i sadržaj azota u širi (Ayestarán et al., 1995).

Kiseline: Utvrđena je statistička značajna razlika u sadržaju svih kiselina ($p < 0,05$), između uzoraka vina gde je bentonit dodavan u koncentracijama 100 g/hl i 200 g/hl u širi Žižka. Kod vina Krstača i Žižka koja su dobijena tretiranjem šire bentonitom u koncentraciji 150 g/hl, kiseline su najviše uklonjene, dok nije došlo do smanjenja sadržaja kiselina u uzorcima vina K B 100 i K B 200. Kod Žižka, u svim vinima gde su dodavane različite koncentracije bentonita, oktanska i dekanska kiselina su imale niže koncentracije, u odnosu na kontrolu. Nekoliko autora su zaključili u svojim radovima, da je došlo do smanjenja sadržaja C_6 , C_8 , C_{10} masnih kiselina u vinu, sa dodavanjem bentonita širi, u odnosu na kontrolno vino (Armada i Falqué, 2007; Lambri et al., 2010; Vela et al., 2017). Dodavanjem 100 g/hl bentonita, u vinu Krstača se povisila oktanska kiselina a u Žižku heksanska, u odnosu na kontrolu, što je u skladu sa istraživanjima Horvat et al. (2019).

Tabela 8. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Krstača, dobijenih primenom rastućih koncentracija bentonita (0, 50, 100, 150, 200 g/hl)

Jedinjenja	K Ctrl	K B 50	K B 100	K B 150	K B 200
1-Heksanol	664,6	634,8	587,3	273,7	736,7
3-Heksen-1-ol	nd	nd	nd	nd	nd
Izobutil alkohol	4943,7	3881,6	3200,3	1726,3	4025,4
Izoamil alkohol	107259,8	99838,6	91354,7	45864,7	106066,3
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	t	t	t	t	t
2,3 Butandiol	160,6	130,0	119,9	547,3	t
3-(Metiltio)-1-Propanol	265,2	272,8	303,6	147,2	330,8
2-Feniletil alkohol	48622,2	49449,6	60606,4	27269,1	59082,4
Ukupni alkoholi	170046,1	162337,4	164302,2	83958,3	178371,6
Etil butirat	1847,2	1301,8	1109,5	t	1219,1
Etil heksanoat	353,2	278,8	278,5	228,1	224,6
Etil 3-heksenoat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil (S)-(-) laktat	920,8	918,5	757,9	302,5	875,5
Etil oktanoat	226,5	176,9	179,2	482,5	132,6
Etil 3-hidroksibutirat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil dekanat	141,6	168,0	152,9	t	t
Dietil sukcinat	760,9	689,8	697,2	99,4	703,8
Etil 9-decenoat	t	t	t	t	t
Etil 4-hidroksibutanoat	704,1	659,0	739,9	418,2	735,2
Dietil hidroksibutandioat	134,8	114,4	222,7	67,5	94,7
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	t	t	t	nd	nd
Etil hidrogen sukcinat	1882,3	1833,0	1836,0	t	1309,2
Izoamil acetat	1297,0	957,8	825,9	385,3	540,3
Heksil acetat	t	nd	nd	t	nd
1,3-Propandiol diacetat	251,3	224,2	227,3	156,8	206,7
2-Feniletil acetat	422,4	391,1	409,3	217,0	312,8
γ -Butirolakton	964,2	959,9	1075,1	395,7	959,4
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	9906,3	8673,2	8511,4	2753,0	7313,9
Heksanska kiselina	2738,0	2478,5	2596,4	t	2745,7
Oktanska kiselina	5357,6	4548,2	5598,7	36,9	5368,1
Dekanska kiselina	812,7	695,7	679,6	nd	743,1
Izobuterna kiselina	247,8	174,4	205,3	t	196,0
9-Decenska kiselina	484,0	426,2	791,0	t	916,9
Ukupne kiseline	9640,1	8323,0	9871,0	36,9	9969,8
Ukupna aromatična jedinjenja	189592,5	179333,6	182684,6	86748,2	195655,3

Skraćenice: Vina Krstača [kontrola (K Ctrl); bentonit 50 g/hl (K B 50), bentonit 100 g/hl (K B 100), bentonit 150 g/hl (K B 150) bentonit 200 g/hl (K B 200)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

Tabela 9. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Žižka, dobijenih primenom rastućih koncentracija bentonita (0, 50, 100, 150, 200 g/hl)

Jedinjenja	Z Ctrl	Z B 50	Z B 100	Z B 150	Z B 200
1-Heksanol	412,8	437,3	519,8	677,4	506,9
3-Heksen-1-ol	nd	nd	nd	nd	nd
Izobutil alkohol	5261,3	5918,8	6013,3	4598,7	5425,4
Izoamil alkohol	112313,5	116505,0	116639,1	104492,8	106457,9
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	t	t	t	t	t
2,3 Butandiol	1954,3	1857,8	1600,4	1047,2	1181,3
3-(Metiltio)-1-Propanol	111,9	182,7	239,6	322,1	215,0
2-Feniletil alkohol	47638,8	44294,7	43474,6	55740,9	43175,9
Ukupni alkoholi	175822,6	177326,3	176616,8	175009,1	165092,4
Etil butirat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil heksanoat	692,1	582,4	546,4	362,6	517,5
Etil 3-heksenoat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil (S)-(-) laktat	226,6	269,4	317,9	869,1	284,5
Etil oktanoat	1492,9	256,3	273,5	320,7	213,5
Etil 3-hidroksibutirat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil dekanat	424,6	210,2	218,2	168,3	135,4
Dietil sukcinat	123,3	782,1	812,7	738,0	698,8
Etil 9-decenoat	632,1	t	t	t	t
Etil 4-hidroksibutanoat	1519,7	1576,0	1713,7	802,0	1496,7
Dietil hidroksibutandioat	132,3	97,3	100,2	137,3	nd
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	t	t	t	t	t
Etil hidrogen sukcinat	nd	1527,0	1490,0	1888,6	1441,2
Izoamil acetat	1499,4	1773,5	1437,0	875,7	1609,8
Heksil acetat	t	t	t	t	t
1,3-Propandiol diacetat	214,8	216,9	227,3	242,6	198,6
2-Feniletil acetat	363,1	333,9	306,9	360,5	310,2
γ -Butirolakton	944,7	902,9	861,7	1032,6	769,8
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	8265,6	8527,9	8305,5	7798,0	7676,0
Heksanska kiselina	3107,1	3423,4	3480,0	2662,9	3320,9
Oktanska kiselina	7601,8	7505,0	7222,7	4691,6	7210,4
Dekanska kiselina	2209,3	998,9	1066,0	665,5	954,4
Izobuterna kiselina	336,3	616,5	574,5	431,6	464,4
9-Decenska kiselina	1511,1	1560,5	1511,7	621,9	1616,7
Ukupne kiseline	14765,6	14104,3	13854,9	9073,5	13566,8
Ukupna aromatična jedinjenja	198853,8	199958,5	198777,2	191880,6	186335,2

Skraćenice: Vina Žižka [kontrola (Z Ctrl); bentonit 50 g/hl (Z B 50), bentonit 100 g/hl (Z B 100), bentonit 150 g/hl (Z B 150) bentonit 200 g/hl (Z B 200)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

5.5. Količina aromatičnih jedinjenja u vinu dobijenom mikrooksigenacijom šire i katalitičkim delovanjem jona teških metala

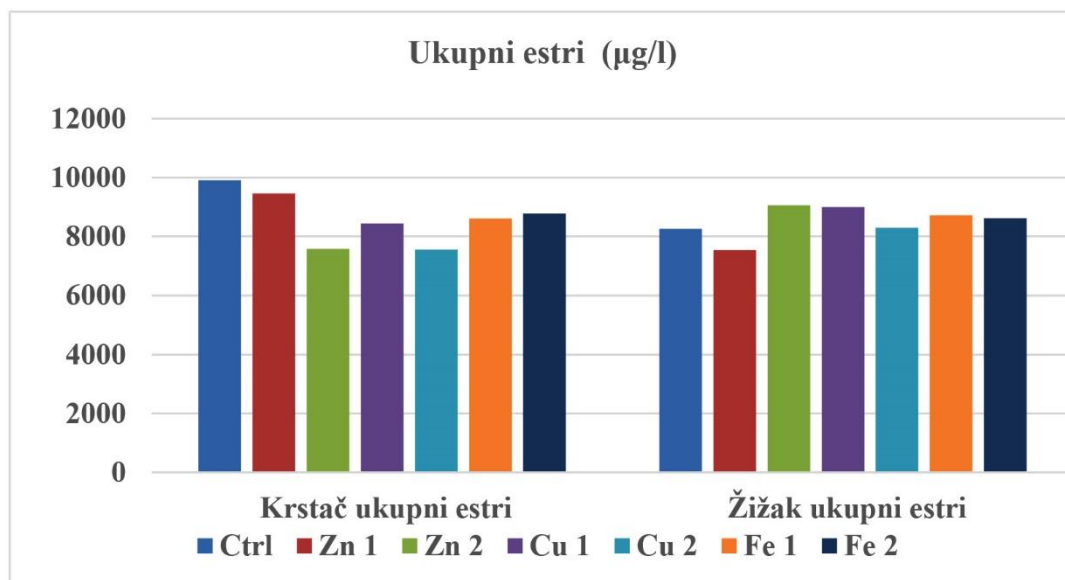
Na atomskom apsorpcionom spektrometru su određeni sadržaji Cu, Zn i Fe u širi Krstača i iznosili su 0,4 mg/l, 0,17 mg/l i 0,12 mg/l, dok u širi Žižka 0,54 mg/l, 0,28 mg/l i 0,11 mg/l, respektivno. Tretiranje kiseonikom je obavljeno primenom pritiska od 2 bara u trajanju od jednog minuta. Dodavanje različitih koncentracija metala u obliku sulfatnih jedinjenja je vršeno pre alkoholne fermentacije šira Krstača i Žižka. U vinarijama, tehnolozi teže da sadržaj bakra koji potiče iz vinograda bude što niži, dok se uglavnom za uklanjanje neprijatnih sumpornih mirisa primenjuje bakar sulfat (Kardjova et al., 2002, Clark et al., 2015). Bakar i gvožđe u vinu mogu uticati na koloidnu, oksidativnu i reduktivnu stabilnost (Rousseva et al., 2017). Tokom fermentacije bakar se taloži sa ćelijama kvasaca (Straube et al., 1991), dok Fe ima manju interakciju sa njihovim ćelijama (Rousseva et al., 2017). Rousseva et al. (2017) zaključuje da je posle alkoholne fermentacije, koncentracija gvožđa nepromenjena, dok je bakra znatno smanjena.

Alkoholi: Zapaža se da delovanjem jona Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} u prisustvu kiseonika, dolazi do porasta koncentracija 1-heksanola (osim K Fe 2), izoamil alkohola, 3-(metiltio)-1-propanola i 2-feniletil alkohola u svim uzorcima Krstača i Žižka, u odnosu na kontrolu. Koncentracije 2,3 butandiola opadaju, u odnosu na kontrolu. U uzorcima K Zn 2, K Cu 2 i K Fe 2, koncentracije svih viših alkohola su niže, u odnosu na uzorke gde su dodate niže koncentracije jona metala, K Zn 1, K Cu 1, K Fe 1 (osim heksanol kod uzorka K Zn 1). Kod uzoraka Žižka dolazi do smanjenja koncentracija svih viših alkohola u uzorku Z Cu 2, u odnosu na Z Cu 1. Delovanjem kvasaca tokom alkoholne fermentacije, sintetišu se viši alkoholi iz amino kiselina koji su prisutni u širi: valin, leucin, izoleucin, treonin i fenilalanin (Lambrechts i Pretorius, 2000). Formiranje viših alkohola može biti direktno iz aminokiselina (Ehrlich-ov mehanizam) ili anabolički (iz ugljenih hidrata). Bakar ima katalitičko dejstvo posebno na enzime, koji vrše transaminaciju aminokiselina. Primenom kiseonika dolazi do veće aktivnosti kvasaca, pa se očekuje viši sadržaj viših alkohola.

Estri: Estri su jedinjenja koja nastaju iz alkohola i organskih kiselina, dejstvom kvasca tokom alkoholne fermentacije. Proces formiranja estara je katalizovan sa esterazama (Furdíková et al., 2007). U našem eksperimentu, primenom jona metala Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} i aeracije, došlo je do smanjenja sadržaja ukupnih estara u svim uzorcima vina Krstača, u odnosu na kontrolu (Grafik 9). Pored toga, primenom viših koncentracija Zn^{2+} , Cu^{2+} za posledicu ima veće smanjenje koncentracija ukupnih estara kod vina Krstača, dok dodavanjem Fe^{2+} nije bilo neke veće razlike u koncentracijama. U ovom eksperimentu pored metala, na formiranje estara utiče i kiseonik. Delovanjem kiseonika mogu da nastanu unutrašnji oksidi od nezasićenih kiselina, koji prelaze u epokside i posle se razlažu kiseline. S obzirom da estri nastaju iz kiselina i alkohola, sa smanjenjem kiselina dolazi i do smanjenja ukupne količine estara.

Primenom t-testa, beleži se statistički značajna razlika u sadržaju svih estara ($p < 0,05$), između uzoraka K Zn 1 i K Zn 2, K Cu 1 i K Cu 2 i K Ctrl i K Cu 2 (Tabela 10). Primena različitih koncentracija metala Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} u obliku sulfata i aeracije, uticala je na smanjenje koncentracija etil heksanoata, etil dekanata, izoamil acetata, 1,3 propandiol diacetata (osim Z Zn 2) i 2-feniletil acetata, a do porasta sadržaja etil laktata, dietil sukcinata, etil hidrogen sukcinata u svim vinima Krstača i Žižka, u odnosu na kontrolu (Tabele 10 i 11).

Kiseline: Dodavanje Zn, Cu i Fe u obliku sulfata pre početka alkoholne fermentacije, uz oksigenaciju sa O_2 , uticalo je na smanjenje sadržaja oktanske i dekanske kiseline u svim vinima Krstača i Žižka, u odnosu na kontrolu. Vina Krstača, koja su dobijena primenom više koncentracije $CuSO_4 \times 5H_2O$ (Cu 2), imala su niži sadržaj heksanske, oktanske, izobuterne kiseline i 9-decenske kiseline, u odnosu na vina K Cu 1, dok je kod vina Fe 2 došlo do minimalnog porasta koncentracija heksanske, dekanske, izobuterne kiseline i 9-decenske kiseline, u odnosu na K Fe 1 (Tabela 10).



Grafik 9. Sadržaj ukupnih estara (µg/l) u vinima Krstača i Žižka

Tabela 10. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Krstača, dobijenih mikrooksigencijom šire i katalitičkim delovanjem jona teških metala

Jedinjenja	K Ctrl	K Zn 1	K Zn 2	K Cu 1	K Cu 2	K Fe 1	K Fe 2
1-Heksanol	664,6	826,5	862,6	899,4	742,6	764,1	564,2
3-Heksen-1-ol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Izobutil alkohol	4943,7	5990,6	4708,9	4870,0	4614,3	4747,4	4106,1
Izoamil alkohol	107259,8	142016,1	128538,2	119559,7	113104,2	119544,1	111111,0
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	t	nd	nd	nd	t	t	t
2,3 Butandiol	160,6	144,9	t	107,8	101,5	118,8	137,4
3-(Metiltio)-1-Propanol	265,2	468,6	399,8	373,8	321,7	394,7	279,9
2-Feniletil alkohol	48622,2	82649,7	70838,7	66500,6	63298,2	73862,0	64310,8
Ukupni alkoholi	170046,1	240226,4	213478,2	200441,3	190312,5	207561,1	188639,4
Etil butirat	1847,2	1136,2	934,8	1024,4	1143,7	1150,0	1257,7
Etil heksanoat	353,2	160,7	173,2	248,1	218,6	257,3	218,6
Etil 3-heksenoat	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Etil (S)-(-) laktat	920,8	1255,4	1091,8	1122,6	952,1	1082,7	819,3
Etil oktanoat	226,5	126,0	120,5	163,3	173,7	135,1	148,8
Etil 3-hidroksibutirat	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Etil dekanat	141,6	t	t	t	t	131,7	t
Dietil sukcinat	760,9	891,0	710,2	754,1	631,0	8057,0	659,8
Etil 9-decenoat	t	t	nd	t	t	t	t
Etil 4-hidroksibutanoat	704,1	885,8	787,2	764,7	753,2	893,3	822,2
Dietil hidroksibutandioat	134,8	248,4	205,8	235,0	198,4	205,6	124,2
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	t	nd	t	nd	nd	t	t
Etil hidrogen sukcinat	1882,3	2367,2	1745,5	1793,5	1340,6	1702,6	2589,8
Izoamil acetat	1297,0	552,3	307,6	591,0	507,2	469,2	592,8
Heksil acetat	t	nd	nd	nd	t	nd	nd
1,3-Propandiol diacetat	251,3	240,9	193,1	220,7	174,7	203,5	170,1
2-Feniletil acetat	422,4	257,8	164,8	276,3	231,8	319,4	314,7
γ -Butirolakton	964,2	1339,2	1142,0	1243,3	1228,8	1256,5	1054,2
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	9906,3	9460,9	7576,5	8437,0	7553,8	8612,6	8772,2

Jedinjenja (nastavak tabele)	K Ctrl	K Zn 1	K Zn 2	K Cu 1	K Cu 2	K Fe 1	K Fe 2
Heksanska kiselina	2738,0	2334,8	1919,2	2285,8	2034,8	2196,4	2203,4
Oktanska kiselina	5357,6	4504,7	3915,0	4418,8	3177,1	4735,9	4710,3
Dekanska kiselina	812,7	603,0	723,4	437,3	477,3	723,4	814,0
Izobuterna kiselina	247,8	179,6	204,4	184,1	t	184,9	216,7
9-Decenska kiselina	484,0	1269,7	772,2	1403,6	1165,7	1073,0	1076,8
Ukupne kiseline	9640,1	8891,8	7534,2	8729,6	6854,9	8913,6	9021,2
Ukupna aromatična jedinjenja	189592,5	258579,1	228588,9	217607,9	204721,2	225087,3	206432,8

Skraćenice: Krstač vina [kontrola (Ctrl), koncentracija Zn (3 mg/l, 6 mg/l) (K Zn 1, K Zn 2), koncentracija Cu (3 mg/l, 6 mg/l) (K Cu 1, K Cu 2); koncentracija Fe (3 mg/l, 6 mg/l) (K Fe 1, K Fe 2)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

Tabela 11. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Žižka, dobijenih mikrooksigencijom šire i katalitičkim delovanjem jona teških metala

Jedinjenja	Z Ctrl	Z Zn 1	Z Zn 2	Z Cu 1	Z Cu 2	Z Fe 1	Z Fe 2
1-Heksanol	412,8	527,9	476,4	451,9	430,5	462,1	415,3
3-Heksen-1-ol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Izobutil alkohol	5261,3	5643,4	6378,5	5640,5	5154,1	5685,5	5441,7
Izoamil alkohol	112313,5	119403,4	128173,1	117459,9	113575,2	121486,3	120970,6
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	t	t	nd	nd	nd	t	t
2,3 Butandiol	1954,3	1532,7	1810,8	1478,0	1262,8	1393,9	1465,3
3-(Metiltio)-1-Propanol	111,9	284,1	248,1	234,6	226,7	258,3	269,0
2-Feniletil alkohol	47638,8	44585,7	49247,3	45542,7	48462,4	46965,8	47559,3
Ukupni alkoholi	175822,6	180107,2	194464,2	178937,6	177241,7	184381,9	184251,2
Etil butirat	t	t	1353,2	1245,0	956,2	1187,8	1137,2
Etil heksanoat	692,1	633,7	410,6	501,7	452,7	464,5	505,1
Etil 3-heksenoat	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Etil (S)-(-) laktat	226,6	275,4	316,0	343,5	345,1	339,5	319,0
Etil oktanoat	1492,9	1227,7	233,0	212,3	199,3	231,6	246,0
Etil 3-hidroksibutirat	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Etil dekanat	424,6	327,4	170,5	149,6	172,9	153,8	175,9
Dietil sukcinat	123,3	137,5	832,5	696,5	729,0	742,0	727,7
Etil 9-decenoat	632,1	788,9	t	t	t	t	t
Etil 4-hidroksibutanoat	1519,7	1672,8	1795,4	1554,3	1560,2	1652,8	1588,8
Dietil hidroksibutandioat	132,3	156,7	72,3	172,3	93,1	158,6	85,6
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	t	t	t	t	t	nd	t
Etil hidrogen sukcinat	t	t	991,4	1266,1	1248,3	1228,3	1183,1
Izoamil acetat	1499,4	1115,8	1296,4	1406,7	1074,1	1199,8	1264,1
Heksil acetat	t	t	t	t	t	t	t
1,3-Propandiol diacetat	214,8	191,0	226,5	187,5	184,7	196,1	191,9
2-Feniletil acetat	363,1	225,2	283,8	285,3	270,7	254,5	268,0
γ -Butirolakton	944,7	794,7	1076,1	977,3	1013,5	915,5	928,8
Ukupni etil estri, acetati i laktomi	8265,6	7546,8	9057,7	8998,1	8299,8	8724,8	8621,2

Jedinjenja (nastavak tabele)	Z Ctrl	Z Zn 1	Z Zn 2	Z Cu 1	Z Cu 2	Z Fe 1	Z Fe 2
Heksanska kiselina	3107,1	2599,8	3437,3	3121,4	3171,9	2996,1	3144,1
Oktanska kiselina	7601,8	6735,4	6894,4	6934,5	6877,1	6390,4	6812,9
Dekanska kiselina	2209,3	1824,3	1082,3	1237,2	1184,9	1045,3	1126,3
Izobuterna kiselina	336,3	295,3	574,5	444,5	419,4	384,7	463,0
9-Decenska kiselina	1511,1	1515,9	1139,4	1268,0	1218,6	1247,4	1152,5
Ukupne kiseline	14765,6	12970,7	13127,9	13005,6	12871,9	12063,9	12698,8
Ukupna aromatična jedinjenja	198853,8	200624,7	216649,8	200941,3	198413,4	205170,6	205571,2

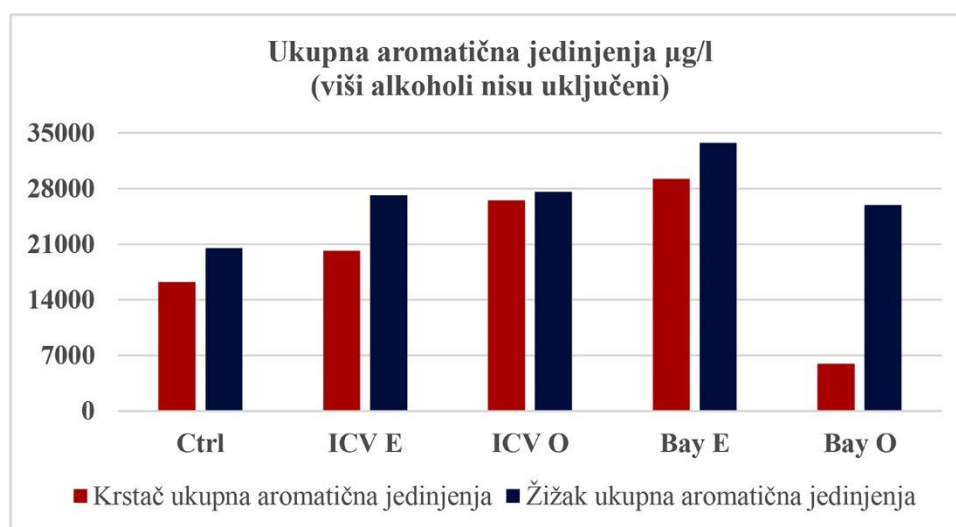
Skraćenice: Žižak vina [kontrola (Z Ctrl); koncentracija Zn (3 mg/l, 6 mg/l) (Z Zn 1, Z Zn 2), koncentracija Cu (3 mg/l, 6 mg/l) (Z Cu 1, Z Cu 2), koncentracija Fe (3 mg/l, 6 mg/l) (Z Fe 1, Z Fe 2)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

5.6. Količina aromatičnih jedinjenja u vinu dobijenom primenom različitih sojeva i hraniva za kvasce

Prema literaturi, soj kvasaca je važan faktor koji u velikoj meri utiče na kvalitet vina i formiranje aromatičnih jedinjenja (Antonelli et al., 1999; Eglinton et al., 2000; Nurgel et al., 2002; Herjavec et al., 2003; Romano et al., 2003; Torija et al., 2003; Hernández-Orte et al., 2005; Furdíková et al., 2007; Beltran et al., 2008). Pored kvasaca na sastav aromatičnih materija veliki uticaj imaju suplementi na bazi azota koji se dodaju širi (Hernandez-Orte et al., 2005; Hernández-Orte et al., 2006; Carrau et al., 2008; Garde-Cerdán et al., 2008; Torrea et al., 2011; Vilanova et al., 2012).

U tabelama 12 i 13 prikazan je sadržaj aromatičnih jedinjenja u vinima sorti Krstač i Žižak, koja su dobijena primenom dva kvasca *Saccharomyces cerevisiae* (ICV D47) i *Saccharomyces bayanus*, i dodavanjem dva hraniva za kvasce fermaid E (amonijum + aminokiselinski suplement) i fermaid O (aminokiselinski suplement). U navedenim vinima GC/FID-MS analizom su detektovani alkoholi (aromatični, alifatični i C₆ alkoholi), etil estri, acetati, laktoni i kiseline. Estri, masne kiseline i njihovi estri, i viši alkoholi su glavna aromatična jedinjenja koja su povezana sa metabolizmom kvasca (Lambrechts i Pretorius, 2000). U vinima Krstača sadržaj aromatičnih jedinjenja se kretao u rasponu od 97,2 do 217,1 mg/l (Tabela 12), dok u vinima Žižka od 171,9 do 233,8 mg/l (Tabela 13). Prema Nurgel et al. (2002), primenom kvasca *Saccharomyces cerevisiae*, sadržaj aromatičnih jedinjenja u Emir vinima se kretao u rasponu od 115 do 165,6 mg/l.

U vinima Krstača i Žižka, gde je alkoholna fermentacija sprovedena kvascem *Saccharomyces cerevisiae* i hranivima za kvasce E i O (ICV E, ICV O), sadržaj aromatičnih jedinjenja je bio viši, u odnosu na vina koja su dobijena primenom kvasca *Saccharomyces bayanus* i istih hraniva (Bay E, Bay O). Kada viši alkoholi nisu uključeni u sadržaj ukupnih aromatičnih jedinjenja, zapaža se da su primenom dva kvasca i dva hraniva, najvišu koncentraciju aromatičnih materija imali uzorci vina K Bay E i Z Bay E (Grafik 10). Ova vina su dobijena dodavanjem kvasca *Saccharomyces bayanus* i hraniva za kvasce fermaid E. Antonelli et al. (1999) ističe da je kvasac *Saccharomyces bayanus* proizvodio više aromatičnih jedinjenja nego drugi sojevi kvasaca *Saccharomyces cerevisiae* (kada viši alkoholi nisu uključeni). Primenom amonijačnog (Fermaid E) i aminokiselinskog azotnog suplementa (Fermaid O), beleži se statistički značajna razlika u sadržaju svih aromatičnih jedinjenja ($p < 0,05$) vina sorte Žižak, kada fermentaciju izvodi kvasac *Saccharomyces bayanus* (Tabela 13).



Grafik 10. Sadržaj ukupnih aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Krstača i Žižka [*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus*, fermaid E i fermaid O (nisu uključeni viši alkoholi)]

Tabela 12. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Krstača, dobijenih primenom različitih kvasaca (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus*), i hraniva za kvasce (fermaid E, fermaid O)

Jedinjenja	K Ctrl	K ICV E	K ICV O	K Bay E	K Bay O
1-Heksanol	761,0	676,0	495,7	512,0	258,3
3-Heksen-1-ol	nd	nd	nd	nd	nd
Izobutil alkohol	5019,7	5360,6	2831,6	3660,4	2218,8
Izoamil alkohol	120079,9	114633,1	71558,2	91048,8	55021,1
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	t	t	302,5	489,1	t
2,3 Butandiol	t	205,1	1200,7	1531,3	720,9
3-(Metiltio)-1-Propanol	375,0	185,4	t	t	115,7
2-Feniletil alkohol	66465,8	39713,2	30577,7	28476,2	24771,0
Ukupni alkoholi	200831,4	168903,4	115096,4	133847,8	91235,8
Etil butirat	1021,5	2366,6	t	t	t
Etil heksanoat	250,2	401,0	973,6	1101,2	332,5
Etil 3-heksenoat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil (S)-(-) laktat	968,1	1045,2	432,0	670,7	293,7
Etil oktanoat	145,6	244,5	1664,6	1755,9	679,9
Etil 3-hidroksibutirat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil dekanoat	134,6	206,3	350,1	364,4	178,4
Dietil sukcinat	832,8	718,4	93,9	106,9	122,9
Etil 9-decenoat	nd	nd	217,0	202,0	t
Etil 4-hidroksibutanoat	955,0	572,0	1207,9	1052,5	t
Dietil hidroksibutandioat	269,0	96,1	102,7	168,2	t
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	nd	t	230,1	t	nd
Etil hidrogen sukcinat	1470,5	1338,4	t	t	t
Izoamil acetat	702,0	2129,6	2458,3	3906,7	797,2
Heksil acetat	t	nd	t	181,0	nd
1,3-Propandiol diacetat	201,4	266,9	307,5	352,1	191,3
2-Feniletil acetat	368,6	490,4	578,1	695,9	314,7
γ -Butirolakton	1248,7	881,0	1210,9	1412,9	434,5
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	8568,0	10756,4	9826,7	11970,4	3345,1
Heksanska kiselina	2134,4	3081,7	4244,4	4396,8	t
Oktanska kiselina	4048,1	5184,1	9959,5	10242,5	2602,9
Dekanska kiselina	560,1	671,0	1984,4	2372,4	t
Izobuterna kiselina	t	240,6	220,3	258,4	t
9-Decenska kiselina	924,3	248,0	307,4	nd	nd
Ukupne kiseline	7666,9	9425,4	16716,0	17270,1	2602,9
Ukupna aromatična jedinjenja	217066,3	189085,2	141639,1	163088,3	97183,8

Skraćenice: Krstač vina [kontrola (K Ctrl), *Saccharomyces cerevisiae*, fermaid E (K ICV E), *Saccharomyces cerevisiae*, fermaid O (K ICV O), *Saccharomyces bayanus*, fermaid E (K Bay E), *Saccharomyces bayanus*, fermaid O (K Bay O)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

Tabela 13. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Žižka, dobijenih primenom različitih kvasaca (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus*), i hraniva za kvasce (fermaid E, fermaid O)

Jedinjenja	Z Ctrl	Z ICV E	Z ICV O	Z Bay E ^{a*}	Z Bay O ^{a*}
1-Heksanol	368,1	441,3	455,5	564,7	569,8
3-Heksen-1-ol	nd	nd	nd	nd	nd
Izobutil alkohol	6265,0	6146,5	6602,3	4722,0	4788,7
Izoamil alkohol	123600,7	114934,6	132587,8	108177,2	98990,6
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	t	t	t	t	t
2,3 Butandiol	2206,2	1282,1	2633,7	1928,0	1112,7
3-(Metiltio)-1-Propanol	141,1	144,2	214,6	196,7	159,1
2-Feniletil alkohol	42312,7	43170,5	55566,4	36873,9	32236,8
Ukupni alkoholi	183023,8	174249,2	206190,3	160592,5	145987,7
Etil butirat	1671,2	2298,7	t	t	1425,9
Etil heksanoat	504,1	536,1	960,2	1129,8	648,4
Etil 3-heksenoat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil (S)-(-) laktat	204,0	337,4	241,1	369,7	319,7
Etil oktanoat	248,3	258,4	1697,3	2234,8	316,2
Etil 3-hidroksibutirat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil dekanat	224,9	240,8	449,2	747,2	294,3
Dietil sukcinat	844,2	819,7	t	103,4	491,0
Etil 9-decenoat	t	t	240,7	407,6	t
Etil 4-hidroksibutanoat	1452,1	1372,8	1784,3	3566,9	2582,7
Dietil hidroksibutandioat	47,8	105,5	188,0	178,4	44,0
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	t	t	t	nd	t
Etil hidrogen sukcinat	762,7	2551,2	t	t	1243,3
Izoamil acetat	1320,0	1757,0	1980,3	2470,7	1509,0
Heksil acetat	t	t	202,4	t	t
1,3-Propandiol diacetat	219,6	256,7	307,4	263,6	213,3
2-Feniletil acetat	215,7	378,3	489,3	355,2	275,7
γ -Butirolakton	804,1	843,5	985,3	1844,6	1225,3
Ukupni etil estri, acetati i laktone	8518,7	11756,1	9525,5	13671,9	10588,8
Heksanska kiselina	3475,7	4072,7	4159,8	4772,2	4424,3
Oktanska kiselina	6152,6	8071,4	8532,3	11484,0	8758,8
Dekanska kiselina	870,4	1137,2	2834,5	2940,9	1375,6
Izobuterna kiselina	665,5	575,0	374,1	343,5	354,8
9-Decenska kiselina	829,2	1542,3	2140,5	554,6	441,3
Ukupne kiseline	11993,4	15398,6	18041,2	20095,2	15354,8
Ukupna aromatična jedinjenja	203535,9	201403,9	233757,0	194359,6	171931,3

a*- statistički značajna razlika u sadržaju svih detektovanih aromatičnih jedinjenja ($p < 0,05$) između uzoraka Z Bay E i Z Bay O.

Skraćenice: Žižak vina [kontrola (Z Ctrl), *Saccharomyces cerevisiae*, fermaid E (Z ICV E), *Saccharomyces cerevisiae*, fermaid O (Z ICV O), *Saccharomyces bayanus*, fermaid E (Z Bay E), *Saccharomyces bayanus*, fermaid O (Z Bay O)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd)

Alkoholi: Istraživači ističu značaj izvođenja alkoholne fermentacije na niskim temperaturama, jer se dobijaju bela vina sa izraženijim aromatskim profilom (Torija et al., 2003; Beltran et al., 2008). Prema Toriju et al. (2003), koncentracija isparljivih jedinjenja vina zavisi od temperature alkoholne fermentacije i od soja kvasca. Više koncentracije isparljivih jedinjenja su bile u vinima gde je temperatura alkoholne fermentacije bila niža (Torija et al. 2003). Ako je temperatura fermentacije niža, dolazi do smanjenja fuzelnih alkohola a povećanja sadržaja acetatnih estara fuzelnih alkohola, masnih kiselina i njihovih odgovarajućih etil estara (Beltran et al., 2008). U ovom eksperimentu alkoholna fermentacija se odvijala na nižoj temperaturi (15°C).

Viši alkoholi mogu se sintetisati tokom alkoholne fermentacije šire, pod uticajem kvasaca i to transformišući aromatične prekursori koji su prisutni u širi ili proizvodnjom novih aromatičnih jedinjenja (Romano et al., 2003). Nastaju kroz dva mehanizma: katabolički put preko odgovarajućih aminokiselina i anabolički put preko ugljenih hidrata (Lambrechts i Pretorius, 2000; Li et al., 2008; Mendes-Ferreira et al., 2011). Pod uticajem različitih kvasaca mogu se proizvoditi različita vina kao posledica različitog sastava šire, dok je kvalitet vina rezultat uzajamnog dejstva između sastava šire i kvasca (Romano et al., 2003).

Na niskoj temperaturi alkoholne fermentacije, formirao se povoljan sadržaj viših alkohola koji je bio ispod 300 mg/l, što doprinosi kvalitetu belih vina Krstača i Žižka. Viši alkoholi u koncentracijama ispod 300 mg/l, sigurno doprinose poželjnoj složenosti vina, dok iznad 400 mg/l mogu prouzrokovati nepoželjnu aromu vina (Rapp i Versini, 1995). Oni predstavljaju sporedne proizvode alkoholne fermentacije i važna su komponenta arome vina (Furdíková et al., 2007). Od koncentracije viših alkohola zavisi kvalitet belih vina (Herjavec et al., 2003), dok su njihovi prekursori aminokiseline prisutne u širi (Furdíková et al., 2007).

Sadržaj izoamil alkohola i 2-feniletil alkohola je bio najviši u vinima Krstača i Žižka, što je u skladu sa rezultatima istraživanja vina drugih sorti grožđa (Nurgel et al., 2002, Herjavec et al., 2003). Najviše koncentracije viših alkohola u vinima Krstača imala je kontrola, pa zatim vina koja su dobijena dodavanjem startnih kultura kvasaca (Tabela 12), što je u skladu sa istraživanjima Herjavec et al. (2003) i Nurgel et al. (2002). U vinima Krstača sadržaj ukupnih alkohola se kretao u rasponu od 91,2 do 200,8 mg/l, respektivno, dok u vinima Žižka od 146,0 do 206,2 mg/l (Tabela 13).

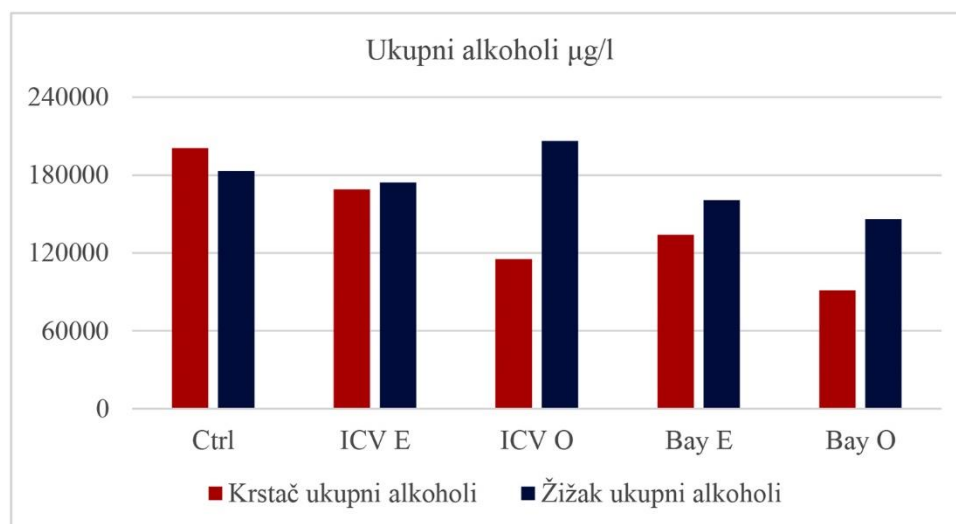
Kvasac *Saccharomyces cerevisiae* (ICV D47) stvarao je višu koncentraciju viših alkohola, u odnosu na *Saccharomyces bayanus*, što je u skladu sa istraživanjima Antonelli et al. (1999). Kada se porede različiti kvasci i ista hraniva, sadržaj viših alkohola bio je viši u uzorcima vina Krstača i Žižka (ICV E i ICV O), nego u Bay E i Bay O. Primenom različitih kvasaca i hraniva za kvasce, u vinima Krstača i Žižka nije došlo do značajnih promena u koncentracijama 1-heksanola. To je očekivano, s obzirom da se ova jedinjenja formiraju iz masnih kiselina (Antoneli et al., 1999), u prefermentativnoj fazi. Primenom kvasaca *Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces bayanus* i fermaida E i O, snizio se sadržaj izoamil alkohola u svim vinima Krstača i Žižka, u odnosu na kontrolu (osim Z ICV O).

U uzorcima vina Krstača i Žižka, koja su dobijena dodavanjem kvasca *Saccharomyces bayanus* i hraniva za kvasce fermaid E i O, niža je koncentracija izobutil i 2-feniletil alkohola nego u kontroli (tabela 12 i 13). Prema literaturi, vina koja su dobijena spontanom fermentacijom imala su duplo viši sadržaj 2-feniletil alkohola, nego vina koja su dobijena dodavanjem kultivisanih kvasaca (Herjavec et al., 2003). Hernández-Orte et al. (2005) ističu da je dodavanje suplemenata na bazi azota uticalo na snižavanje koncentracija 2-feniletil alkohola, izoamil alkohola i metionola. Takođe, Bell i Henschke (2005) su naveli da suplemantacija azotom dovodi do snižavanja koncentracija viših alkohola.

Na osnovu rezultata (Tabele 12 i 13) se uočava da vina Krstača i Žižka koja su dobijena dodavanjem kvasca *Saccharomyces cerevisiae* i hraniva za kvasce fermaid E (ICV E) su imala više koncentracije izoamil alkohola, 2-feniletil i izobutil alkohola, u odnosu na vina koja su proizvedena

dodavanjem kvasca *Saccharomyces bayanus* i istog hraniva za kvasce (Bay E). Pored toga, sva vina Krstača i Žižka koja su dobijena alkoholnom fermentacijom sa kvascem *Saccharomyces cerevisiae* i hranivom za kvasce fermaid O, imala su više koncentracije navedenih alkohola, u odnosu na vina gde je primenjen kvasac *Saccharomyces bayanus* i isto hranivo. To nam govori da kvasac *Saccharomyces cerevisiae* sintetiše viši sadržaj izoamil alkohola, 2-feniletil i izobutil alkohola, u odnosu na kvasac *Saccharomyces bayanus*. Kvasci mogu biti veći ili manji proizvođači viših alkohola što je individualna karakteristika kvasaca (Guidici et al., 1990). Antonelli et al. (1999) navode da su kvasci *Saccharomyces bayanus* bili glavni proizvođači 2-feniletil alkohola, što nije u saglasnosti sa našim istraživanjima.

Primećeno je, da se dodavanjem fermaida E stvarao viši sadržaj viših alkohola u vinima Krstača, u odnosu na primenu aminokiselinskog hraniva kod oba kvasca (*Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces bayanus*) (Grafik 11). Kod Žižka, najviše koncentracije viših alkohola je imao uzorak Z ICV O, dok primenom kvasca *Saccharomyces bayanus* viši sadržaj viših alkohola je imao uzorak gde se dodavao fermaid E. Na osnovu svih ovih rezultata možemo konstantovati da je hranivo za kvasce fermaid E uticalo na stvaranje višeg sadržaja viših alkohola, u odnosu na aminokiselinsko hranivo.



Grafik 11. Sadržaj ukupnih alkohola (µg/l) u vinima Krstača i Žižka (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus*, fermaid E, fermaid O)

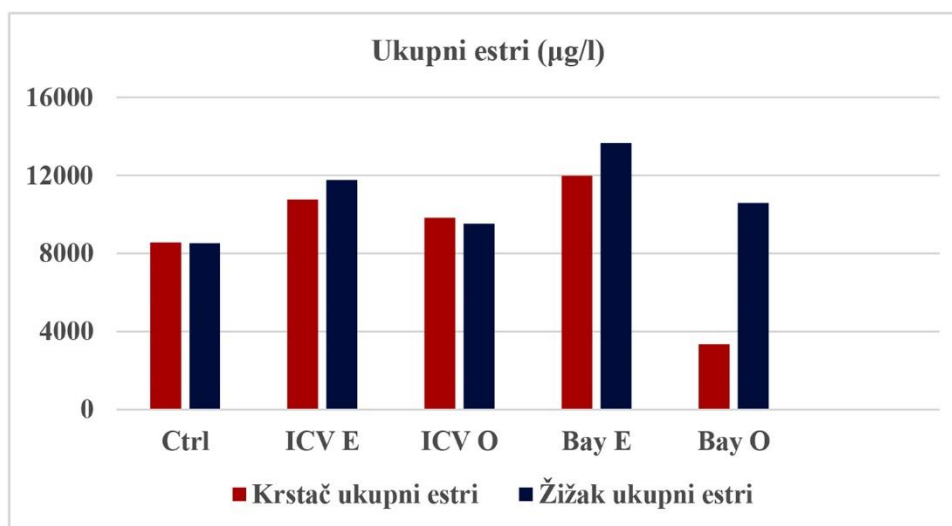
Estri: S obzirom da se alkoholna fermentacija izvodila na niskoj temperaturi (15°C), u vinima Krstača i Žižka koncentracija etil estara i acetata je bila značajna. Estri su grupa isparljivih jedinjenja u vinu koja su uglavnom prijatnog mirisa (Lambrechts i Pretorius, 2000; Mendes-Ferreira et al, 2011). Najviše koncentracije estara u navedenim vinima su imali etil butirac, etil estri masnih kiselina (C₆, C₈, C₁₀), etil 4-hidroksibutanoat, etil laktat, etil hidrogen sukcinat, dietil sukcinat. Najvažniji acetati su izoamil acetat, 2-feniletil acetat i 1,3-propandiol diacetat. Primenom dva kvasca i dva hraniva za kvasce došlo je do porasta koncentracija ukupnih estara kod svih vina Krstača i Žižka (osim K Bay O), u odnosu na kontrolu. U vinima Krstača ukupna koncentracija estara se kretala u rasponu od 3,3 do 12,0 mg/l (3,44 % do 7,34 % od ukupnog sadržaja aromatičnih jedinjenja), dok u vinima Žižka od 9,5 do 13,7 mg/l (4,07 % do 7,03 % od ukupnog sadržaja aromatičnih jedinjenja). Prema literaturi, sadržaj ukupnih estara u Šardone suvom vinu je bio 5,8 mg/l (Li et al., 2008), što je u skladu sa našim istraživanjima.

Dodavanjem fermaida E i primenom dva različita kvasca *Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces bayanus*, beležila se statistički značajna razlika u sadržaju etil estara, acetata i laktona (p < 0,05) u vinima Krstača (K ICV E i K Bay E). Pored toga, primenom aminokiselinskog hraniva

fermaida O i navedenih kvasaca, zabeležena je statistički značajna razlika u pogledu sadržaja etil estara, acetata i laktona ($p < 0,05$) između vina sorte Krstač (K ICV O i K Bay O). Na osnovu rezultata možemo konstantovati da na stvaranje različitih koncentracija etil estara i acetata, značajan uticaj je imao kvasac koji je primenjen u eksperimentu, što je u skladu sa prethodnim istraživanjima gde su se za proizvodnju vina koristile druge sorte grožđa (Antonelli et al., 1999; Eglinton et al., 2000; Nurgel et al., 2002; Torija et al., 2003).

Na osnovu rezultata može se zaključiti da je kvasac *Saccharomyces bayanus* proizvodio viši sadržaj etil estara, acetata i laktona, u odnosu na *Saccharomyces cerevisiae* (osim K Bay O) (Grafik 12). Sva vina Žižka i Krstača koja su dobijena fermentacijom šire sa kvascem *Saccharomyces bayanus* uz dodavanje fermaida E (Bay E), imala su viši sadržaj etil estara masnih kiselina srednjeg lanca (C_6 , C_8 , C_{10}), etil 4-hidroksibutanoata, dietil hidroksibutandioata, izoamil acetata i γ -butirolaktona, u odnosu na uzorke ICV E. Pored toga, vino Žižka gde se za alkoholnu fermentaciju šire koristio *Saccharomyces bayanus* uz dodavanje fermaida O, imao je viši sadržaj etil butirata, etil laktata, dietilsukcinata, etil hidrogen sukcinata, γ -butirolaktona, u odnosu na uzorak ICVO. Upotrebom aminokiselinskog hraniva fermaida O i kvasca *Saccharomyces cerevisiae* (ICV O) tokom alkoholne fermentacije šire Krstača i Žižka, zapažaju se više koncentracije etil estara masnih kiselina srednjeg lanca (C_6 , C_8 , C_{10}), etil 9-decenoata, dietil hidroksibutandioata, izoamil acetata, 1,3 propandiol diacetata i 2-feniletal acetata, u odnosu na vina gde je za fermentaciju šire upotrebljen kvasac *Saccharomyces bayanus* (Bay O). Na osnovu ovoga se može zaključiti da pojedino hranivo za kvasce naglašava različite karakteristike kvasaca, što je u skladu sa istraživanjima Hernández-Orte et al. (2005).

Podaci u literaturi pokazuju da je *Saccharomyces bayanus* proizvodio više koncentracije acetata (Antoneli et al., 1999; Eglinton et al. 2000) i etil laktata (Antoneli et al., 1999), dok *Saccharomyces cerevisiae* sintetisao više koncentracije acetata i etil estara masnih kiselina (Torija et al., 2003). Nurgel et al. (2002) ističu da su se dodavanjem komercijalnih kvasaca povećavali sadržaji 2-feniletal acetata i etil oktanoata na nižim temperaturama fermentacije.



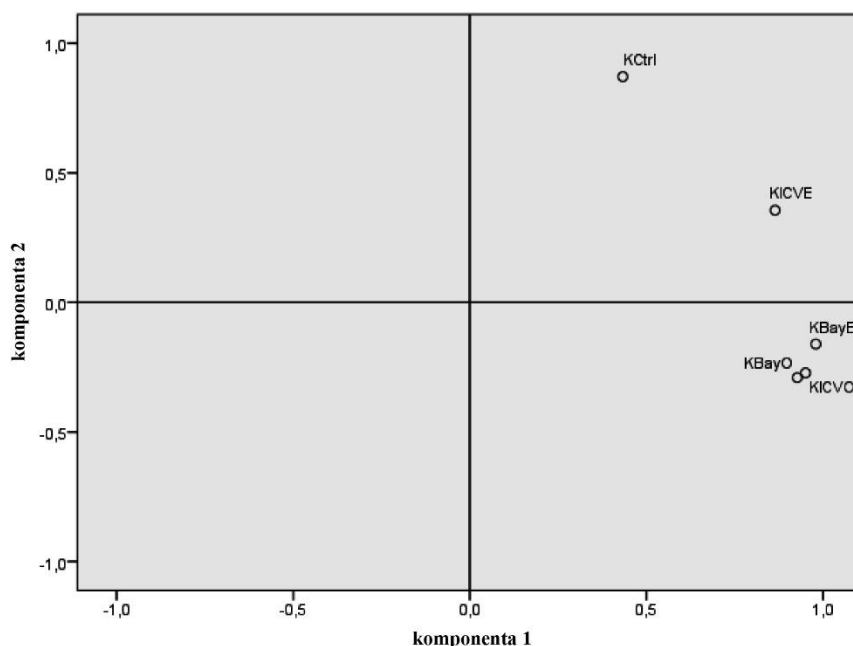
Grafik 12. Sadržaj ukupnih estara ($\mu\text{g/l}$) u vinima Krstača i Žižka (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus*, fermaid E, fermaid O)

Primenom fermaida E i fermaida O, beležila se statistički značajna razlika u sastavu etil estara, acetata i laktona vina sorti Krstač i Žižak ($p < 0,05$), kada alkoholnu fermentaciju izvodi kvasac *Saccharomyces bayanus*. Pored toga, sadržaj estara je statistički značajno viši ($p < 0,05$) u uzorcima Z ICV O i Z Bay E, u odnosu na kontrolu. Na osnovu t-testa možemo zaključiti da primena hraniva

za kvasce fermaida E i O su statistički značajno uticali na sadržaj estara, laktona i acetata. Dejstvo suplemenata na bazi amonijuma bi se moglo objasniti povećanim kapacitetom kvasca da transformiše sintetizovane α -keto kiseline, dok dodavanjem aminokiselina širi dolazi do povećanja katabolizma koji može dovesti do promene aromatičnog profila (Hernández-Orte et al., 2005). Vina koja su dobijena fermentacijom šire sa dodavanjem fermaida E imaju viši sadržaj etil laktata, što je u skladu sa istraživanjima Hernández-Orte et al. (2005). Oni su istakli da su vina koja su dobijena fermentacijom šire, uz dodavanje suplemenata na bazi amonijuma, bogatija u sadržaju etil laktata. Dodavanje suplemenata na bazi azota dovodi do povećanja sadržaja etil estara masnih kiselina srednjeg lanca (Garde-Cerdán et al., 2008; Saerens et al., 2008; Torrea et al., 2011) i porasta sadržaja acetatnih estara (Bell i Henschke, 2005; Garde-Cerdán et al., 2008).

Rezultati dobijeni u eksperimentu (primena različitih kvasaca i suplemenata za kvasce), na sadržaj etil estara, acetata i laktona u vinima Krstača, ispitivani su metodom redukcije faktora (Principal Component Analysis). Bartlettov test sferičnosti (Bartlett's test of sphericity) je statistički značajan ($p < 0,05$), što opravdava primenu PCA analize. Izdvojene su dve komponente, što je potvrđeno Katelovim kriterijumom, gde su se na grafiku izdvojile dve tačke iznad kolena na dijagramu prevoja.

Primenjena je analiza bez rotacije jer najbolje opisuje varijabilnost novih komponenata (Slika 15). Prva komponenta objašnjava 73,15 % varijabiliteta a druga dodatnih 21,38 %, dok obe zajedno objašnjavaju 94,53 % varijanse. Najveći uticaj na količinu stvorenih estara imali su kvasac *Saccharomyces bayanus* i hranivo fermaid E, zatim kvasac *Saccharomyces cerevisiae* i aminokiselinsko hranivo fermaid O, dok je kontrola bila od manjeg značaja. Na grafiku su jasno razdvojena vina K Bay E i K ICV O (komponenta 1) od kontrole koja se nalazi u komponenti 2.

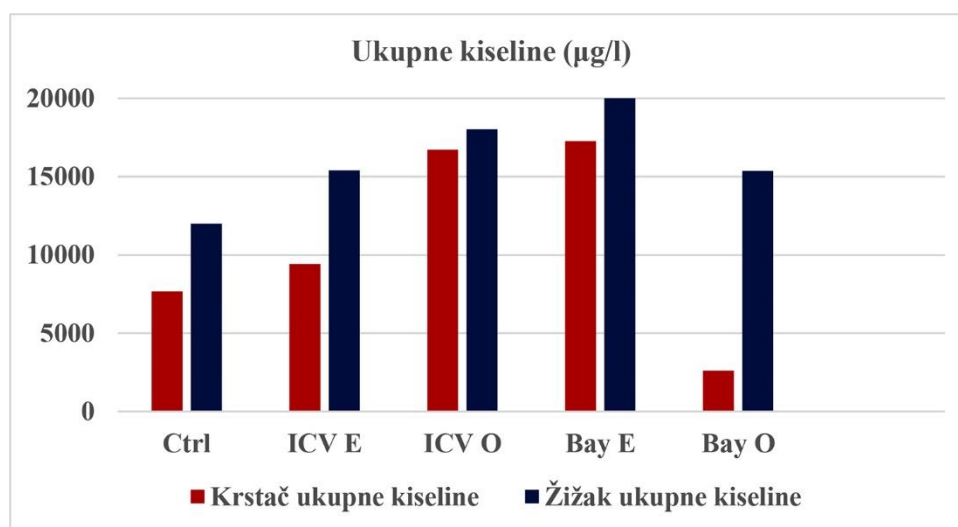


Slika 15. Grupisanje vina Krstača (ICV E, ICV O, Bay E, Bay O) na osnovu etil estara, acetata i laktona

Kiseline: Vina Krstača i Žižka, koja su dobijena fermentacijom šira uz dodavanje kvasaca *Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces bayanus* i suplemenata za kvasce (fermaid E i fermaid O), imala su više koncentracije ukupnih kiselina (Grafik 13), heksanske, oktanske i dekanske kiseline, u odnosu na kontrolu (osim K Bay O). Herjavec et al. (2003) navode u svojim studijama da je soj kvasca *Saccharomyces cerevisiae* proizvodio višu koncentraciju heksanske kiseline, u odnosu na

kontrolu, dok je šira koja je fermentisana kvascem imala više koncentracije masnih kiselina srednjeg lanca (heksanske, oktanske i dekanske kiseline) (Hernández-Orte et al., 2005).

Primenom aminokiselinskog suplementa fermaida O i kvasca *Saccharomyces cerevisiae* (ICV O), beleži se statistički značajna razlika u sastavu svih kiselina ($p < 0,05$) vina sorte Žižak, u odnosu na kontrolu. Dodavanjem fermaida E tokom fermentacije šire, *Saccharomyces bayanus* je proizvodio višu koncentraciju heksanske, oktanske i dekanske kiseline, u odnosu na *Saccharomyces cerevisiae*. Suprotno od naših istraživanja, Torija et al (2003) su naveli da je na nižim temperaturama *Saccharomyces cerevisiae* proizvodio više kiselina srednjeg lanca u odnosu na *Saccharomyces bayanus*. Kada se uporede hraniva za kvasce fermaid E i fermaid O, *Saccharomyces bayanus* je uz dodavanje suplementa fermaid E stvarao viši sadržaj heksanske, oktanske, dekanske i 9-decenske kiseline u svim uzorcima vina Krstača i Žižka. Pored toga, primećeno je da je *Saccharomyces cerevisiae* uz dodavanje fermaida O sintetisao višu koncentraciju heksanske, oktanske, dekanske i 9-decenske kiseline u svim uzorcima vina Krstača i Žižka (grafik 13).



Grafik 13. Sadržaj ukupnih kiselina ($\mu\text{g/l}$) u vinima Krstača i Žižka (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus*, fermaid E, fermaid O)

5.7. Dinamika pojedinih aromatičnih jedinjenja tokom alkoholne fermentacije šire sorti Krstač i Žižak

Postoji dovoljno radova gde su istraživane kinetike ekstrakcije pojedinih polifenolnih jedinjenja tokom alkoholne fermentacije, prilikom proizvodnje crvenih vina (Petrović et al., 2012; Petrović et al., 2019; Lisov et al., 2020). Pored toga, dosta su se ispitivala polifenolna jedinjenja u crvenim vinima autohtonih sorti vinove loze Vranac (Šćepanović et al., 2019). Nasuprot tome, kod proizvodnje belih vina nije dovoljno istraživana dinamika aromatičnih jedinjenja tokom alkoholne fermentacije. Koncentracije aromatičnih jedinjenja tokom alkoholne fermentacije (1, 3, 5, 7, 10 dan) su prikazane u tabelama 14 i 15. Alkoholna fermentacija šire sorte Krstač je trajala 10 dana dok je za Žižak trajala 12 dana.

Alkoholi: Viši alkoholi, estri i masne kiseline su aromatična jedinjenja koja nastaju metabolizmom kvasca (Lambrechts i Pretorius, 2000). Viši alkoholi predstavljaju sekundarne proizvode alkoholne fermentacije i u belim vinima su najzastupljenija jedinjenja (Lambrechts i Pretorius, 2000; Furdiková et al., 2007). 2-feniletil alkohol je aromatični alkohol dok u alifatične alkohole spadaju izoamil i izobutil alkohol. Izoamil alkohol je najdominantniji fuzelni alkohol koji je sintetizovan od strane kvasca (Lambrechts i Pretorius, 2000).

Kod vina koja su proizvedena od šire sorte Krstač, utvrđen je linearni porast koncentracija izobutil alkohola tokom alkoholne fermentacije (1,3,5,7,10 dan) (Grafik 15). Slična linearna zavisnost je utvrđena i za sortu Žižak (grafik 21). Postoji jaka korelaciona zavisnost, a koeficijenti korelacije su za sortu Krstač $R=0,9786$ (Grafik 15), i za Žižak $R=0,9680$ (Grafik 21). Kod izoamil alkohola postoji slabija korelaciona zavisnost porasta sadržaja sa trajanjem alkoholnog vrenja (grafici 16 i 22), u odnosu na izobutil alkohol. Koeficijent korelacije za sortu Krstač isnosio je $R=0,8815$ (Grafik 16), i za sortu Žižak $R=0,9586$ (Grafik 22). Brzine ekstrakcije izoamil alkohola za sorte Krstač i Žižak su slične i iznosile su $v=0,875 \mu\text{g/dan}$ i $v=0,759 \mu\text{g/dan}$, respektivno. Promena sadržaja 2,3 butandiola tokom alkoholne fermentacije kod sorte Krstač je linearno rasla, dok su brzine ekstrakcije za sorte Krstač i Žižak prikazane u tabeli 16.

Praćenjem kinetike ekstrakcije 2-feniletil alkohola i 3-(metiltio)-1-propanola (Grafici 18, 19, 24, 25), utvrđeno je da su sadržaji ovih jedinjenja imali eksponencijalni porast tokom alkoholne fermentacije. Maksimalna vrednost proizvodnje 2-feniletil alkohola se ostvarivala kod sorte Krstač sedmog dana alkoholnog vrenja ($27286,1 \mu\text{g/l}$) (Grafik 18), dok je kod sorte Žižak imala tendenciju porasta i nakon deset dana alkoholne fermentacije (Grafik 24). Maksimalna vrednost prelaska 3-(metiltio)-1-propanola ostvarena je devetog dana kod sorte Krstač ($329,3 \mu\text{g/l}$) (Grafik 19), dok je kod Žižka on imao trend porasta koncentracije (Grafik 25). Ovi podaci su u skladu sa rezultatima za 3-(metiltio)-1-propanol u roze vinima, gde se ovo jedinjenje formiralo na kraju alkoholne fermentacije (Fraile et al., 2000). Na osnovu korelacione analize, utvrđen je linearni porast ukupnih alkohola tokom alkoholne fermentacije za Krstač i Žižak ($R=0,9537$, $R=0,9561$) (Grafici 17 i 23). Brzine ekstrakcije ukupnih alkohola su iznosile za Krstač $v=0,949 \mu\text{g/dan}$ i za Žižak $v=1,529 \mu\text{g/dan}$ (Tabela 16). Dinamika ekstrakcije alkohola tokom alkoholne fermentacije je prikazana na graficima 14-25.

Na osnovu literaturnih podataka, formiranje viših alkohola (izoamil alkohol, izobutil alkohol i 2-feniletil alkohol) se odvija kasno tokom alkoholne fermentacije, posle potrošnje aminokiselina. Fraile et. al (2000) ističe da se sinteza viših alkohola može ostvariti iz odgovarajućih keto kiselina tokom biosinteze aminokiselina. Viši alkoholi u roze vinima se formiraju kada je utrošeno 75 do 100 % šećera (Fraile et al., 2000).

Estri: Rosi i Bertuccioli (1992) su utvrdili da postoji veza između sastava masnih kiselina ćelija kvasaca i migracije viših alkohola i masnih kiselina srednjeg lanca u širu. Utvrđeno je da sadržaji oktanske i dekanske kiseline ćelija kvasaca pozitivno korelišu sa sintezom etil oktanoata, etil dekanoata, izoamil acetata i masnih kiselina srednjeg lanca, tokom drugog dela alkoholne fermentacije (Rosi i Bertuccioli, 1992). Prema Baumes et al. (1986), a koje su citirali Lambrechts i Pretorius (2000), estre su na osnovu mirisa podelili u dve grupe: nepolarni estri (izoamil acetat, 2-feniletil acetat, etil oktanoat, etil butanoat i etil heksanoat) i polarne estre (dietil malat, dietil sukcinat, etil 4-hidroksibutanoat). Nepolarni estri su značajniji, prisutni su u nižim količinama i daju aromu, dok polarni estri više doprinose telu vina.

Prema Boulton et al. (1995), jedan od istaknutijih estara koje proizvode kvasci su: estri masnih kiselina srednjeg lanca (etil heksanoat, etil dekanoat i etil oktanoat), etil butanoat, izoamil acetat i 2-feniletil acetat. Etil heksanoat ima miris koji podseća na jabuku i ljubičicu, etil dekanoat ima cvetni miris dok etil oktanoat na ananas i krušku (Boulton et al., 1995). Koncentracije etil estra masnih kiselina srednjeg lanca ćelija kvasaca, dostižu maksimum između 48 i 72 h i nakon toga dolazi do opadanja ćelijskog sadržaja estara (Zea et al., 1994). Sa opadanjem unutarćelijskog sadržaja estara dolazi do porasta etil heksanoata u širi (Zea et al., 1994). Zea et al. (1994) zaključuju da je etil heksanoat dostigao maksimum nakon deset dana alkoholne fermentacije. Estri mogu nastati tokom metabolizma kvasca bilo od alkoholize acil-CoA ili ugljeničnih skeleta aminokiselina (Zea et al., 2000). Isti autori konstatuju, da se kod proizvodnje roze vina estri sintetišu u drugoj polovini alkoholne fermentacije.

Etil estri i acetati su važna aromatična jedinjenja koja nastaju tokom alkoholne fermentacije. Sadržaji etil estara (etil heksanoat, etil butirata) su linearno rasli tokom alkoholne fermentacije. Koeficijenti korelacije etil heksanoata kod Krstača i Žižka iznose $R=0,9751$ i $R=0,9904$ (Grafici 27 i 39), a etil butirata $R=0,9721$ i $R=0,9493$ (Grafici 31, 42), respektivno. Brzine ekstrakcije su prikazane u tabeli 16. Maksimalna vrednost prelaska izoamil acetata u širu Krstača, ostvarivala se šestog dana alkoholne fermentacije i iznosila je $584,5 \mu\text{g/l}$, dok je brzina ekstrakcije bila $0,675 \mu\text{g/dan}$ (Grafik 37). Posle šestog dana, koncentracija izoamil acetata se snizila.

Ovaj pad koncentracije bi mogao biti usled njegove hidrolize pod dejstvom esteraza (Mauricio et al., 1997). Mauricio et al. (1993) ističe da je aktivnost esteraza bila najviša na kraju alkoholne fermentacije. Koncentracija izoamil acetata kod Žižka je linearno rasla tokom alkoholne fermentacije (1,3,5,7,10 dan), dok je brzina ekstrakcije bila slična kao kod Krstača i iznosila je $0,748 \mu\text{g/dan}$ (Tabela 16). Kod vina proizvedenih od šira sorti Krstač i Žižak, utvrđen je linearni porast koncentracija 1,3 propandiol diacetata tokom alkoholne fermentacije (Grafici 32 i 43). Koeficijenti korelacije su iznosili za sortu Krstač $R=0,9943$ (Grafik 32) a za Žižak $R=0,9120$ (Grafik 43). Brzine ekstrakcije su date u tabeli 16. Dinamika ekstrakcije alkohola i estara tokom alkoholne fermentacije je prikazana na graficima 14-49.

Tabela 14. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u širi Krstača tokom alkoholne fermentacije (prvi, treći, peti, sedmi, deseti dan)

Jedinjenja	K AF1D	K AF3D^{a*}	K AF5D	K AF7D^{a*}	K AF10D^{a*}
1-Heksanol	2390,2	2860,4	1742,2	2312,7	2224,3
3-Heksen-1-ol	nd	nd	nd	nd	nd
Izobutil alkohol	3569,2	10902,1	9093,8	12453,1	13881,2
Izoamil alkohol	29507,7	104574,8	109582,2	132673,9	142447,3
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	nd	nd	nd	t	t
2,3 Butandiol	110,0	107,8	t	128,5	t
3-(Metiltio)-1-Propanol	t	201,4	270,8	324,1	319,0
2-Feniletil alkohol	12738,8	21683,5	25161,5	26658,0	25124,7
Ukupni alkoholi	56445,9	148460,0	153980,5	182680,3	192126,5
Etil butirat	973,3	1748,5	1907,0	2423,6	2768,2
Etil heksanoat	75,0	200,5	169,2	140,3	149,2
Etil 3-heksenoat	1265,6	1154,9	433,3	202,1	nd
Etil (S)-(-) laktat	6778,0	7537,3	9302,5	9105,5	9285,4
Etil oktanoat	t	137,4	t	t	t
Etil 3-hidroksibutirat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil dekanat	t	181,4	t	182,4	134,5
Dietil sukcinat	640,7	2129,5	1858,7	1061,1	767,2
Etil 9-decenoat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil 4-hidroksibutanoat	279,1	1688,3	1201,8	1071,2	837,7
Dietil hidroksibutandioat	1131,0	192,0	133,5	32,2	48,4
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	209,5	151,6	t	t	t
Etil hidrogen sukcinat	1258,3	3097,8	5041,5	3775,2	1305,9
Izoamil acetat	42,3	473,6	579,3	486,1	398,7
Heksil acetat	nd	nd	nd	t	t
1,3-Propandiol diacetat	t	174,8	219,1	270,1	373,2
2-Feniletil acetat	nd	t	t	124,2	121,8
γ -Butirolakton	502,4	1834,7	2704,0	1334,3	1286,3
Ukupni estri, acetati i laktoni	13155,2	20702,3	23549,9	20208,3	17476,5
Heksanska kiselina	1066,0	2067,5	1721,6	1926,2	1785,6
Oktanska kiselina	664,5	2412,7	2263,1	3307,1	2729,1
Dekanska kiselina	nd	53,4	74,5	311,4	156,7
Izobuterna kiselina	176,1	188,4	187,1	190,6	215,8
9-Decenska kiselina	130,6	40,0	87,2	t	58,7
Ukupne kiseline	2037,2	4762,0	4333,5	5735,3	4945,9
Ukupna aromatična jedinjenja	71638,3	173924,3	181863,9	208623,9	214548,9

a*-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u sadržaju svih detektovanih aromatičnih jedinjenja kada se uporedi sa K AF1D.

Skraćenice: Šira Krstača [prvi dan alkoholne fermentacije (K AF1D); treći dan alkoholne fermentacije (K AF3D); peti dan alkoholne fermentacije (K AF5D); sedmi dan alkoholne fermentacije (K AF7D); deseti dan alkoholne fermentacije (K AF10D)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

Tabela 15. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u širi Žižka tokom alkoholne fermentacije (prvi, treći, peti, sedmi, deseti dan)

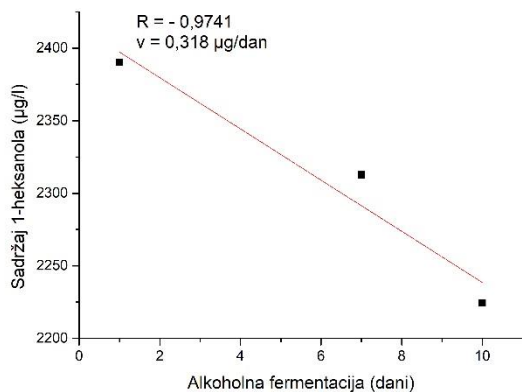
Jedinjenja	Z AF1D	Z AF3D	Z AF5D	Z AF7D	Z AF10D^{a*}
1-Heksanol	1381,2	1680,5	1628,6	1758,5	t
3-Heksen-1-ol	nd	nd	nd	nd	nd
Izobutil alkohol	8104,7	13078,9	15558,8	16493,1	20026,1
Izoamil alkohol	79756,9	116028,9	153428,3	159887,5	182474,1
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	nd	t	t	t	t
2,3 Butandiol	172,7	261,3	210,9	160,8	199,3
3-(Metiltio)-1-Propanol	165,6	261,2	323,9	375,3	428,9
2-Feniletil alkohol	26627,2	31672,5	37412,8	38498,4	40835,7
Ukupni alkoholi	124338,3	171113,3	216693,3	225303,6	252094,1
Etil butirat	944,5	1706,9	1790,1	2008,7	2428,0
Etil heksanoat	188,1	238,6	212,4	202,3	263,5
Etil 3-heksenoat	1272,3	765,2	445,3	160,6	222,9
Etil (S)-(-) laktat	9960,0	835,0	1323,9	1446,2	4888,5
Etil oktanoat	t	t	t	t	t
Etil 3-hidroksibutirat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil dekanat	t	t	t	134,3	156,1
Dietil sukcinat	738,6	599,6	839,6	770,8	1225,6
Etil 9-decenoat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil 4-hidroksibutanoat	2581,7	2868,1	2397,4	1428,6	1977,4
Dietil hidroksibutandioat	256,4	128,9	201,3	192,6	412,2
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	nd	nd	nd	t	nd
Etil hidrogen sukcinat	2601,2	1702,8	3168,2	2874,3	4648,6
Izoamil acetat	274,5	513,8	490,3	446,5	632,2
Heksil acetat	nd	t	t	t	t
1,3-Propandiol diacetat	102,3	163,2	165,6	188,4	202,2
2-Feniletil acetat	nd	t	t	t	84,5
γ -Butirolakton	3122,6	2712,4	2923,8	2330,5	2867,0
Ukupni estri, acetati i laktoni	22042,2	12234,5	13957,9	12183,8	20008,7
Heksanska kiselina	1467,9	1905,1	1876,9	2005,8	2134,3
Oktanska kiselina	2661,0	3062,6	2811,2	3288,5	3807,1
Dekanska kiselina	207,0	358,1	337,2	407,0	290,6
Izobuterna kiselina	350,3	326,2	351,8	325,0	406,0
9-Decenska kiselina	131,5	nd	nd	nd	nd
Ukupne kiseline	4817,7	5652,0	5377,1	6026,3	6638,0
Ukupna aromatična jedinjenja	151198,2	188999,8	236028,3	243513,7	278740,8

a*-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u sadržaju svih detektovanih aromatičnih jedinjenja kada se upoređi sa K AF7D.

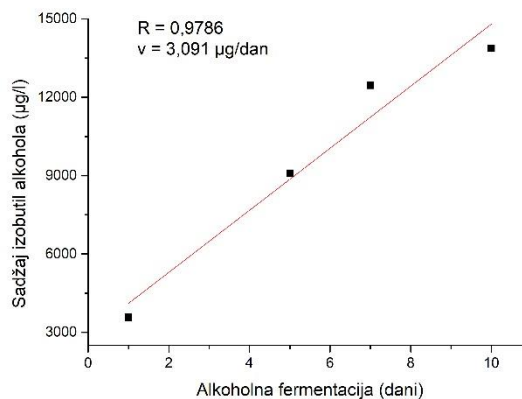
Skraćenice: Šira Žižka [prvi dan alkoholne fermentacije (Z AF1D); treći dan alkoholne fermentacije (Z AF3D); peti dan alkoholne fermentacije (Z AF5D); sedmi dan alkoholne fermentacije (Z AF7D); deseti dan alkoholne fermentacije (Z AF10D)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

Tabela 16. Dinamika aromatičnih jedinjenja tokom alkoholne fermentacije (Krstač, Žižak)

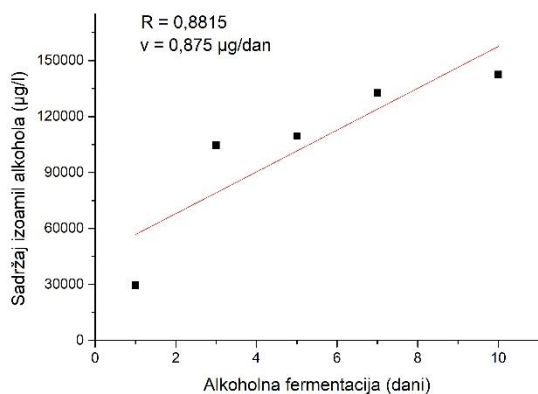
Jedinjenja	Krstač	Krstač	Krstač	Žižak	Žižak	Žižak
	Brzina ekstrak. (µg/dan)	Vreme maks. ekstrak. (dan)	Sadržaj maks. ekstrak. (µg/l)	Brzina ekstrak. (µg/dan)	Vreme maks. ekstrak. (dan)	Sadržaj maks. ekstrak. (µg/l)
1-Heksanol	0,318			1,940		
3-Heksen-1-ol						
Izobutil alkohol	3,091			0,644		
Izoamil alkohol	0,875			0,759		
4-Metil-1-Pentanol						
3-Etoksi-1-Propanol						
2,3 Butandiol	0,059			0,469		
3-(Metiltio)-1-Propanol	0,150	9	329,3	0,734	10	428,9
2-Feniletil alkohol	0,494	7	27286,1	1,014	10	40835,7
Ukupni alkoholi	0,949			1,529		
Etil butirat	0,199			0,641		
Etil heksanoat	0,269			0,148		
Etil 3-heksenoat	0,279			0,839		
Etil (S)-(-) laktat	2,376			2,122		
Etil oktanoat						
Etil 3-hidroksibutirat						
Etil dekanat	0,111					
Dietil sukcinat	0,538			0,659		
Etil 9-decenoat						
Etil 4-hidroksibutanoat	2,266			2,454		
Dietil hidroksibutandioat	0,361			0,863		
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat						
Etil ester 4-etoksi benzoeva kiselina						
Etil hidrogen sukcinat	2,541	5	4024,3	2,693		
Izoamil acetat	0,675	6	584,5	0,748		
Heksil acetat						
1,3-Propandiol diacetat	0,541			0,176		
2-Feniletil acetat						
γ-Butirolakton	0,707	6	2738,3	1,337		
Ukupni etil estri, acetati i laktani	0,620	6	24286,8	1,178		
Heksanska kiselina	0,758	8	1894,4	2,050		
Oktanska kiselina	3,658			1,950		
Dekanska kiselina	0,269			0,661		
Izobuterna kiselina	0,067			0,200		
9-Decenska kiselina	0,138			-		
Ukupne kiseline	2,789			0,065		
Ukupna aromatična jedinjenja	0,455	9	217273,2	0,790		



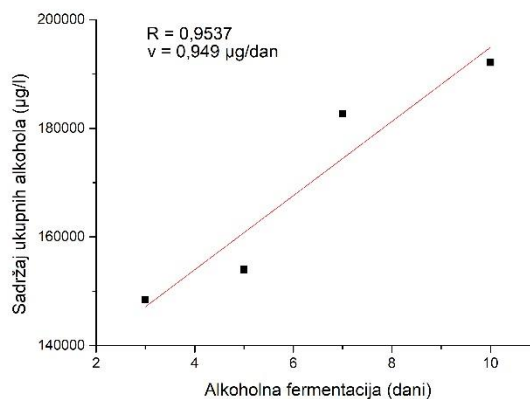
Grafik 14. Dinamika ekstrakcije 1-heksanola tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



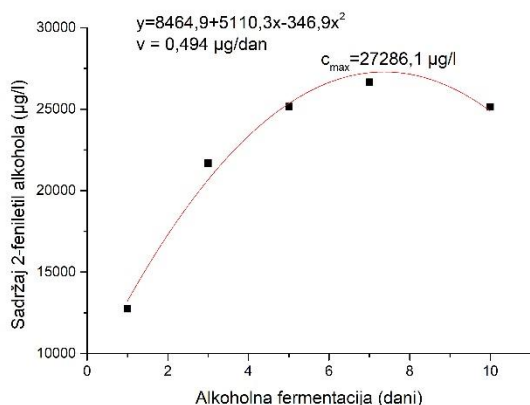
Grafik 15. Dinamika ekstrakcije izobutil alkohola tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



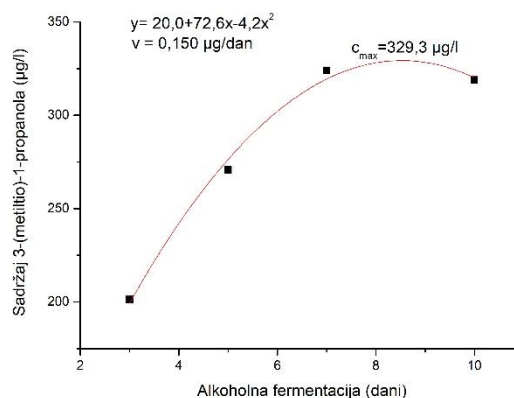
Grafik 16. Dinamika ekstrakcije izoamil alkohola tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



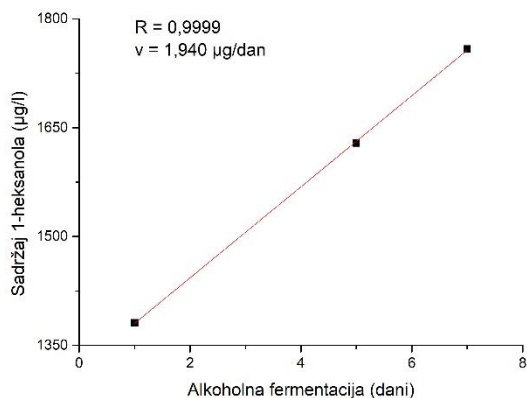
Grafik 17. Dinamika ekstrakcije ukupnih alkohola tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



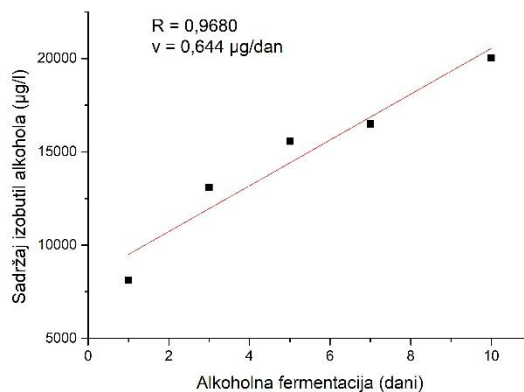
Grafik 18. Dinamika ekstrakcije 2-feniletil alkohola tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



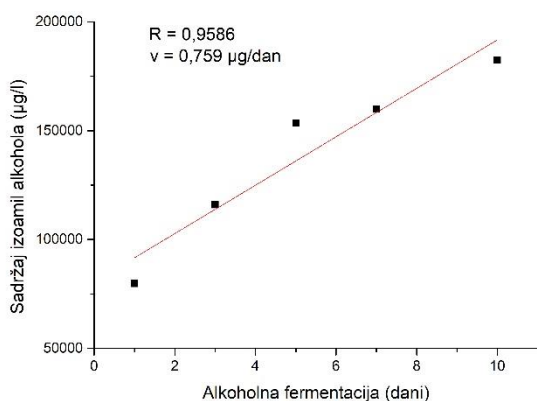
Grafik 19. Dinamika ekstrakcije 3-(metiltilo)-1-propanola tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



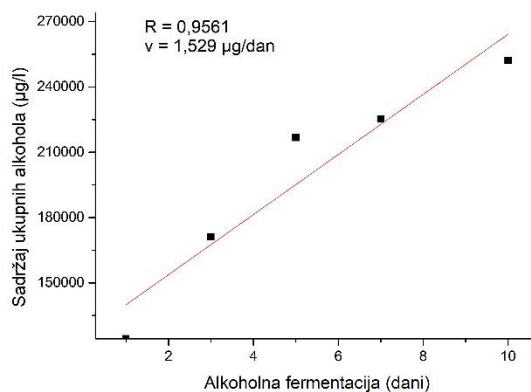
Grafik 20. Dinamika ekstrakcije 1-heksanola tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



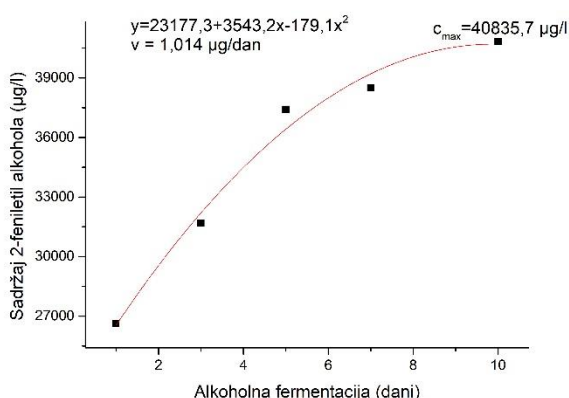
Grafik 21. Dinamika ekstrakcije izobutil alkohola tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



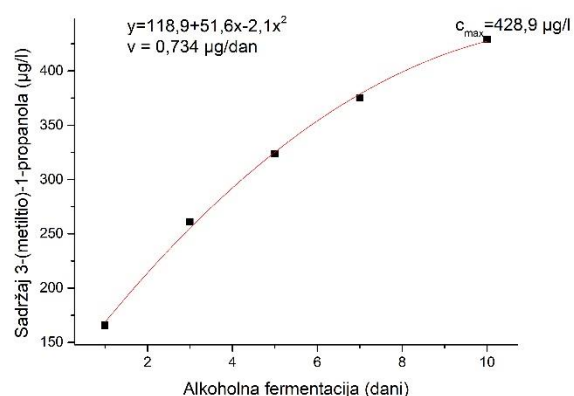
Grafik 22. Dinamika ekstrakcije izoamil alkohola tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



Grafik 23. Dinamika ekstrakcije ukupnih alkohola tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



Grafik 24. Dinamika ekstrakcije 2-feniletil alkohola tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



Grafik 25. Dinamika ekstrakcije 3-(metilitio)-1-propanola tokom alkoholne fermentacije šire Žižka

Primećeno je da su se koncentracije etil 3-heksenoata i etil 4-hidroksibutanoata snižavale tokom alkoholne fermentacije šira sorti Krstač i Žižak. Koncentracije etil 3-heksenoata su linearno opadale (Grafik 28), dok kod Žižka su imale eksponencijalni trend (Grafik 40). Brzine ekstrakcije su prikazane u tabeli 16. Koncentracije etil 4-hidroksibutanoata su linearno opadale kod Krstača i Žižka (Grafici 34, 45), a brzine ekstrakcije su iznosile $v=2,266 \mu\text{g/dan}$ i $v=2,454 \mu\text{g/dan}$, respektivno. Koncentracije etil laktata su linearno rasle tokom alkoholne fermentacije Krstača i Žižka a brzine ekstrakcije su bile slične i iznosile su $v=2,376 \mu\text{g/dan}$ i $v=2,122 \mu\text{g/dan}$, respektivno (Grafici 26, 38).

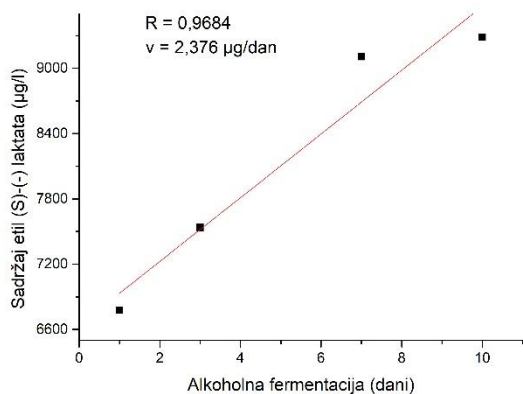
Praćenjem kinetike ekstrakcije γ -butirolaktona, zapaža se, da se tokom alkoholne fermentacije šire sorte Krstač, maksimalna vrednost prelaženja ovog jedinjenja ostvarivala šestog dana od početka fermentacije ($2738,3 \mu\text{g/dan}$) (Grafik 33). Promene koncentracija dietil sukcinata tokom alkoholne fermentacije, su prikazane na graficima 29 i 41, dietil hidroksibutandioata (Grafici 35 i 46) i etil hidrogen sukcinata (Grafici 36 i 47). Dinamika ekstrakcije ukupnih estara tokom alkoholne fermentacije šire sorte Krstač je prikazana na grafiku 30. Koncentracija ukupnih estara imala je eksponencijalni rast i maksimalna vrednost prelaska ovih jedinjenja u vino Krstača desila se šestog dana alkoholne fermentacije, i iznosila je $24286,8 \mu\text{g/l}$. Brzina ekstrakcije je prikazana u tabeli 16.

Primenom t testa uparenih uzoraka, zapaža se statistički značajna razlika u sadržaju svih estara ($p < 0,05$), između uzoraka Krstača prvog dana alkoholne fermentacije (AF1D) i uzoraka trećeg (AF3D), sedmog (AF7D) i desetog dana (AF10D). Kod sorte Žižak, utvrđena je statistički značajna razlika u koncentraciji svih estara ($p < 0,05$), između uzoraka AF7D i AF10D (Tabele 14 i 15).

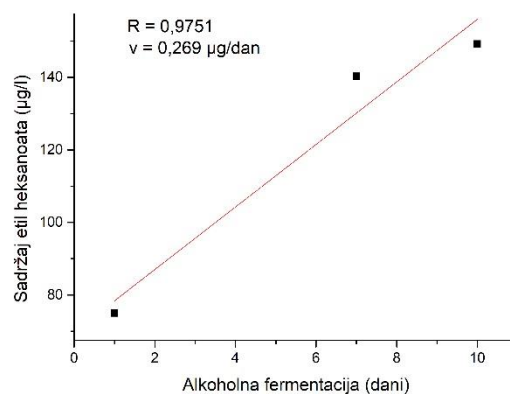
Kiseline: Sadržaj masnih kiselina srednjeg lanca (C_6 , C_8 , C_{10}) koji migrira u širu zavisi od: soja kvasca, uslova fermentacije (temperature, aeracije, pH) i sastava šire (Lambrechts i Pretorius, 2000). U vinima Krstača i Žižka dominantne kiseline su heksanska, oktanska i dekanska kiselina. Sadržaj heksanske kiseline eksponencijalno je rastao (Grafik 50) i maksimalna vrednost prelaženja ovog jedinjenja u vino Krstača se ostvarivala osmog dana alkoholne fermentacije, i nakon toga je opadala. Maksimalna koncentracija heksanske kiseline iznosila je $1894,4 \mu\text{g/l}$, dok je brzina ekstrakcije $v=0,758 \mu\text{g/dan}$. Kod proizvodnje vina Žižka, tokom alkoholne fermentacije (1, 3, 5, 7, 10 dan), sadržaj heksanske kiseline je linearno rastao (Grafik 56). Tokom alkoholne fermentacije šire Krstača i Žižka, sadržaji oktanske i dekanske kiseline su linearno rasli. Konstatuje se jaka korelaciona zavisnost porasta koncentracija oktanske i dekanske kiseline tokom alkoholne fermentacije, za Krstač ($R=0,9976$; $R=0,9963$) (Grafici 51 i 52) i Žižak ($R=0,9095$; $R=0,9998$), respektivno (Grafici 57 i 58). Brzine ekstrakcije za oktansku, dekansku i izobuternu kiselinu su prikazane u tabeli 16. Postoji jaka korelaciona veza između kinetike ekstrakcije ukupnih kiselina tokom alkoholne fermentacije. Koeficijenti korelacije za vina Krstača i Žižka su iznosili $R=0,9987$; $R=0,9382$, respektivno (Grafici 55 i 60).

Na osnovu literaturnih podataka, primećuje se da su posle 48 sati alkoholne fermentacije heksanska, oktanska i dekanska kiselina bile sintetisane u ćelijama kvasaca *Saccharomyces cerevisiae* (Zea et al., 1994). Prema Zea et al. (1994) koncentracije sve tri kiseline u ćelijama kvasaca su počele da opadaju posle 72 h od početka fermentacije šire. Između trećeg i desetog dana alkoholne fermentacije dolazilo je do porasta koncentracija heksanske, oktanske i dekanske kiseline u širi (Zea et al., 1994). Sinteza masnih kiselina u kvascima nastaje iz acetyl-CoA kao prekursora i povezana je sa metabolizmom kvasaca (Fraile et al., 2000).

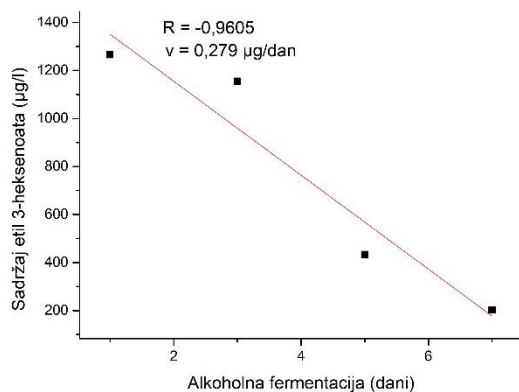
Praćenjem kinetike ekstrakcije može se zaključiti da se maksimalna ekstrakcija ukupnih aromatičnih jedinjenja kod Krstača ostvarivala devetog dana alkoholne fermentacije ($217273,2 \mu\text{g/l}$) (Tabela 16). Kod vina Žižka, primećen je linearni porast koncentracija ukupnih aromatičnih jedinjenja (Grafik 61). Dinamika ekstrakcije kiselina tokom alkoholne fermentacije je prikazana na graficima 50-60.



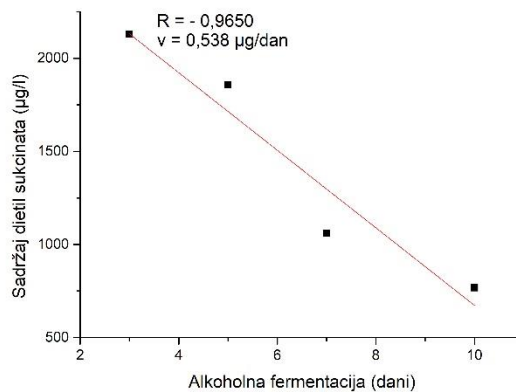
Grafik 26. Dinamika ekstrakcije etil laktata tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



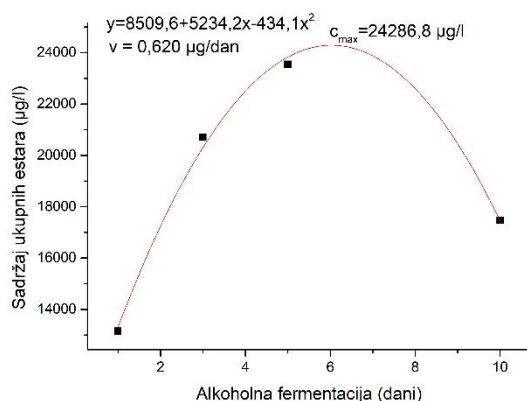
Grafik 27. Dinamika ekstrakcije etil heksanoata tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



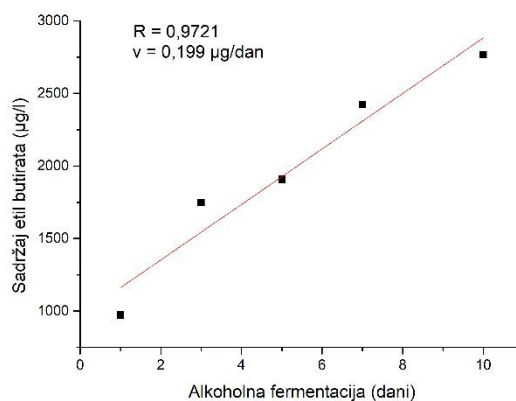
Grafik 28. Dinamika ekstrakcije etil 3-heksenoata tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



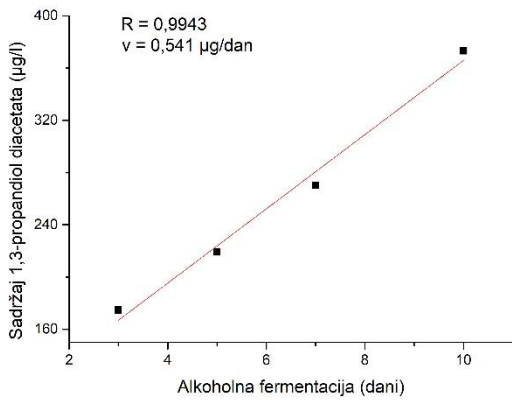
Grafik 29. Dinamika ekstrakcije dietil sukcinata tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



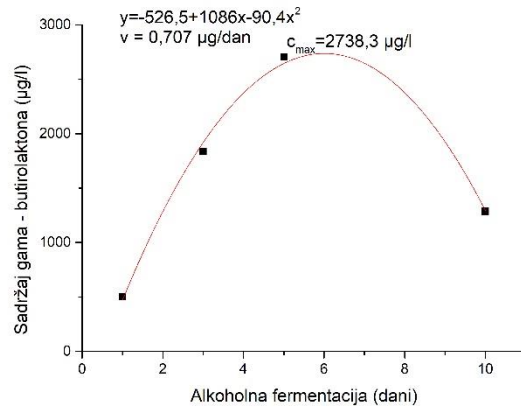
Grafik 30. Dinamika ekstrakcije ukupnih estara tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



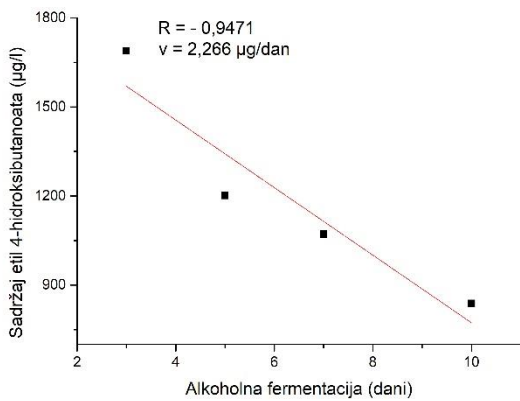
Grafik 31. Dinamika ekstrakcije etil butirata tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



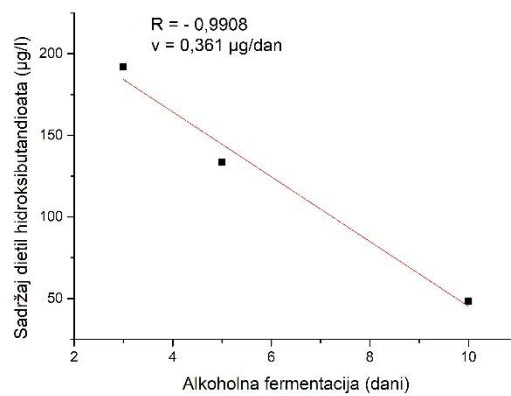
Grafik 32. Dinamika ekstrakcije 1,3-propandiol diacetata tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



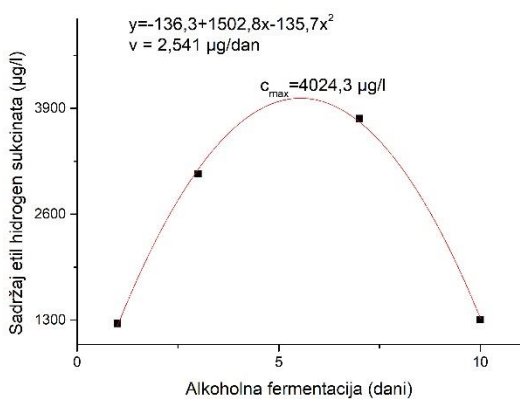
Grafik 33. Dinamika ekstrakcije γ -butirolaktona tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



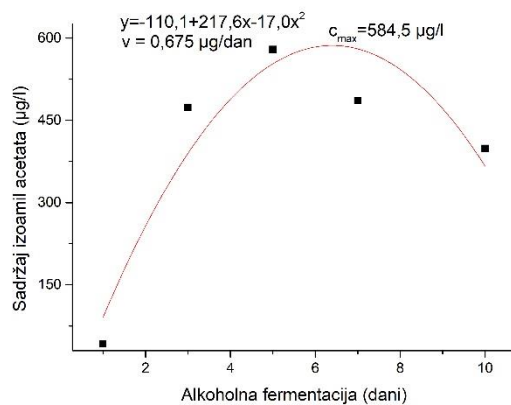
Grafik 34. Dinamika ekstrakcije etil 4-hidroksibutanoata tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



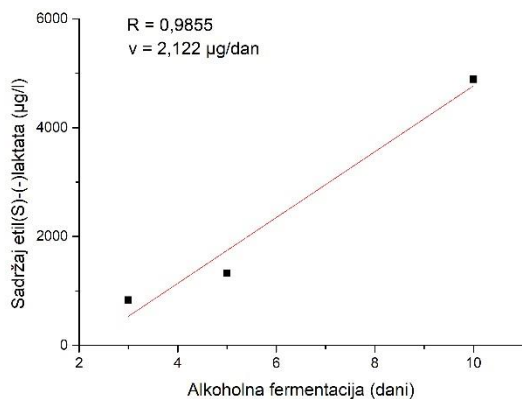
Grafik 35. Dinamika ekstrakcije dietil hidroksibutandioata tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



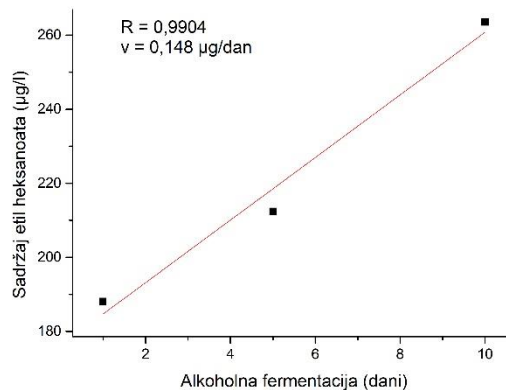
Grafik 36. Dinamika ekstrakcije etil hidrogen sukcinata tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



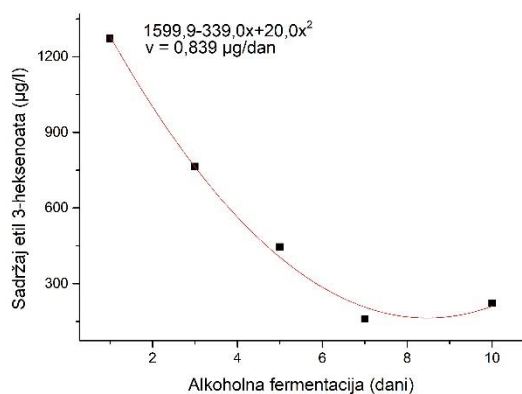
Grafik 37. Dinamika ekstrakcije izoamil acetata tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



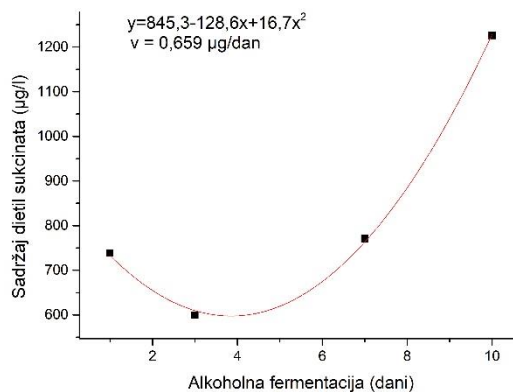
Grafik 38. Dinamika ekstrakcije etil laktata tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



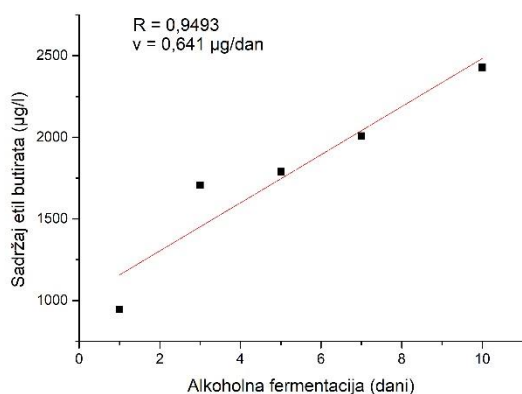
Grafik 39. Dinamika ekstrakcije etil heksanoata tokom alkoholnog vrenja šire Žižka



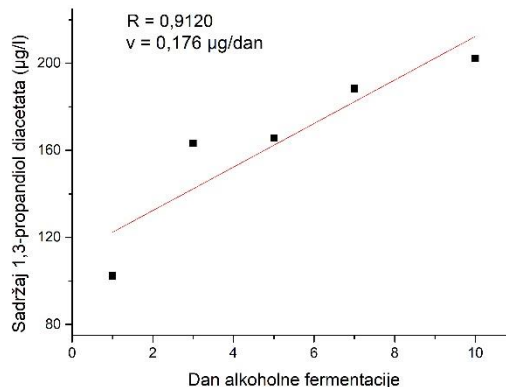
Grafik 40. Dinamika ekstrakcije etil 3-heksenoata tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



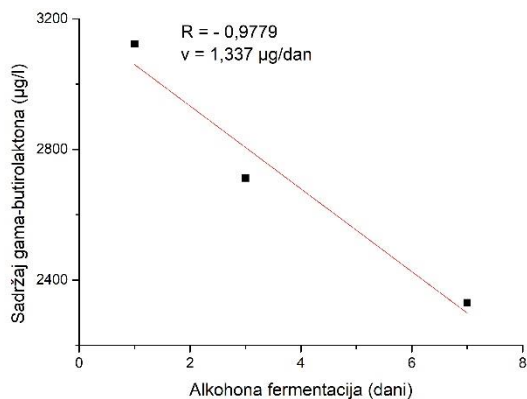
Grafik 41. Dinamika ekstrakcije dietil sukcinata tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



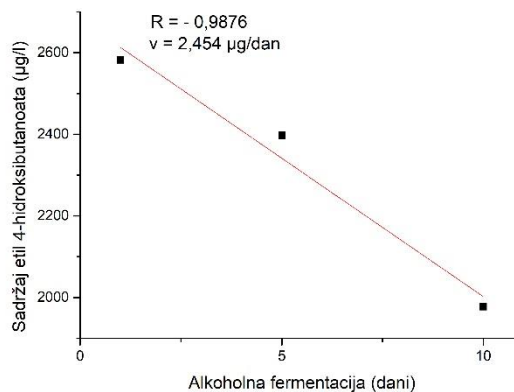
Grafik 42. Dinamika ekstrakcije etil butirata tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



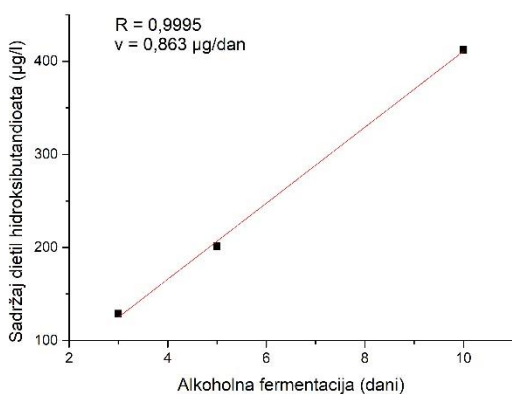
Grafik 43. Dinamika ekstrakcije 1,3 propandiol diacetata tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



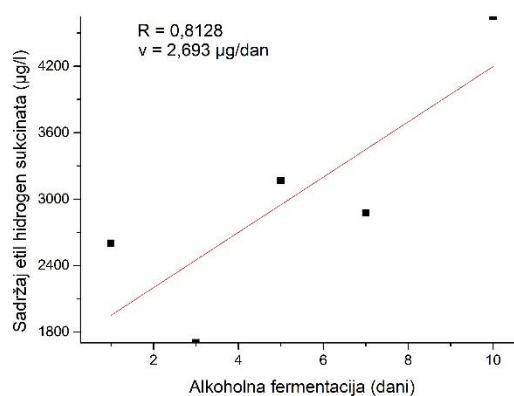
Grafik 44. Dinamika ekstrakcije γ -butirolaktona tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



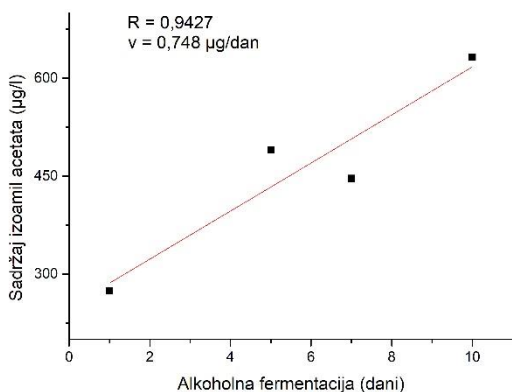
Grafik 45. Dinamika ekstrakcije etil 4-hidroksibutanoata tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



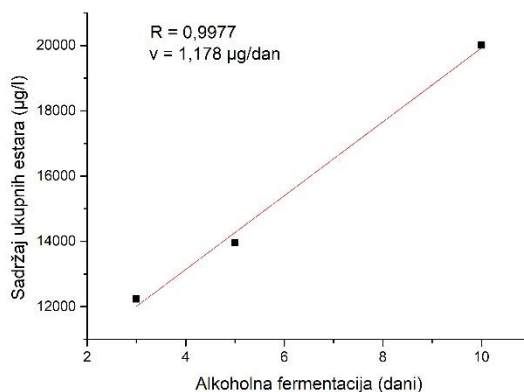
Grafik 46. Dinamika ekstrakcije dietil hidroksibutandioata tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



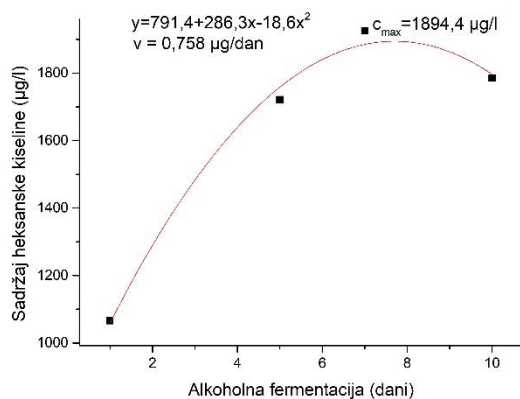
Grafik 47. Dinamika ekstrakcije etil hidrogen sukcinata tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



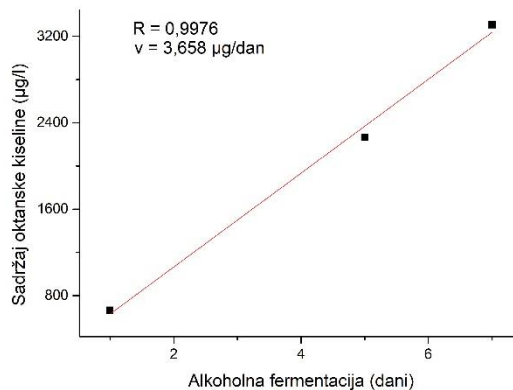
Grafik 48. Dinamika ekstrakcije izoamil acetata tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



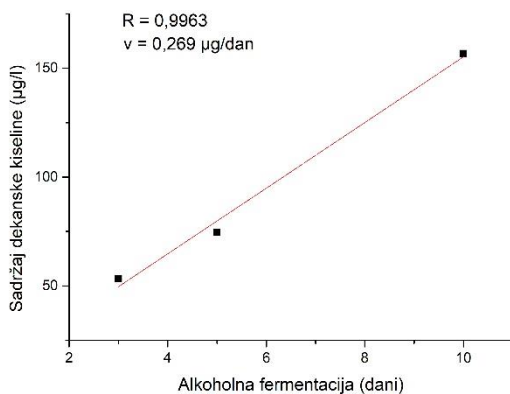
Grafik 49. Dinamika ekstrakcije ukupnih estara tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



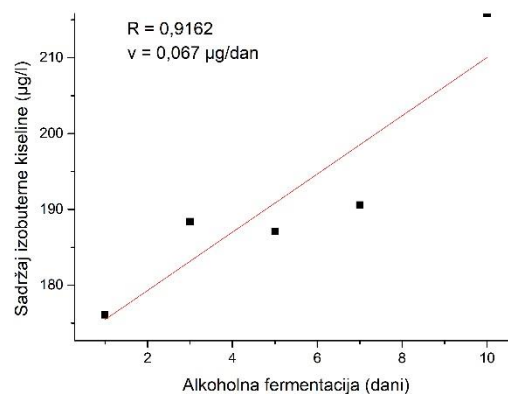
Grafik 50. Dinamika ekstrakcije heksanske kiseline tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



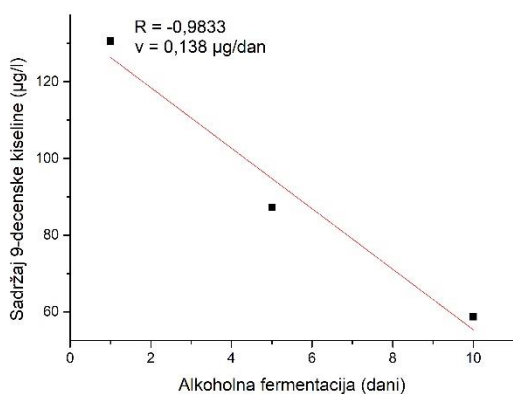
Grafik 51. Dinamika ekstrakcije oktanske kiseline tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



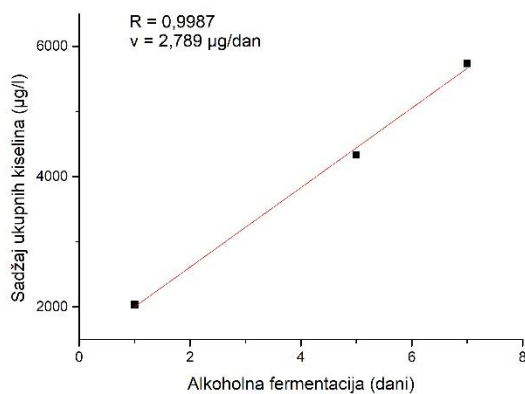
Grafik 52. Dinamika ekstrakcije dekanske kiseline tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



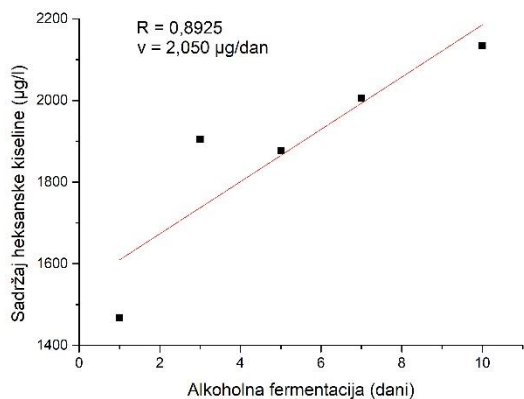
Grafik 53. Dinamika ekstrakcije izobuterne kiseline tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



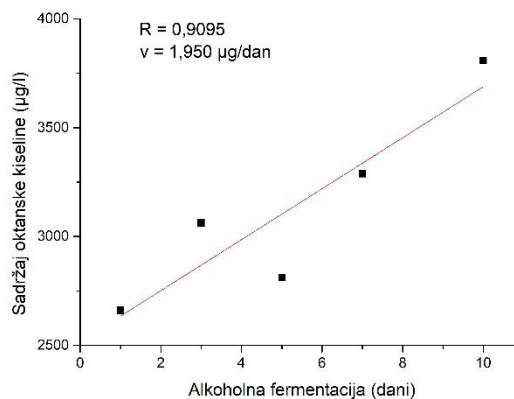
Grafik 54. Dinamika ekstrakcije 9-decenske kiseline tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



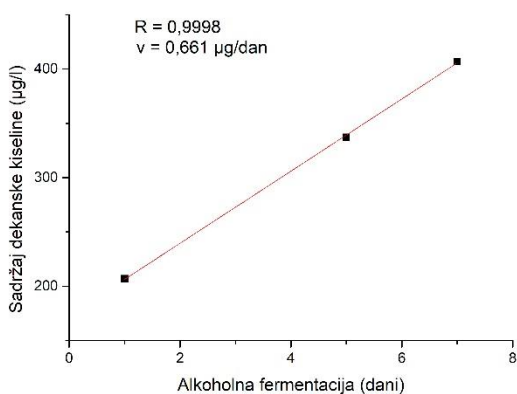
Grafik 55. Dinamika ekstrakcije ukupnih kiselina tokom alkoholne fermentacije šire Krstača



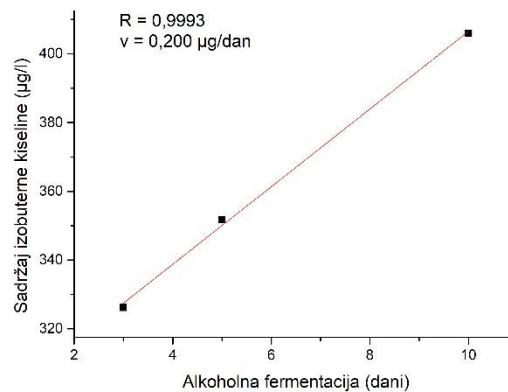
Grafik 56. Dinamika ekstrakcije heksanske kiseline tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



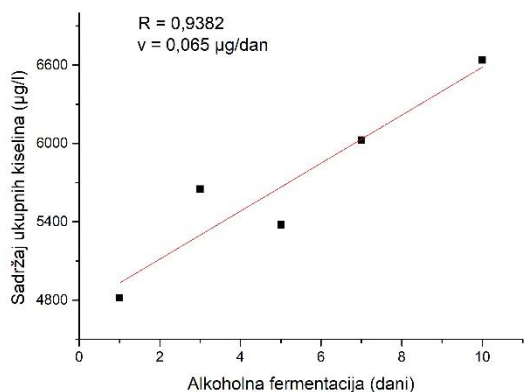
Grafik 57. Dinamika ekstrakcije oktanske kiseline tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



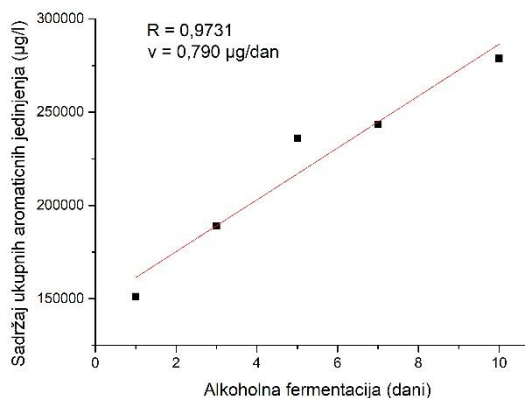
Grafik 58. Dinamika ekstrakcije dekanske kiseline tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



Grafik 59. Dinamika ekstrakcije izobuterne kiseline tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



Grafik 60. Dinamika ekstrakcije ukupnih kiselina tokom alkoholne fermentacije šire Žižka



Grafik 61. Dinamika ekstrakcije ukupnih aromatičnih jedinjenja tokom alkoholne fermentacije šire Žižka

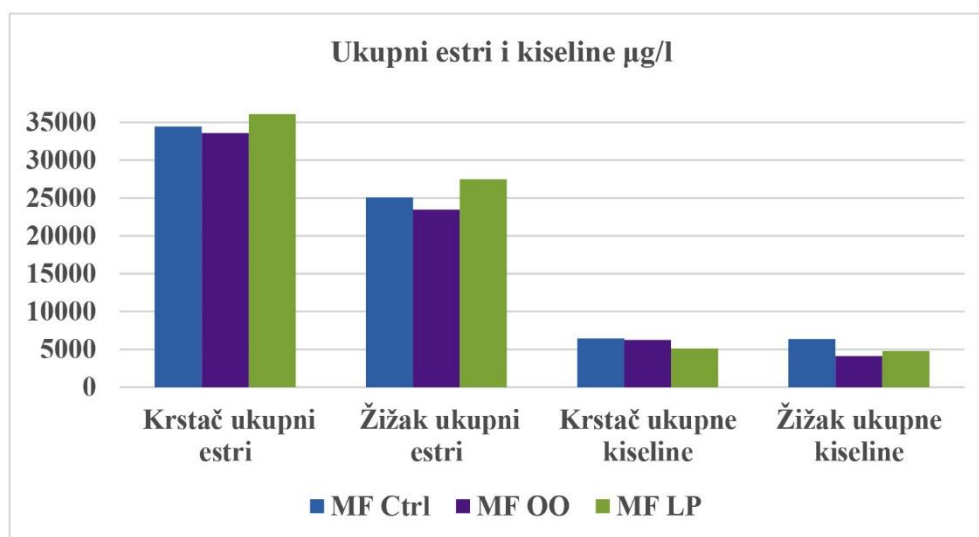
5.8. Količina aromatičnih jedinjenja u vinu nakon sprovedene malolaktike

U ovom eksperimentu praćen je uticaj malolaktičke fermentacije na sadržaj aromatičnih jedinjenja u vinima Krstača i Žižka. Malolaktička fermentacija je važan proces u proizvodnji vina, gde se pod uticajem bakterija mlečne kiseline, jabučna kiselina prevodi u mlečnu kiselinu i ugljendioksid (Jeromel et al., 2008; Sumbly et al., 2013). Tokom malolaktičke fermentacije, bakterije mlečne kiseline utiču na aromu i ukusnost vina, modifikacijom aromatičnih jedinjenja ili sintezom isparljivih jedinjenja (Maicas et al., 1999; Knoll et al., 2012). U proizvodnji vina, najviše se upotrebljava bakterija mlečne kiseline *Oenococcus oeni*, dok je u poslednje vreme dokazano da su neki sojevi *Lactobacillus plantarum* jednako efikasni u izvođenju malolaktičke fermentacije kao *Oenococcus oeni* (Brizuela et al., 2018). Bravo-Ferrada et al. (2013) navode da su razvoj alternativnih malolaktičkih starter kultura koji nisu *Oenococcus oeni* veoma važni u naučnim istraživanjima.

Alkoholi: Sadržaj ukupnih alkohola se snizio nakon izvođenja malolaktičke fermentacije sa bakterijama mlečne kiseline *Oenococcus oeni* i *Lactobacillus plantarum*. Vina Krstača i Žižka koja su dobijena primenom *Lactobacillus plantarum* su imala viši sadržaj ukupnih alkohola u odnosu na vina gde se za izvođenje malolaktičke fermentacije koristio *Oenococcus oeni*. Sadržaj ukupnih alkohola u vinima Krstača se kretao u rasponu od 208,3 do 225,6 mg/l, dok u vinima Žižka od 158,5 do 213,6 mg/l (Tabela 17). Primećeno je, da su se koncentracije izoamil i izobutil alkohola snizile nakon malolaktičke fermentacije, dok se sadržaj feniletil alkohola povećao u uzorcima vina K MF OO i Z MF LP. Knoll et al. (2012) ističu da su bakterije mlečne kiseline uticale na porast koncentracija feniletil alkohola. Neki autori navode da je malolaktička fermentacija uticala na sadržaj viših alkohola (Pozo-Bayón et al., 2005; Knoll et al., 2012), dok drugi nisu našli neke značajnije promene (Revel et al., 1999).

Estri: Sadržaj ukupnih estara i kiselina u vinima Krstača i Žižka je prikazan na grafiku 62. Sadržaj ukupnih estara u vinima Krstača se kretao u rasponu od 33,6 do 36,1 mg/l dok u vinima Žižka od 23,5 do 27,5 mg/l (Tabela 17). Beleži se statistički značajna razlika u sadržaju estara ($p < 0,05$) između vina Z MF Ctrl i Z MF LP, kao i između uzoraka Z MF OO i Z MF LP. *Lactobacillus plantarum* je tokom malolaktičke fermentacije uticao na višu sintezu estara, u odnosu na *Oenococcus oeni*. Ovo se može objasniti činjenicom da su sojevi *Lactobacillus* imali nižu aktivnost hidrolize estara nego *Oenococcus oeni* (Maicas et al., 1999). Tokom malolaktičke fermentacije, esteraze koje poseduju *Oenococcus oeni* imaju sposobnost da sintetišu i hidrolizuju estre (Sumbly et al., 2013). Na koncentraciju estara veliki uticaj imali su sojevi bakterija koji se primenjuju tokom malolaktičke fermentacije (Maicas et al., 1999; Ugliano et al., 2005; Knoll et al., 2011, 2012). U literaturi postoje neslaganja o uticaju mlečne fermentacije na koncentraciju estara. Većina autora su isticali da su bakterije mlečne kiseline uticale na koncentraciju estara (Revel et al., 1999; Herjavec et al., 2001; Pozo-Bayón et al., 2005; Jeromel et al., 2008; Knoll et al., 2012; Sumbly et al., 2013).

U ovom eksperimentu, bakterije mlečne kiseline *Oenococcus oeni* i *Lactobacillus plantarum* su uticale na sadržaj etil laktata, dietil sukcinata, etil butirata, etil heksanoata, etil dekanooata, izoamil acetata, feniletil acetata i γ -butirolaktona. Ovi estri mogu biti sintetizovani ili hidrolizovani, pa dolazi do povišenja i sniženja koncentracija, koja formiraju aromatski profil vina (Sumbly et al., 2013). Pod uticajem malolaktičke fermentacije došlo je do sinteze etil laktata i dietil sukcinata u vinima Krstača i Žižka. Zapaža se, da vino Krstača ima znatno višu koncentraciju etil laktata (16,7 mg/l) u odnosu na Žižak (3,4 mg/l) (Tabela 17). *Lactobacillus plantarum* je uticao na višu sintezu etil laktata i dietil sukcinata, u odnosu na *Oenococcus oeni*. U odnosu na kontrolno vino (bez mlf), koncentracije etil laktata i dietil sukcinata su se povisile, što je u skladu sa raznim istraživanjima (Revel et al., 1999; Herjavec et al., 2001; Pozo-Bayón et al., 2005; Jeromel et al., 2008). Etil laktat se sintetizuje tokom malolaktičke fermentacije esterifikacijom etanola i mlečne kiseline. Sinteza etil laktata zavisi od pH vrednosti, koncentracije etanola (Knoll et al., 2011) i početne koncentracije jabučne kiseline (Pozo-Bayón et al., 2005). Etil laktat daje mlečnu, dok etil sukcinat voćnu aromu (Knoll et al., 2012).



Grafik 62. Sadržaj ukupnih estara i ukupnih kiselina u vinima Krstača i Žižka dobijenih primenom malolaktičke fermentacije

Koncentracije etil butirata, etil heksanoata i izoamil acetata su bile snižene sa primenom bakterija mlečne kiseline, što je u skladu sa drugim istraživanjima (Jeromel et al., 2008, Herjavec et al., 2001). Zapaža se, da je dodavanjem bakterija *Oenococcus oeni* došlo do većeg snižavanja etil butirata (vina Krstača i Žižka) i etil heksanoata (vina Krstača), u odnosu na uticaj bakterija *Lactobacillus plantarum*. To se može objasniti većom estarsko-hidrolitskom aktivnošću bakterija *Oenococcus oeni* (Sumbly et al., 2013). Izoamil acetat daje vinu prijatnu voćnu aromu (banane), etil butirata ananasa (Selli et al., 2006a), dok etil heksanoat daje voćnu aromu.

Sadržaji etil oktanoata u vinima Krstača i etil dekanata u vinima Žižka, su bili u tragovima. Primenom malolaktičke fermentacije, sadržaj feniletil acetata se snizio usled hidrolize, što je u skladu sa istraživanjima Revel et al. (1999). Nasuprot ovim istraživanjima, Pozo-Bayón et al. (2005) nisu utvrdili razlike u sadržaju feniletil acetata sa primenom bakterija mlečne kiseline. Koncentracija γ -butirolaktona se povisila sa primenom bakterija mlečne kiseline *Oenococcus oeni* u vinima Krstača i *Lactobacillus plantarum* u vinima Krstača i Žižka. U vinima Krstača, *Oenococcus oeni* je sintetizovao više γ -butirolaktona u odnosu na bakterije mlečne kiseline *Lactobacillus plantarum*, što je u saglasnosti sa istraživanjima Pozo-Bayón et al. (2005).

Kiseline: Nakon izvršene GC/FID-MS analize u proizvedenim vinima su detektovane masne kiseline srednjeg lanca (heksanska, oktanska i dekanska). Primenom t-testa uparenih uzoraka beleži se statistički značajna razlika u sadržaju svih kiselina ($p < 0,05$), između vina Krstača gde je za malolaktičku fermentaciju dodavan *Oenococcus oeni* i kontrole (bez mlf). U vinima Krstača i Žižka, najviše koncentracije su imale oktanska (3,8 mg/l, 3,6 mg/l) i heksanska kiselina (2,2 mg/l, 2,1 mg/l), respektivno (Tabela 17). Na osnovu literaturnih podataka, može se konstatovati da masne kiseline srednjeg lanca koje se sintetišu tokom alkoholne fermentacije sa metabolizmom kvasca, imaju inhibitorski efekat na rast bakterija mlečne kiseline (Capucho i San Romão, 1994).

Može se zaključiti, da su bakterije *Lactobacillus plantarum* u vinima Krstača više uticale na sniženje sadržaja heksanske, oktanske i dekanske kiseline, u odnosu na *Oenococcus oeni*. U vinima Žižka, *Oenococcus oeni* je uticao na višu promenu sadržaja heksanske i oktanske kiseline. Pozo-Bayón et al. (2005) ističe da sadržaj oktanske i dekanske kiseline zavisi od soja mlečnih bakterija. U svim vinima Krstača i Žižka došlo je do snižavanja koncentracija masnih kiselina srednjeg lanca (C_6 , C_8 , C_{10}), što je u saglasnosti sa istraživanjima Knoll et al. (2012). Nasuprot ovim istraživanjima, Revel et al. (1999) konstantuje da se sadržaj masnih kiselina nije promenio pod uticajem bakterija mlečne kiseline.

Tabela 17. Količina aromatičnih jedinjenja u vinu nakon sprovedene malolaktike (dodavanje bakterija mlečne kiseline *Oenococcus oeni* i *Lactobacillus plantarum*)

Jedinjenja	K MF	K MF	K MF	Z MF	Z MF	Z MF
	Ctrl	OO	LP	Ctrl	OO	LP
1-Heksanol	2815,9	2771,2	2705,4	1662,9	1304,7	1672,7
Izobutil alkohol	18190,3	14656,1	15623,0	14596,2	9301,2	12607,3
Izoamil alkohol	157823,7	142686,4	148289,7	152317,6	108570,8	141750,3
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-(Metiltio)-1-Propanol	475,7	492,5	482,3	341,1	252,1	355,8
2-Feniletil alkohol	38137,2	39590,9	37827,2	36575,9	30970,6	38977,4
Ukupni alkoholi	225572,8	208327,1	213057,6	213623,7	158529,4	203493,5
Etil butirat	2799,0	2280,6	2375,2	2097,4	1412,0	1536,2
Etil heksanoat	153,6	102,2	106,7	289,8	186,7	167,3
Etil (S)-(-) laktat	16680,6	16750,6	16865,6	3378,0	2646,9	3590,2
Etil oktanoat	t	t	t	122,2	t	127,2
Etil 3-hidroksibutirat	191,1	194,9	211,2	101,0	t	99,9
<i>Cis</i> 4-hidroksimetil 2-metil 1,3-dioksolan	t	96,0	335,2	182,8	798,7	t
Etil dekanat	157,1	126,1	136,0	t	t	t
Dietil sukcinat	2229,2	2381,3	2451,1	2729,1	2949,0	3413,3
Etil 4-hidroksibutanoat	516,1	382,6	500,2	434,8	564,2	446,3
Dietil hidroksibutandioat	747,8	841,2	857,8	2163,6	2142,1	3019,2
Dietil 2-hidroksi-3-metilsukcionat	275,1	302,5	288,4	521,4	347,5	614,9
Etil-2-hidroksi-3-fenil propaonat	154,0	163,2	159,0	198,7	167,4	223,7
Etil hidrogen sukcinat	7174,7	6659,3	8711,4	8906,1	8686,6	9889,3
Izoamil acetat	175,7	95,6	30,9	247,4	113,4	83,0
2-Feniletil acetat	123,3	nd	nd	t	129,7	t
2H Piran-2,6(5H)-dion	326,9	382,6	391,4	416,5	477,2	604,7
γ -Butirolakton	2590,5	2830,5	2688,1	3287,3	2840,9	3652,5
γ -etoksi Butirolakton	141,1	t	t	t	t	t
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	34435,8	33589,2	36108,2	25076,1	23462,3	27467,7

Jedinjenja (nastavak tabele)	K MF	K MF	K MF	Z MF	Z MF	Z MF
	Ctrl	OO^{b*}	LP	Ctrl	OO	LP
Heksanska kiselina	2172,7	2122,0	2073,6	2103,4	1520,0	2032,0
Oktanska kiselina	3837,8	3754,3	2754,1	3604,7	2211,0	2478,7
Dekanska kiselina	445,5	370,1	289,2	661,9	385,4	285,5
Ukupne kiseline	6456,0	6246,4	5116,9	6370,0	4116,4	4796,2
Ukupna aromatična jedinjenja	266464,6	248162,7	254282,7	245069,8	186108,1	235757,4

Skraćenice: Krstač i Žižak vina [kontrola (K MF Ctrl, Z MF Ctrl,), bakterije *Oenococcus oeni* (K MF OO, Z MF OO), bakterije *Lactobacillus plantarum* (K MF LP, Z MF LP), koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

5.9. Količina aromatičnih jedinjenja u vinu tretiranom rastućim količinama bentonita

Stabilizacija belih vina i uklanjanje proteina su veoma važni za kvalitet vina. Delovanje bentonita na uklanjanje proteina i mutnoće znatno je efikasnije u vinu, nego kada se dodaje u širu (Vela et al., 2017). Mehanizam delovanja bentonita se zasniva na principima elektrostatičke interakcije između negativno naelektrisanog bentonita i pozitivno naelektrisanih proteina, koji formiraju kompleks koji se taloži (Ribéreau-Gayon et al., 2000). Koliki će biti uticaj bentonita na aromatski sadržaj belog vina, zavisi od njegove koncentracije i početnog sadržaja aromatičnih jedinjenja, kao i od sadržaja i karakteristika proteina (Lambri et al., 2010). Isparljiva jedinjenja u vinu se sastoje od jedinjenja različitih karakteristika (polariteta, rastvorljivosti i isparljivosti) (Lambri et al., 2013, 2016).

U našem eksperimentu, beleži se statistički značajna razlika u sadržaju svih aromatičnih jedinjenja ($p < 0,05$), između vina K B 100 i K B 200. Kod Žižka, primenom t-testa uparenih uzoraka, utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u sadržaju svih jedinjenja ($p < 0,05$), između vina koje je tretirano bentonitom u koncentraciji 200 g/hl i netretiranog vina. Na osnovu statističke analize može se zaključiti, da je tretiranje vina sa 200 g/hl bentonita značajno uticalo na sadržaj aromatičnih jedinjenja u vinima Krstača i Žižka.

Alkoholi: Dodavanjem različitih koncentracija bentonita nije došlo do sniženja koncentracija viših alkohola u vinima Krstača i Žižka. Jedino je u vinu Žižka snižena koncentracija 2-feniletil alkohola, što je u skladu sa istraživanjima Lambri et al. (2010).

Estri: U našem eksperimentu, dodavanjem 100 g/hl i 200 g/hl bentonita, u vinima Žižka je uzrokovalo smanjenje etil heksanoata (13,99 %, 34,06 %), etil oktanoata (24,63 %, 35,89 %), dok su koncentracije etil dekanoata bile u tragovima (Tabela 18). Naprotiv, u vinima Krstača, dodavanje 200 g/hl bentonita nije uticalo na smanjenje koncentracija etil estara masnih kiselina (etil oktanoata i etil dekanoata). Snižavanje sadržaja etil estara masnih kiselina, moglo bi se tumačiti većim prisustvom proteina u Žižku, u odnosu na vina Krstača. Ova jedinjenja imaju hidrofobne karakteristike i u prisustvu proteina se uklanjaju deproteinizacijom, što je u skladu sa istraživanjem Lambri et al. (2010). Većina aromatičnih jedinjenja se uklanja indirektnim putem (deproteinizacijom), gde se hidrofobna mirisna jedinjenja vezuju za unutrašnja proteinska mesta, dok su hidrofilni aromatični molekuli vezani slabim vodoničnim vezama za površinu proteina (Lambri et al., 2010). Samo nekoliko aromatičnih jedinjenja je direktno adsorbovano od strane bentonita (Lambri et al., 2010; Vincenzi et al., 2015).

Vincenzi et al. (2015) ističu da je sam bentonit u vinu najviše uticao na uklanjanje etil estara i masnih kiselina (Vincenzi et al., 2015). Kada su u vinu prisutni proteini, bentonit je najviše snižavao sadržaj etil oktanoata i etil dekanoata, zbog hidrofobnosti tih jedinjenja (Vincenzi et al., 2015). Na osnovu literaturnih podataka, bentonit je snižavao koncentracije etil estara masnih kiselina (Sanborn et al., 2010; Lambri et al., 2010, 2013).

Zapaža se, da je dodavanje 200 g/hl bentonita u vino Krstača i Žižka uticalo na smanjenje sadržaja izoamila acetata za 30,75 % i 30,19 %, dok za 2-feniletil acetat procenat smanjenja iznosi 10,84 % i 20,52 %, respektivno (Tabela 18). Snižavanje koncentracija etil butirata i dietil sukcinata nije bilo značajno kada je bentonit dodat u koncentraciji od 100 g/hl, dok je 200 g/hl bentonita snizilo sadržaj etil butirata u vinima Krstača i Žižka (11,99 %, 36,41 %) i dietil sukcinata (29,56 %, 28,03 %) (Tabela 18). Lambri et al. (2010) su zaključili da dodavanje bentonita vinu, dovodi do smanjenja etil butirata i feniletil acetata. Nije bilo nekog značajnog uticaja bentonita na sadržaj etil laktata, etil 3-hidroksibutirata i etil 4-hidroksibutanoata u vinima Krstača i Žižka.

Kod vina sorte Krstač, beleži se statistički značajna razlika u sadržaju svih estara ($p < 0,05$), između uzoraka gde je dodavan bentonit u koncentracijama 100 g/hl i 200 g/hl. Kod Žižka, primenom

t-testa uparenih uzoraka utvrđena je statistički značajna razlika u sadržaju svih estara ($p < 0,05$), između Z B 100 i Z B 200 (Tabela 18).

Kiseline: Dodavanje bentonita (100 g/hl, 200 g/hl) u vino Krstača, uticalo je na sniženje koncentracije oktanske kiseline za 6,35 % i 10,83 %, dok u vinu Žižka za 1,45 % i 8,50 %, respektivno (Tabela 18). Koncentracija dekanske kiseline u vinu je snižena za 11,52 % i 15,05 %. Lambri et al. (2010) navode da koncentracije bentonita koje se primenjuju u eksperimentu i hidrofobnost jedinjenja imaju uticaj na uklanjanje pojedinih aromatičnih jedinjenja.

Tabela 18. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Krstača i Žižka, koja su tretirana rastućim koncentracijama bentonita (0, 100, 200 g/hl)

Jedinjenja	K Ctrl B	K B 100	K B 200	Z Ctrl B	Z B 100	Z B 200
1-Heksanol	2322,5	2647,1	2444,0	1699,7	1778,0	1582,7
Izobutil alkohol	13522,8	14582,9	15120,7	13921,9	13949,4	14293,5
Izoamil alkohol	125106,5	142229,2	142232,5	148456,3	148428,2	155153,0
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-(Metiltio)-1-Propanol	410,9	420,6	443,6	334,5	310,5	304,2
2-Feniletil alkohol	32312,2	36674,6	35936,7	36779,0	35857,4	36358,8
Ukupni alkoholi	181804,9	204684,4	204307,5	209321,4	208453,5	215822,2
Etil butirat	2300,5	2215,0	2024,6	1720,1	1660,3	1093,8
Etil heksanoat	316,9	331,5	275,7	448,3	385,6	295,6
Etil (S)-(-) laktat	13194,9	14811,0	14627,0	3109,1	2984,3	3069,5
Etil oktanoat	t	156,7	176,6	341,9	257,7	219,2
Etil 3-hidroksibutirat	162,1	158,3	151,6	t	t	t
Cis 4-hidroksimetil 2-metil 1,3-dioksolan	nd	nd	t	nd	nd	nd
Etil dekanat	134,3	144,7	138,1	t	t	t
Dietil sukcinat	1872,1	1677,6	1318,7	2631,4	2245,8	1893,9
Etil 4-hidroksibutanoat	402,3	419,5	439,1	359,3	355,3	354,4
Dietil hidroksibutandioat	816,1	607,7	589,0	2119,4	2028,5	1863,5
Dietil 2-hidroksi-3-metilsukcionat	235,3	202,8	179,7	468,8	443,2	376,6
Etil-2-hidroksi-3-fenil propaonat	153,1	120,9	151,5	171,6	175,0	163,7
Etil hidrogen sukcinat	5901,5	6298,8	5902,4	7384,0	7499,3	7972,9
Izoamil acetat	494,7	443,5	342,4	293,1	302,4	204,6
2-Feniletil acetat	122,7	110,2	109,4	t	t	t
2H Piran-2,6 (5H)-dion	298,7	187,9	149,5	286,6	400,9	227,8
γ -Butirolakton	2271,6	2527,5	2429,9	3378,3	3193,2	3115,8
γ -etoksi Butirolakton	t	t	t	t	t	t
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	28676,8	30413,6	29005,2	22711,9	21931,5	20851,3

Jedinjenja (nastavak tabele)	K Ctrl B	K B 100	K B 200	Z Ctrl B	Z B 100	Z B 200
Heksanska kiselina	1858,8	2015,2	1897,2	1998,5	1984,1	2024,7
Oktanska kiselina	3806,8	3565,2	3394,5	4305,4	4243,1	3939,4
Dekanska kiselina	689,2	591,2	719,5	991,2	877,0	842,0
Ukupne kiseline	6354,8	6171,6	6011,2	7295,1	7104,2	6806,1
Ukupna aromatična jedinjenja	216836,5	241269,6	239323,9	239328,4	237489,2	243479,6

Skraćenice: Krstač i Žižak vina [kontrola (K Ctrl B, Z Ctrl B,), bentonit 100 g/hl (K B 100, Z B 100), bentonit 200 g/hl (K B 200, Z B 200), koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

5.10. Količina aromatičnih jedinjenja u vinu konzervisanom rastućim količinama SO₂ i askorbinske kiseline

U vinima Krstača i Žižka su dodavane različite koncentracije vinobrana zajedno sa askorbinskom kiselinom. Zoecklein et al. (1995) ističe da je primena askorbinske kiseline zajedno sa SO₂ efikasnija, nego kada se ova jedinjenja dodaju pojedinačno u vino. Sumpordioksid i askorbinska kiselina imaju različita antioksidativna svojstva (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Sumpordioksid ima odložen efekat koji se manifestuje i u prisustvu naknadne oksidacije, dok je efikasnost askorbinske kiseline sigurna samo kada je kontakt sa kiseonikom ograničen (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Antioksidativno dejstvo sumpordioksida se ogleda u direktnom uklanjanju kiseonika, reagovanju sa vodonik peroksidom i smanjenju hinona (Oliviera et al., 2011). Prekomerna upotreba SO₂ utiče na kvalitet vina i proizvodnju karakterističnih defektnih aroma (Guerrero et al., 2014). Postoje korisni i štetni aspekti upotrebe askorbinske kiseline u vinu. Korisni aspekti upotrebe askorbinske kiseline se ogledaju u dužem zadržavanju SO₂ tokom oksidacije, kao i sposobnosti hvatanja kiseonika i smanjivanju oksidovanih komponenti (Barril et al., 2016). Askorbinska kiselina može da redukuje orto-hinon, do njegovog originalnog fenolnog stanja (Bradshaw et al., 2011; Barril et al., 2016). U prisustvu kiseonika reaguje brže nego polifenolna jedinjenja, dolazi do veće proizvodnje vodonik peroksida, koji se uklanja sa sumpordioksidom (Barril et al., 2016). Vodonik peroksid se formira iz askorbinske kiseline u prisustvu kiseonika, predstavlja moćan oksidans koji može da promeni sastav vina. Zbog toga, askorbinsku kiselinu treba koristiti u vinima koja imaju dovoljnu koncentraciju slobodnog SO₂. Sumpordioksid uklanja vodonik peroksid i tom prilikom se oksidiše i prelazi u sulfat (Ribéreau-Gayon et al., 2006a). Na taj način slobodan SO₂ sprečava da dođe do oksidacije nezasićenih masnih kiselina.

Nakon izvršene GC/FID-MS analize u proizvedenim vinima ukupan sadržaj detektovanih aromatičnih jedinjenja u uzorcima Krstača je bio u rasponu od 238,1 mg/l do 293,0 mg/l (K SO₂ 7) (Tabela 19), dok u vinu Žižka od 239,9 mg/l do 256,0 mg/l (Z SO₂ 5) (Tabela 20). Primenom t-testa uparenih uzoraka beleži se statistički značajna razlika u sadržaju svih aromatičnih jedinjenja ($p < 0,05$), između sledećih uzoraka: K SO₂ Ctrl i K SO₂ 5, K SO₂ Ctrl i K SO₂, K SO₂ 5 i K SO₂ 7, K SO₂ 7 i K SO₂ 10, K SO₂ 7 i K SO₂ 0,8, Z SO₂ Ctrl i Z SO₂ 10, Z SO₂ 7 i Z SO₂ 10.

Alkoholi: Najviši sadržaj ukupnih alkohola su imali uzorci K SO₂ 7 (248,6 mg/l) (Tabela 19) i Z SO₂ 5 (222,6 mg/l) (Tabela 20). U odnosu na kontrolne uzorke, koncentracije izobutil i izoamil alkohola su imale porast u uzorcima K SO₂ 7 i Z SO₂ 5, što je u skladu sa istraživanjima Garde-Cerdán i Ancín-Azpilicueta (2007). Vina koja su čuvana tri i šest meseci u boci sa sumpordioksidom imala su više koncentracije ukupnih alkohola nego vina koja su sazrevala bez sumpordioksida (Garde-Cerdán i Ancín-Azpilicueta, 2007).

Estri: Uzorci K SO₂ 7 (38,2 mg/l) (Tabela 19) i Z SO₂ 5 (27,3 mg/l) (Tabela 20) su imali najviši sadržaj estara. U odnosu na kontrolne uzorke, sadržaj skoro svih etil estara i acetata je bio viši u uzorku K SO₂ 7 (osim dietil sukcinata, izoamil acetata i γ -butirolaktona), što je u skladu sa istraživanjima Garde-Cerdán i Ancín-Azpilicueta (2007). Uzorak Z SO₂ 5 je imao viši sadržaj većine etil estara, u odnosu na kontrolu. Niže koncentracije etil estara masnih kiselina u vinima koja su odležala bez SO₂ mogu se tumačiti povećanom hidrolizom ovih jedinjenja (Garde-Cerdán i Ancín-Azpilicueta, 2007).

Kiseline: Kada se uporedi sa kontrolnim vinom (bez dodavanja SO₂), sadržaj ukupnih kiselina je bio niži skoro u svim vinima Krstača i Žižka (tabela 19 i 20). Sadržaj heksanske, oktanske i dekanske kiseline je bio niži u uzorcima sa dodavanjem SO₂. Garde-Cerdán i Ancín-Azpilicueta (2007) zaključuje da je uticaj SO₂ na razvoj kiselina tokom sazrevanja vina bio manji, nego u slučaju estara i alkohola.

Tabela 19. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Krstača, koja su konzervisana rastućim koncentracijama $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (0; 0,8; 5; 7; 10 g/hl) i askorbinskom kiselinom

Jedinjenja	K SO ₂ Ctrl	K SO ₂ 0,8	K SO ₂ 5 ^{a*}	K SO ₂ 7 ^{a*}	K SO ₂ 10
1-Heksanol	2832,4	2682,7	2607,4	2830,2	2640,8
Izobutil alkohol	19942,7	13651,8	14971,2	21251,2	16647,8
Izoamil alkohol	168287,9	141126,6	140947,7	178156,4	147273,3
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-(Metiltio)-1-Propanol	498,4	428,6	406,9	460,8	423,3
2-Feniletil alkohol	37266,8	35380,5	36283,4	37772,8	36287,9
Ukupni alkoholi	236958,2	201400,2	203346,6	248601,4	211403,1
Etil butirat	3009,3	1915,6	2280,7	3277,2	2451,8
Etil heksanoat	202,9	287,8	274,2	222,6	226,7
Etil (S)-(-) laktat	17116,4	14682,3	14730,8	17625,6	15505,3
Etil oktanoat	t	t	t	t	t
Etil 3-hidroksibutirat	193,7	162,4	159,5	200,0	156,0
Cis 4-hidroksimetil 2-metil 1,3-dioksolan	t	t	nd	nd	nd
Etil dekanoat	174,3	t	124,9	177,0	167,1
Dietil sukcinat	2175,3	2062,8	2111,9	2172,6	2110,2
Etil 4- hidroksibutanoat	494,5	391,0	422,7	525,5	446,2
Dietil hidroksibutandioat	942,7	797,5	855,5	958,9	840,4
Dietil 2-hidroksi-3-metilsukcionat	259,2	277,7	256,3	288,1	257,1
Etil-2-hidroksi-3-fenil propaonat	136,7	152,8	146,5	184,7	170,4
Etil hidrogen sukcinat	8135,8	6557,0	6673,9	9292,2	8158,9
Izoamil acetat	380,7	408,3	446,0	301,7	426,7
2-Feniletil acetat	107,7	105,8	104,0	116,1	108,7
2H Piran-2,6 (5H)-dion	385,6	364,4	218,7	404,8	296,7
γ -Butirolakton	2496,8	2544,8	2512,0	2466,7	2516,2
γ -etoksi Butirolakton	t	t	t	t	t
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	36211,6	30710,2	31317,6	38213,7	33838,4
Heksanska kiselina	2164,8	2022,9	2023,0	2182,4	2042,4
Oktanska kiselina	3555,3	3620,1	3487,4	3663,7	3556,6
Dekanska kiselina	322,5	384,8	270,5	303,3	278,4
Ukupne kiseline	6042,6	6027,8	5780,9	6149,4	5877,4
Ukupna aromatična jedinjenja	279212,4	238138,2	240445,1	292964,5	251118,9

a*-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u sadržaju svih detektovanih aromatičnih jedinjenja kada se upoređi sa K Ctrl.

Skraćenice: Krstač vina [kontrola (K SO₂ Ctrl), 0,8 g/hl SO₂ (K SO₂ 0,8), 5 g/hl SO₂ (K SO₂ 5), 7 g/hl SO₂ (K SO₂ 7), 10 g/hl SO₂ (K SO₂ 10), koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

Tabela 20. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Žižka, koja su konzervisana rastućim koncentracijama $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (0; 1,5; 5; 7; 10 g/hl) i askorbinskom kiselinom

Jedinjenja	Z SO ₂ Ctrl	Z SO ₂ 1,5	Z SO ₂ 5	Z SO ₂ 7	Z SO ₂ 10 ^{a*}
1-Heksanol	1755,3	1681,7	1725,8	1725,9	1740,7
Izobutil alkohol	15480,7	13899,9	16572,6	15383,9	14963,7
Izoamil alkohol	156790,5	147603,1	160307,0	154357,5	154244,2
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-(Metiltio)-1-Propanol	351,0	343,3	351,3	331,2	327,6
2-Feniletil alkohol	36311,9	36102,9	35518,5	36964,8	35728,7
Ukupni alkoholi	218819,4	207760,9	222605,2	216893,3	215134,9
Etil butirat	2040,3	1594,4	2279,6	1988,9	1867,9
Etil heksanoat	328,4	344,9	314,8	284,0	330,6
Etil (S)-(-) laktat	3341,0	3153,7	3340,7	3236,0	3292,3
Etil oktanoat	133,8	180,1	150,9	183,9	143,3
Etil 3-hidroksibutirat	103,2	t	t	101,0	t
Cis 4-hidroksimetil 2-metil 1,3-dioksolan	nd	nd	nd	nd	nd
Etil dekanoat	122,4	142,6	132,3	162,2	164,5
Dietil sukcinat	2730,0	2782,8	2744,4	2847,9	2773,5
Etil 4- hidroksibutanoat	337,8	325,3	354,6	355,1	334,6
Dietil hidroksibutandioat	2402,0	2325,3	2297,3	2448,6	2189,6
Dietil 2-hidroksi-3-metilsukcionat	528,4	528,3	567,4	527,2	480,1
Etil-2-hidroksi-3-fenil propaonat	199,8	210,6	200,5	nd	193,2
Etil hidrogen sukcinat	10374,6	10496,3	11088,4	10541,3	10395,2
Izoamil acetat	272,1	215,1	287,8	183,5	252,0
2-Feniletil acetat	t	t	t	t	t
2H Piran-2,6 (5H)-dion	390,5	430,1	362,1	381,2	332,9
γ -Butirolakton	3261,7	3184,9	3192,4	3201,1	3162,8
γ -etoksi Butirolakton	t	t	t	t	t
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	26566,0	25914,4	27313,2	26441,9	25912,5
Heksanska kiselina	2105,2	2011,4	2058,6	2078,8	2027,1
Oktanska kiselina	3779,8	3780,2	3701,7	4130,3	3475,3
Dekanska kiselina	517,7	478,9	335,0	nd	344,2
Ukupne kiseline	6402,7	6270,5	6095,3	6209,1	5846,6
Ukupna aromatična jedinjenja	251788,1	239945,8	256013,7	249544,3	246894,0

a*-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u sadržaju svih detektovanih aromatičnih jedinjenja kada se uporedi sa Z Ctrl.

Skraćenice: Žižak vina [kontrola (Z SO₂ Ctrl), 1,5 g/hl SO₂ (Z SO₂ 1,5), 5 g/hl SO₂ (Z SO₂ 5), 7 g/hl SO₂ (Z SO₂ 7), 10 g/hl SO₂ (Z SO₂ 10)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

5.11. Promene sadržaja aromatičnih jedinjenja u vinu nakon godinu dana sazrevanja

Aroma je posebno važna za kvalitet belih vina. U literaturi, sazrevanje je povezano sa razvojem senzornih karakteristika i dovodi do poboljšanja kvaliteta vina, dok starenje uzrokuje degradaciju aromatičnih jedinjenja sa voćnim i cvetnim aromama (Linsenmeier et al., 2010). Promene sadržaja aromatičnih jedinjenja u vinima Krstač i Žižak nakon dvanaest meseci sazrevanja, su analizirane t-testom uparenih uzoraka i postupkom redukcije faktora PCA (Principal Component Analysis).

U ovom eksperimentu analizirane su promene sadržaja aromatičnih jedinjenja vina Krstača i Žižka (Tabele 4-13) i istih vina posle 12 meseci sazrevanja (Tabele u prilogu 25-34). Primenom t-testa uparenih uzoraka je utvrđena statistički značajna razlika u sadržaju svih aromatičnih jedinjenja ($p < 0,05$), između uzoraka vina Krstača [K sam i K sam s; K30 i K 30 s; K Ctrl i KCtrl s (bez kvasaca i hraniva)] i Žižka [Z pres i Z press; Z Ctrl i Z Ctrl s (bez maceracije); Z B150 i Z B 150 s; Z B 200 i Z B 200 s; Z Bay E i Z Bay E s].

Na osnovu t-testa uparenih uzoraka nije utvrđena statistički značajna razlika u sadržaju alkohola ($p < 0,05$), što je u skladu sa istraživanjima (Oliviera et al., 2008). Oliviera et al. (2008) zaključuju da su C_6 jedinjenja i alkoholi bili skoro stabilni tokom 20 meseci sazrevanja. Za razliku od alkohola, beleži se statistički značajna razlika u sadržaju kiselina ($p < 0,05$), između vina Krstača i odgovarajućih vina posle 12 meseci sazrevanja [K sam i Ksam s; K Zn 1 i K Zn 1 s; K Cu 1 i i K Cu 1 s; K Cu 2 i K Cu 2 s; K B 100 i K B 100 s; K 20 i K 20 s; K Ctrl i K Ctrl s (bez kvasaca i hraniva); K Bay i K Bay s] i vina Žižka [Z Zn 2 i Z Zn 2 s; Z Cu 1 i Z Cu 1 s; Z Cu 2 i Z Cu 2 s; Z Fe 1 i Z Fe 1 s; Z B 50 i Z 50 s; Z B 100 i Z B 100 s; Z B 200 i Z B 200 s; Z 30 i Z 30 s; Z CB 8h i Z CB 8h s; Z EB 8h i Z EB 8h s; Z Ctrl i Z Ctrl s (bez kvasaca i hraniva)]. Nakon 12 meseci odležavanja vina u bocama, koncentracije masnih kiselina u raznim eksperimentima su se povisile ili snizile. Porast ili smanjenje sadržaja masnih kiselina se mogu objasniti hemijskim reakcijama esterifikacije i hidrolize estara tokom sazrevanja vina (Linsenmeier et al., 2010).

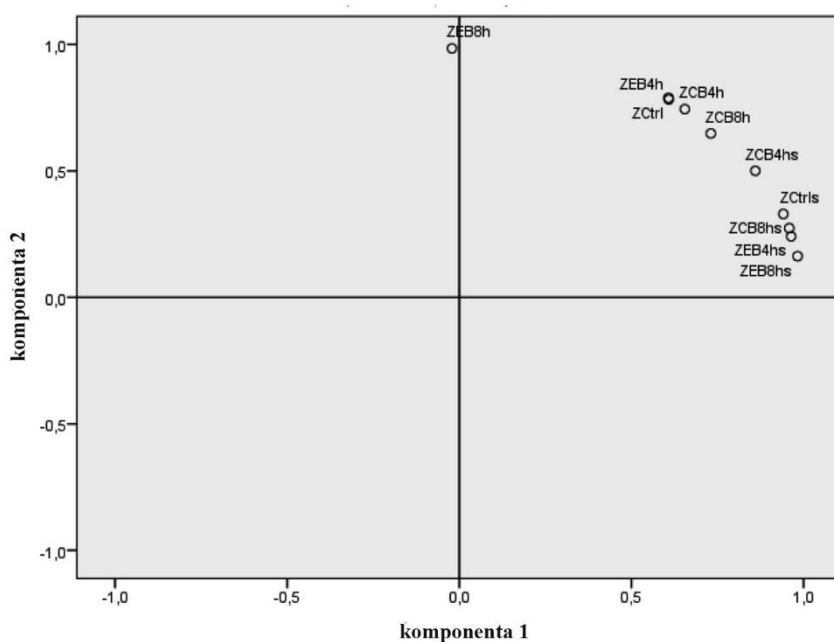
5.11.1. Promene sadržaja estara i laktona u vinu nakon godinu dana sazrevanja (primena maceracije i glikolitičkih enzima)

U vinima Krstača i Žižka koja su sazrevala 12 meseci, utvrđen je viši sadržaj etil estara (etil heksanoata, etil laktata, dietil sukcinata, dietil hidroksibutandioata, etil hidrogen sukcinata) i γ -butirolaktona, u odnosu na ista vina bez sazrevanja. U našim istraživanjima, tokom sazrevanja vina Krstača i Žižka koncentracije estara organskih kiselina su bile znatno više (dietil sukcinat, dietil hidroksibutandioat, etil laktat), što je u saglasnosti sa raznim istraživanjima (Perez-Coello et al., 2003; Diaz-Maroto et al., 2005; Oliviera et al., 2008). U literaturi, autori ističu da tokom odležavanja vina koncentracije estara mogu da se povise ili snize u zavisnosti od hemijskih reakcija esterifikacije i hidrolize (Zoecklein et al., 1999).

Sazrevanje vina u trajanju od godinu dana je uticalo na snižavanje koncentracija acetata (1,3-propandiol acetata, 2-feniletal acetata, izoamil acetata), što je u saglasnosti sa raznim istraživanjima (Chisholm et al., 1995; Zoecklein et al., 1999; Perez-Coello et al., 2003; Lambropoulos et al., 2007; Oliveira et al., 2008). Acetatni estri se hidrolizuju brže od etil estara i zbog toga se prvo smanjuje njihov sadržaj (Chisholm et al., 1995).

Na osnovu rezultata (Tabele 4, 5, i iz priloga 25, 26) može se zaključiti da je sazrevanje u trajanju od dvanaest meseci pozitivno uticalo na razvoj aromatičnih jedinjenja i senzornih karakteristika vina Krstača i Žižka (eksperiment-maceracija i glikolitički enzimi). Odležala vina su imala bolje senzorne ocene (Tabele 21-24). Prema Vázquez-Pateiro et al. (2020), vina koja su odležavala u boci 18 meseci imala su najviše koncentracije isparljivih jedinjenja sa najboljom senzornom ocenom, nakon čega su koncentracije naglo opadale.

Rezultati dobijeni u eksperimentu (primena različitog trajanja maceracije i glikolitičkih enzima), na sadržaj etil estara, acetata i laktona u vinima Žižka pre i posle sazrevanja, su obrađeni metodom redukcije faktora (Principal Component Analysis). Kajzer Majer Olkin-ov kriterijum (Kaiser Meyer Olkin) je 0,500 i Bartlettov test sferičnosti (Bartlett's test of sphericity) je statistički značajan ($p < 0,05$), što opravdava primenu PCA analize. Izdvojene su dve komponente, što je potvrđeno Katelovim kriterijumom, gde su se na grafiku izdvojile dve tačke iznad kolena na dijagramu prevoja. Primenjena je ortogonalna varimax rotacija jer najbolje opisuje varijabilnost novih komponenata. Prva komponenta objašnjava 61,41 % varijabiliteta a druga dodatnih 36,96 %, dok obe zajedno objašnjavaju 98,37 % varijanse. Grupisanjem vina, na osnovu 19 etil estara, acetata i laktona, u prvoj komponenti se izdvojilo odležalo vino koje je dobijeno primenom maceracije u trajanju 8 h i glikolitičkog enzima β (Z EB8h s), dok se u drugoj komponenti izdvojio Z EB8h (Slika 16).



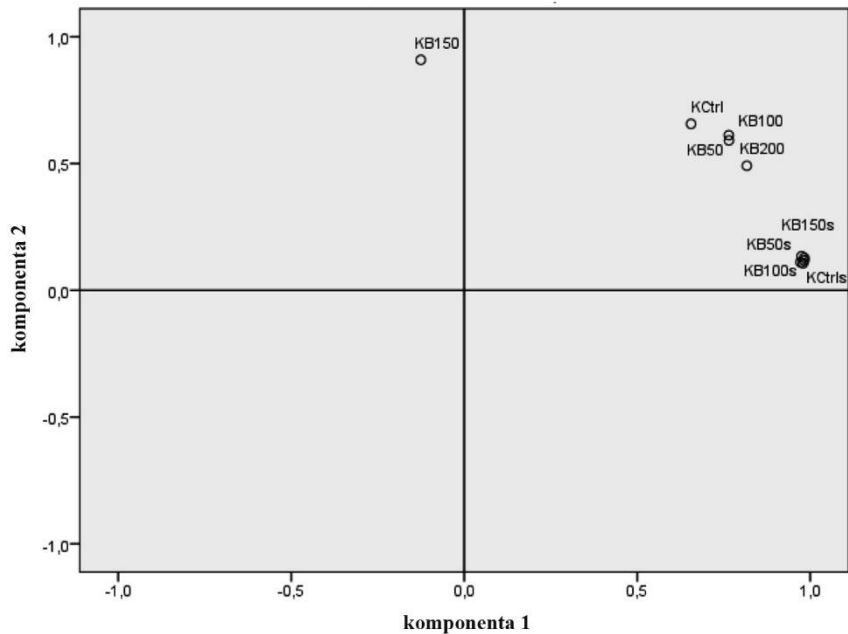
Slika 16. Grupisanje vina Krstača pre i posle 12 meseci sazrevanja, u odnosu na sadržaj etil estara, acetata i laktona

5.11.2. Promene sadržaja estara i laktona u vinu nakon godinu dana sazrevanja (primena rastućih koncentracija bentonita)

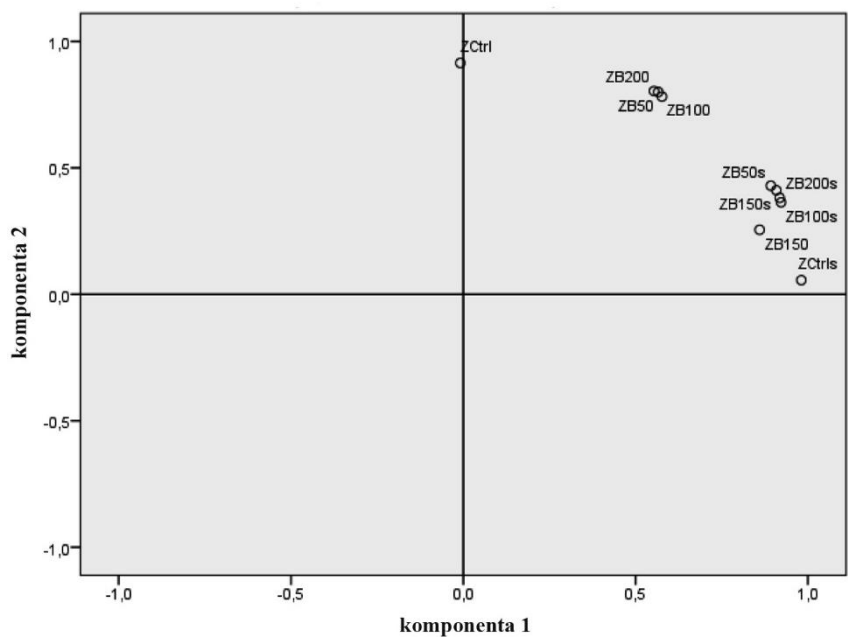
Grupisanje vina Krstača, bez odležavanja i nakon 12 meseci sazrevanja u bocama, je vršeno u odnosu na 19 etil estara, acetata i laktona (Tabele 8 i iz priloga 29). Rezultati dobijeni u ovom eksperimentu su analizirani metodom redukcije faktora (PCA). Na Katelovom dijagramu su se izdvojile dve komponente. Primenjena je ortogonalna varimax rotacija koja najbolje opisuje varijabilnost novih komponenti. Prva komponenta objašnjava 70,66 % varijabiliteta, druga 22,94 %, dok obe objašnjavaju 93,60 % varijanse. Prema najvažnijim faktorskim opterećenjima u PCA analizi, odležala vina Krstača koja su dobijena sa dodavanjem 50 i 150 g/hl bentonita (komponenta 1), jasno su razdvojena od vina K B 150 koje se nalazi u komponenti 2 (Slika 17). Primenom t-testa uparenih uzoraka beleži se statistički značajna razlika u sadržaju etil estara, acetata i laktona ($p < 0,05$), između vina K B150 i K B 150 s.

Grupisanje vina Žižka, bez odležavanja i nakon 12 meseci sazrevanja u bocama, je vršeno u odnosu na 19 etil estara, acetata i laktona. Rezultati dobijeni u ovom eksperimentu (Tabele 9 i iz priloga 30), obrađeni su PCA analizom. Na Katelovom dijagramu su se izdvojile dve komponente i primenjena je ortogonalna varimax rotacija, jer najbolje opisuje varijabilnost novih komponenti. Prva komponenta objašnjava 59,76 % varijabiliteta, druga 34,34 %, dok obe zajedno objašnjavaju

94,10 % varijanse. Na osnovu PCA analize može se konstatovati, da su se dobro razdvojila vina koja su sazrevala godinu dana (Z Ctrl s i Z B 100 s), od kontrole koja se nalazi u drugoj komponenti (Z Ctrl) (Slika 18). Tokom sazrevanja vina Krstača i Žižka u trajanju od 12 meseci, koncentracije nekih jedinjenja su se povisile (etil butirat, dietil sukcinat, dietil hidroksibutandioat, etil hidrogen sukcinat, γ -butirolakton), dok su se snizile koncentracije etil 4-hidroksibutanoata, izoamil acetata, 1,3-propandiol diacetata.



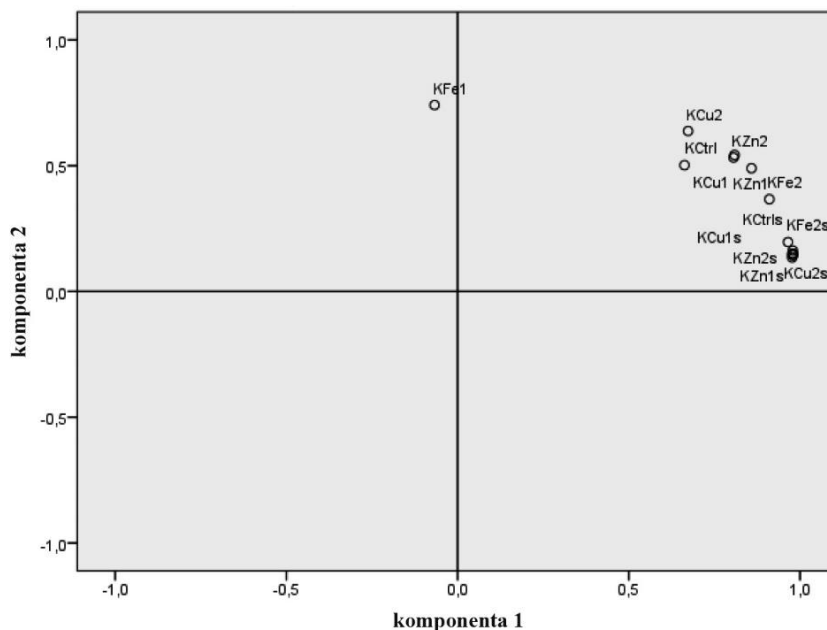
Slika 17. Grupisanje vina Krstača pre i posle 12 meseci sazrevanja, u odnosu na sadržaj etil estara, acetata i laktona



Slika 18. Grupisanje vina Žižka pre i posle 12 meseci sazrevanja, u odnosu na sadržaj etil estara, acetata i laktona

5.11.3. Promene sadržaja estara i laktona u vinu nakon godinu dana sazrevanja (katalitičko delovanje metala)

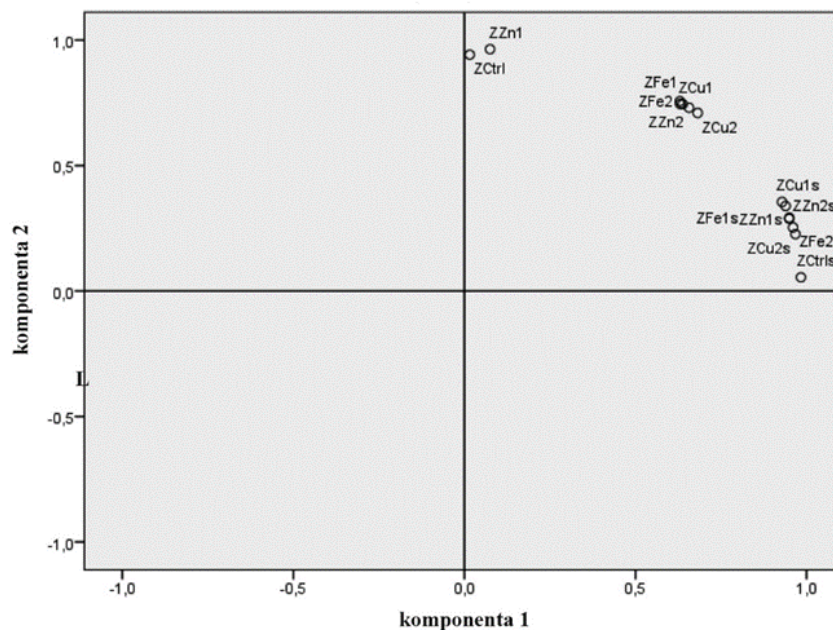
Grupisanje vina Krstača, bez odležavanja i nakon 12 meseci sazrevanja u bocama (Tabele 10 i iz priloga 31), je vršeno u odnosu na 19 etil estara, acetata i laktona. Rezultati dobijeni u ovom eksperimentu su analizirani metodom redukcije faktora (PCA). Na Katelovom dijagramu su se izdvojile dve komponente i primenjena je ortogonalna varimax rotacija jer najbolje opisuje različitost novih komponenata. Prva komponenta objašnjava 74,58 % različitosti, druga 16,64 %, dok obe zajedno objašnjavaju 91,21 % varijabiliteta. Na osnovu PCA analize, može se konstantovati da su se razdvojila vina koja su sazrevala 12 meseci (K Zn 2 s, K Cu 1 s, K Fe 2 s, K Fe 1 s), od vina koja nisu (K Fe 1) (Slika 19).



Slika 19. Grupisanje vina Krstača pre i posle 12 meseci sazrevanja, u odnosu na sadržaj etil estara, acetata i laktona

U ovom eksperimentu su upoređivana vina Žižka koja nisu odležavala, sa istim vinima koja su sazrevala 12 meseci (Tabele 11 i 32). Koncentracije etil butirata, etil laktata, dietil sukcinata, etil hidrogen sukcinata, γ -butirolaktona su bile više u odležalim vinima Krstača i Žižka, dok su koncentracije acetatnih estara i etil 4-hidroksibutanoata bile u padu.

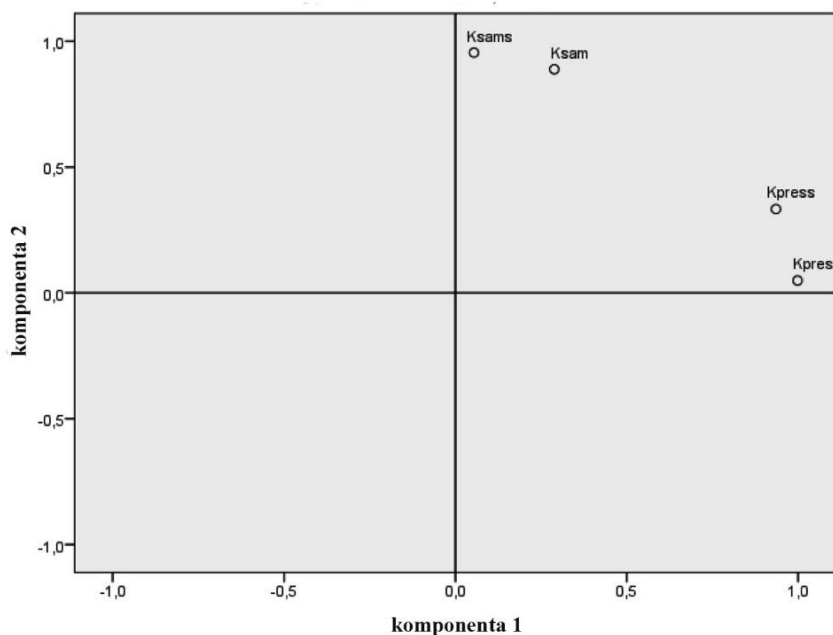
Grupisanje vina Žižka, bez odležavanja i nakon 12 meseci sazrevanja u bocama, je vršeno u odnosu na 19 etil estara, acetata i laktona. Na Katelovom dijagramu su se izdvojile dve komponente. Primenjena je ortogonalna varimax rotacija koja najbolje opisuje varijabilnost novih komponenti. Prva komponenta objašnjava 60,51 % varijanse, druga 36,18 %, dok obe objašnjavaju 96,69 % varijabiliteta. U prvoj komponenti su se izdvojila vina koja su sazrevala godinu dana (Z Ctrl s, Z Cu 2 s), dok su od manjeg uticaja bila vina koja su izdvojena u drugoj komponenti (Z Zn 1, Z Ctrl) (Slika 20).



Slika 20. Grupisanje vina Žižka pre i posle 12 meseci sazrevanja, u odnosu na sadržaj etil estara, acetata i laktone

5.11.4. Promene sadržaja estara i laktone u vinu nakon godinu dana sazrevanja (primena različitih pritisaka)

Statističkom metodom redukcije faktora (PCA), analizirano je grupisanje vina Krstača, bez odležavanja i nakon 12 meseci sazrevanja u bocama (Slika 21). Na Katelovom dijagramu su se izdvojile dve komponente. Bartletov test sferičnosti (Bartlett's test of sphericity) je statistički značajan ($p < 0,05$).

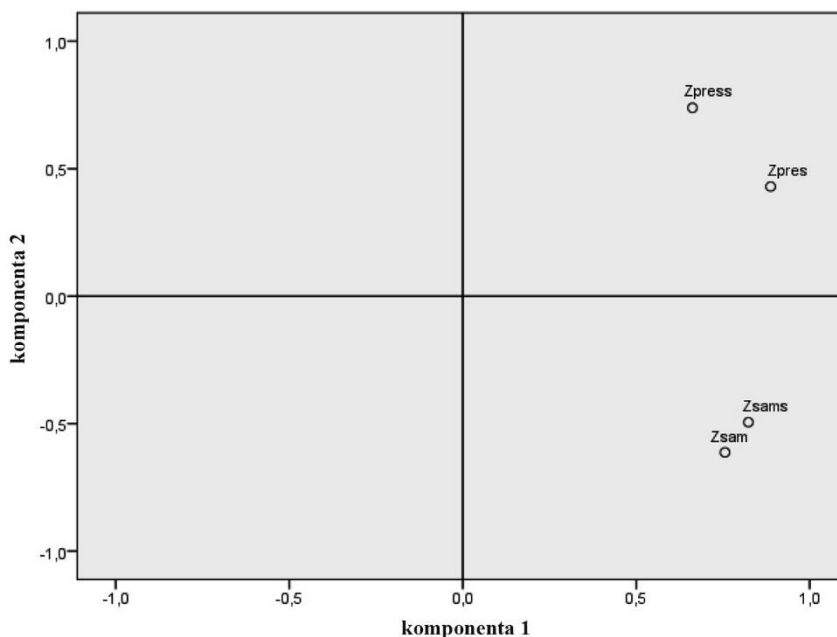


Slika 21. Grupisanje vina Krstača pre i posle 12 meseci odležavanja, u odnosu na sadržaj etil estara, acetata i laktone

Primenjena je ortogonalna equamax rotacija koja najbolje opisuje varijabilnost novih komponenti. Prva komponenta objašnjava 49,00 % varijabiliteta, druga 45,30 %, dok obe objašnjavaju 94,31 % varijanse. Prema najvažnijim faktorskim opterećenjima u PCA analizi, vino Krstača koje je dobijeno presovanjem šire, K pres (komponenta 1), je potpuno razdvojeno od odležalog vina gde tokom proizvodnje nije primenjen pritisak, K sam s.

Na osnovu t-testa uparenih uzoraka može se konstatovati da postoji statistički značajna razlika u sadržaju estara, acetata i laktona ($p < 0,05$), između uzoraka Z sam i Z sam s, Z pres i Z press. U ovom eksperimentu sa sazrevanjem vina, došlo je do rasta koncentracija etil estara (etil butirat, etil heksanoat, etil laktat, dietil sukcinat, dietil hidroksibutandioat, etil hidrogen sukcinat) i γ -butirolaktona u svim vinima Krstača i Žižka (Tabele 6 i iz priloga 27).

Analizom glavnih komponenta (PCA) je urađeno grupisanje vina Žižka, bez odležavanja i nakon 12 meseci sazrevanja u bocama, a na osnovu 19 etil estara, acetata i laktona. Na Katelovom dijagramu su se izdvojile dve komponente, i primenjena je analiza bez rotacije jer najbolje opisuje različitost novih komponenti. Prva komponenta objašnjava 61,85 % varijabiliteta, druga 33,75 %, dok obe objašnjavaju 95,60 % varijanse. Prema najvažnijim faktorskim opterećenjima u PCA analizi, može se konstatovati da postoji razdvajanje vina Z pres od Z press (Slika 22).

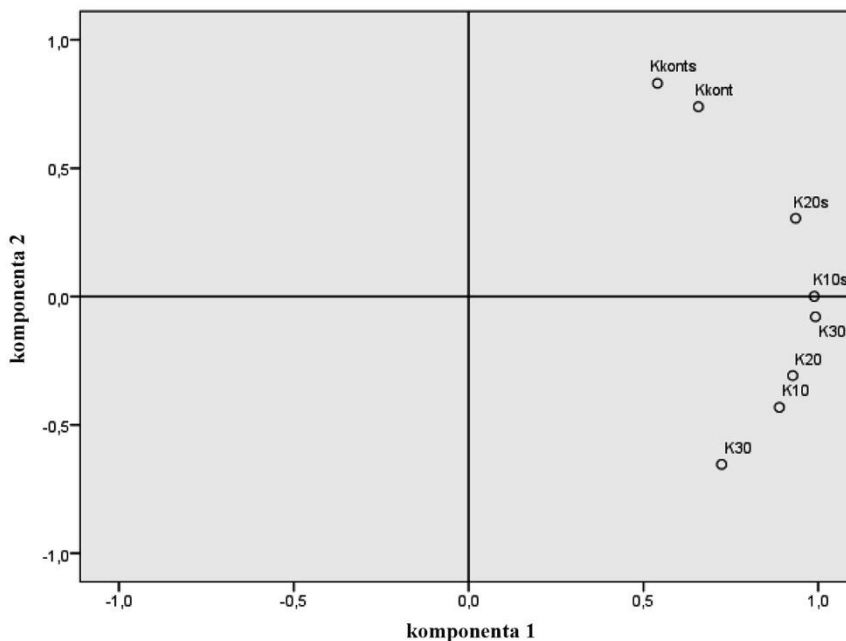


Slika 22. Grupisanje vina Žižka pre i posle 12 meseci sazrevanja, u odnosu na sadržaj etil estara, acetata i laktona

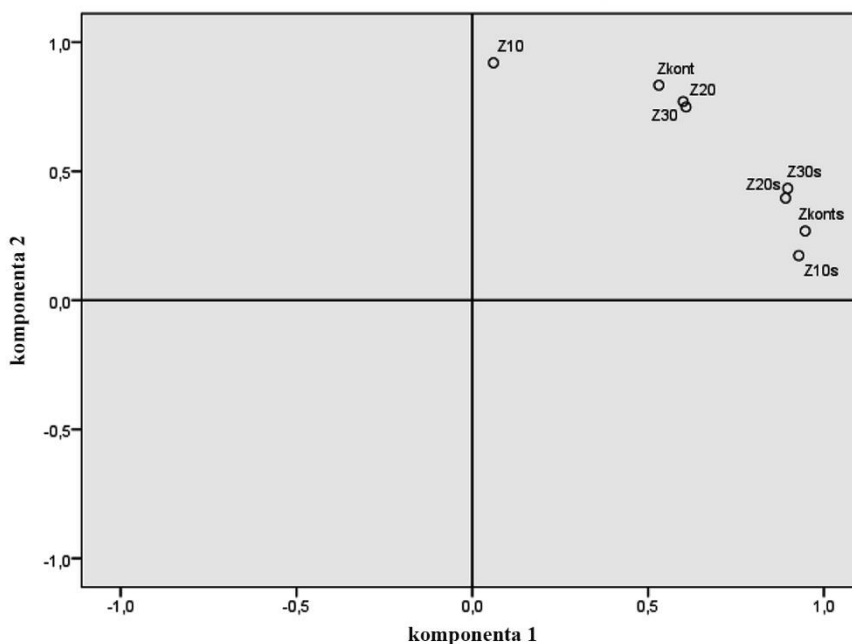
5.11.5. Promene sadržaja estara i laktona u vinu nakon godinu dana sazrevanja (primena različitog vremena taloženje šire)

Grupisanje vina Krstača, bez odležavanja i nakon 12 meseci sazrevanja u bocama, je vršeno u odnosu na 19 etil estara, acetata i laktona (Tabele 7 i 28). Rezultati dobijeni u ovom eksperimentu su analizirani metodom redukcije faktora (PCA). Dve komponente su izdvojene na Katelovom dijagramu. Primenjena je analiza bez rotacije jer najbolje opisuje varijabilnost novih komponenti. Prva komponenta objašnjava 71,64 % različitosti, druga 25,55 %, dok obe objašnjavaju 97,19 % varijanse. Na osnovu PCA analize, može se konstatovati da su se u prvoj komponenti izdvojila vina koja su sazrevala godinu dana (K 30 s i K 10 s), dok su kontrole vina Krstača bile od manjeg značaja (komponenta 2) (Slika 23).

Kajzer Majer Olkin-ov kriterijum (Kaiser Meyer Olkin) je 0,658 i Bartletov test sferičnosti (Bartlett's test of sphericity) je statistički značajan ($p < 0,05$), što opravdava PCA analizu za vina Žižka. Izdvojene su dve komponente, što je potvrđeno Katelovim kriterijumom, gde su se na grafiku izdvojile dve tačke iznad kolena na dijagramu prevoja. Primenjena je ortogonalna varimax rotacija koja najbolje opisuje varijabilnost novih komponenti. Prva komponenta objašnjava 54,64 % varijabiliteta, druga 39,29 %, dok obe objašnjavaju 93,93 % varijanse. Vina Z konts i Z 10 s su se izdvojila u prvoj komponenti, i postoji jasno razdvajanje od vina Z 10 i Z kont koji se nalaze u drugoj komponenti (slika 24).



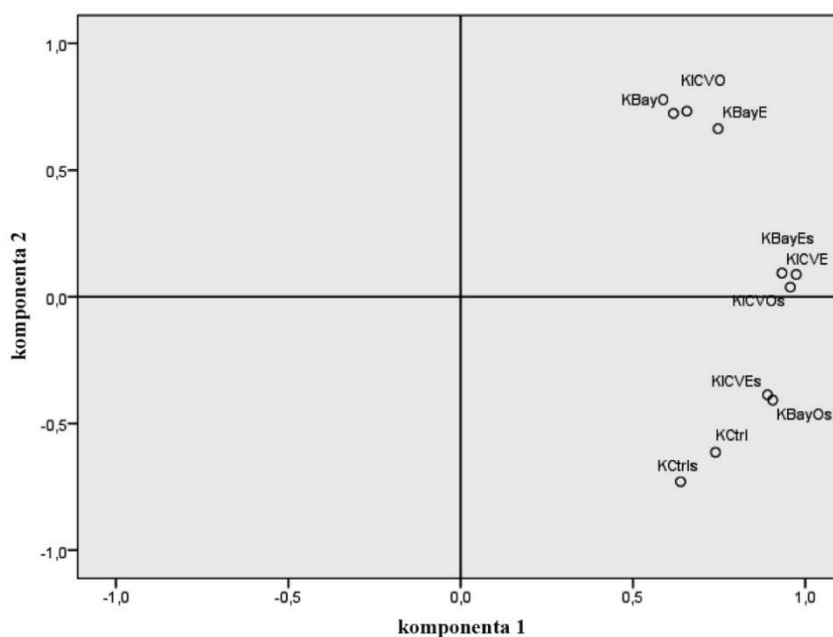
Slika 23. Grupisanje vina Krstača pre i posle 12 meseci sazrevanja, u odnosu na sadržaj etil estara, acetata i laktona



Slika 24. Grupisanje vina Žižka pre i posle 12 meseci sazrevanja, u odnosu na sadržaj etil estara, acetata i laktona

5.11.6. Promene sadržaja estara i laktona u vinu nakon godinu dana sazrevanja (primena različitih kvasaca i hraniva za kvasce)

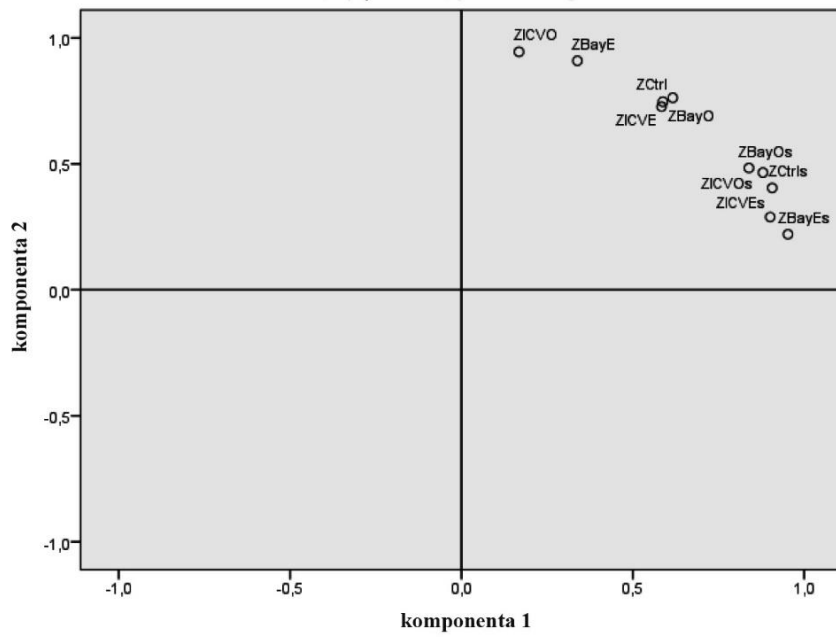
Grupisanje vina Krstača, bez odležavanja i nakon 12 meseci sazrevanja u bocama, je vršeno u odnosu na 19 etil estara acetata i laktona (Tabele 12 i 33). Na Katelovom dijagramu su se izdvojile dve komponente i primenjena je analiza bez rotacije koja najbolje opisuje varijabilnost novih komponenti. Prva komponenta objašnjava 66,85 % varijabiliteta, druga 27,41 %, dok obe objašnjavaju 94,27 % varijanse. Na osnovu PCA analize, može se konstatovati da su se razdvojila odležala vina K Bay E s i K ICV O s, od uzoraka vina K ICV O i K Bay E (slika 25).



Slika 25. Grupisanje vina Krstača pre i posle 12 meseci sazrevanja, u odnosu na sadržaj etil estara, acetata i laktona

Na osnovu t-testa uparenih uzoraka može se konstatovati da postoji statistički značajna razlika u sadržaju etil estara, acetata i laktona ($p < 0,05$), između uzoraka K Bay O i K Bay O s, Z ICV O i Z ICV O s. U ovom eksperimentu sa sazrevanjem vina, došlo je do rasta koncentracija etil estara (etil laktata, dietil sukcinata, dietil hidroksibutandioata, etil hidrogen sukcinata) i γ -butirolaktona, a do snižavanja koncentracija etil 4-hidroksibutanoata, izoamil acetata, 1,3 propandiol diacetata i 2-feniletal acetata u vinima Krstača i Žižka.

U odnosu na 19 etil estara, acetata i laktona, vršeno je grupisanje vina Žižka, bez odležavanja i nakon 12 meseci sazrevanja u bocama (Tabele 13 i 34). Na Katelovom dijagramu su se izdvojile dve komponente. Primenjena je ortogonalna varimax rotacija koja najbolje opisuje varijabilnost novih komponenti. Prva komponenta objašnjava 51,97 % varijabiliteta, druga 41,60 %, dok obe objašnjavaju 93,58 % varijanse. Na osnovu PCA analize (slika 26), može se konstatovati da su se jasno razdvojila vina koja su odležavala 12 meseci (prva komponenta) u odnosu na vina koja nisu sazrevala i nalaze se u komponenti 2.



Slika 26. Grupisanje vina Žižka pre i posle 12 meseci sazrevanja, u odnosu na sadržaj etil estara, acetata i laktone

6. SENZORNA OCENA VINA

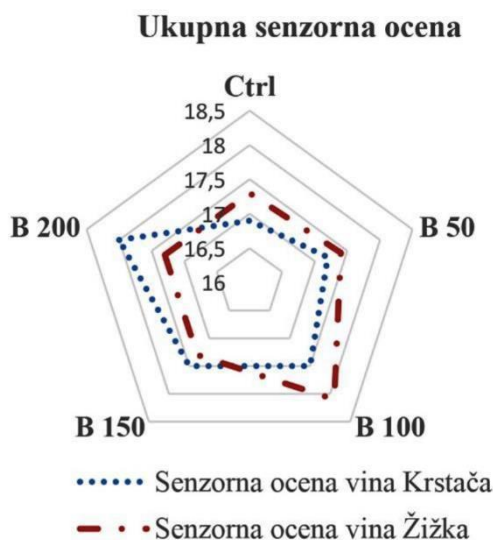
6.1. Senzorna ocena mladih vina sorti Krstač i Žižak

6.1.1. Senzorna ocena vina Krstača, gde su primenjene rastuće koncentracije bentonita (0, 50, 100, 150, 200 g/hl) za bistrenje šire

Boja: Uzorci K Ctrl i K B 50 su bili intenzivnije žute boje, u odnosu na uzorke K B 100, K B 150 i K B 200. Boja uzoraka vina K B 100, K B 150 i K B 200 je bila svetlo žuta, i bile su sličnog obojenja. Bentonit je skinuo boju i sve je u pozitivnoj korelaciji.

Miris: U uzorcima tretiranim bentonitom od 100 i 200 g/hl miris je bio lepši, sa manje oksidativnih tonova, elegantniji, otvoreniji, svežiji i voćniji. Miris je bio na jabuku, ali jabuka koja je u „dobroj kondiciji“. K B 200 se izdvajao na mirisu i najviše se razlikovao, u pozitivnom smislu, u odnosu na druge uzorke. Uzorak K B 150 je po mirisu bio lošiji od K B 100 i K B 200. Vino koje je tretirano bentonitom koncentracije 50 g/hl je bilo bolje na mirisu od kontrole, ali nije bilo bolje od K B 100 i K B 200. Miris kontrole je bio „zamoreniji“, imao je malo više tonova jabuke, ali „zamorenije jabuke“.

Ukus: Na ukusu je najlakši i najglatkiji bio K B 200. K B 150 je bio bolje strukture. U uzorku koji je tretiran bentonitom koncentracije 100 g/hl se osećalo malo „zapinjanje“ i malo blage oporosti. U odnosu na druge uzorke, kontrola je bila na ukusu najpunija ali je imala i najviše „zapinjanja“. Najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Krstača K B 200 (18,0) a najnižu K Ctrl (16,9) (Grafik 63).



Grafik 63. Ukupna senzorna ocena vina Krstača i Žižka (0, 50, 100, 150, 200 g/hl bentonita)

6.1.2. Senzorna ocena vina Krstača, gde su primenjene različite koncentracije metala Fe^{2+} (5 mg/l, 15 mg/l), Zn^{2+} (3 mg/l, 6 mg/l) i Cu^{2+} (3 mg/l, 6 mg/l)

Boja: Boja je kod uzorka K Fe 2 bila svetlo žuta i svetlija u odnosu na K Fe 1 i K Ctrl.

Miris: Miris K Fe 2 je bio za nijansu bolji od K Fe 1. Kod uzorka sa nižom koncentracijom gvožđa (K Fe 1) miris je bio manje intenzivan, u odnosu na kontrolu.

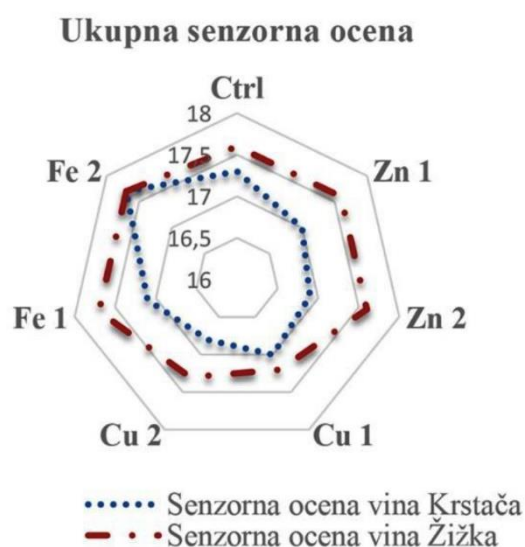
Ukus: Na ukusu je bila evidentna razlika između uzoraka. Ukus vina K Fe 2 je bio bolji od kontrole. Ovo vino je imalo više voćnosti, manje je bilo grubo, sa lepom kiselinom. Ukus K Fe 1 je bio lošiji od K Fe 2, metalno je stezao i skupljao zube i jezik.

Boja: Vina Krstača, gde su dodate različite koncentracije cinka, imala su slamasto žutu boju i bila su neizmenjena kod svih uzoraka.

Miris: Kod ovih tretmana, kontrola je bila bolja od K Zn 1 i K Zn 2. Miris je bio nešto smanjenog intenziteta u odnosu na kontrolu, posebno kod K Zn 2.

Ukus: K Zn 1 i K Zn 2 su imali metalnu gorčinu, oporost i kiselost je bila smanjena. Delovali su prazniji na ukusu, imali su manje ekstrakta, u odnosu na kontrolu. Zbog prisustva metala, posebno je bio opor K Zn 2.

Boja: Po boji K Cu 2 je bio svetliji, u odnosu na K Cu 1 i K Ctrl. To nam govori da je primenom ovog tretmana došlo do skidanja bojenih materija. U ovom eksperimentu, najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Krstača K Fe 2 (17,7) a najnižu K Cu 2 (16,8) (Tabela 21 i 22). Senzornim ocenjivanjem, vina Žižka su dobijala više poena, u odnosu na vina Krstača (Grafik 64).



Grafik 64. Ukupna senzorna ocena vina Krstača i Žižka (primena Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+})

Miris: Mirisne materije su opadale sa intenzitetom tretmana. Najintenzivnije su bile kod kontrole, a najmanje izražene kod K Cu 2. Nije bila velika razika, ali se osetila promena.

Ukus: Na ukusu najkraću postojanost arome imao je K Cu 2, i zato je delovao prazno na ukusu. Kod ovog uzorka se javljala metalna oporost, dok kod K Cu 1 i K Ctrl nije bilo te oporosti. K Ctrl je imao više ekstrakta u odnosu na druga dva vina.

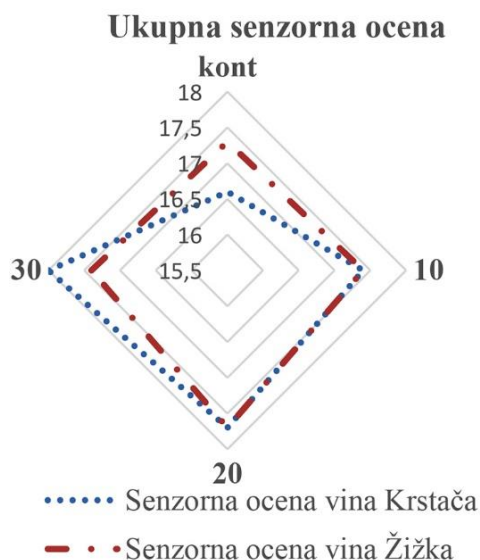
6.1.3. Senzorna ocena vina Krstača, dobijenih primenom različitog vremena taloženja šire (10 h, 20 h, 30 h)

Boja: Po boji su bile približne kontrola i K 10. Kod K 10 se javljala nešto žuća boja koja je bila jednaka sa kontrolom. Najsvetlija, najprihvatljivija i najdopadljivija boja je bila kod K 20 i K 30. Boja ovih uzoraka je bila elegantnija i lepša. K pres je bio intenzivno obojenih mrkih tonova, mrke boje.

Miris: Najčistiji i najelegantniji miris se javljao kod K 30 i razikovao se od K 20. Miris kod K 30 je bio svežiji, elegantniji i voćniji, dok kod K 20 se dobio dopadljiv miris, bio je „zamoreniji“ na jabuku, i miris je gubio na eleganciji. Kod K 20 se javljao intenzivniji „ton jabuke“, u odnosu na K 30. Kontrola je imala najizraženiji „ton jabuke“, koji nije imao eleganciju, dok se kod K 10 „ton jabuke“ približavao kontroli. U preševini, gde je bio primenjen pritisak od 1,8 bara, miris je bio interesantan,

intenzivan, javljali su se „tonovi meda“. Preševina je na mirisu bila izmenjena na sortnost i išla ka „zamorenijem“ mirisu.

Ukus: Na ukusu K 30 je bio umereno pun i elegantan. K 20 delovao puniji na ukusu od K 30, malo je bio „šatiran“ fenonim jedinjenjima. K 10 je bio puniji od uzoraka K 20 i K 30 ali je bio znatno oporiji, i približavao se kontroli, koji je na ukusu bio opor, grub i najviše pun. Preševina (primena pritiska od 1,8 bara) je imala nešto manje kiselina, bila je umerene oporosti i oštine, imala je dosta ekstrakta i bila puna na ukusu. Najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Krstača K 30 (18,0) a najnižu K kont (16,6) (Tabela 21 i 22). Ukupna senzorna ocena vina Krstača i Žižka je prikazana na grafiku 65.



Grafik 65. Ukupna senzorna ocena vina Krstača i Žižka (taloženje šire: 0, 10 h, 20 h, 30 h)

6.1.4. Senzorna ocena vina Krstača, dobijenih primenom maceracije kljuka (4 h, 8 h) i enzima (Lallzyme cuveé blanc, Lallzyme beta)

Boja: Uzorci (K CB4h i K CB8h) su imali lepu svetlo žutu boju i nije bilo razlike u boji između tretmana.

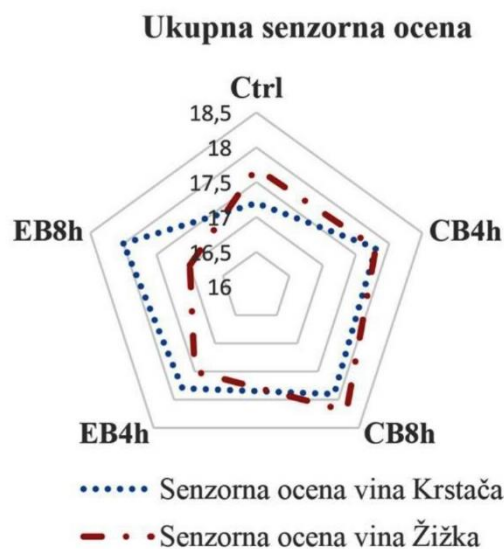
Miris: Što se tiče mirisa, nije bilo značajne razlike između tretmana, i miris je bio približno istog intenziteta.

Ukus: Postojala je velika razlika na ukusu između tretmana. U vinu koji je tretiran enzimom cuveé blanc u trajanju 8 sati, nije bilo paljenja, oporosti i tvrdoće. Uzorak je bio najmekši na ukusu. K CB4h je bio puniji, oporiji i tvrđi na ukusu, u odnosu na K CB8h. Kod kontrole je bila najizraženija oporost i tvrdoća.

Boja: Kod uzoraka K EB4h i K EB8h je bila lepa svetlo žuta boja, i nije bilo razlike u boji između tretmana.

Miris: Kontrola je imala najslabiji miris. Intenzitet mirisa kod tretmana je rastao od kontrole do K EB8h, gde je bio najintenzivniji. K EB4h je imao nešto niži intenzitet mirisa, u odnosu na K EB8h.

Ukus: Na ukusu K EB8h je bio najmekši i sa najdužom postojanošću arome. K EB4h je imao neku oštrinu tj. prožetost fenolnim jedinjenjima. Kod kontrole je bio najintenzivniji „oštri ton“ na ukusu i „oporost“. U ovom eksperimentu, najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Krstača K EB8h (18,0) a najnižu K Ctrl (17,2) (Grafik 66).

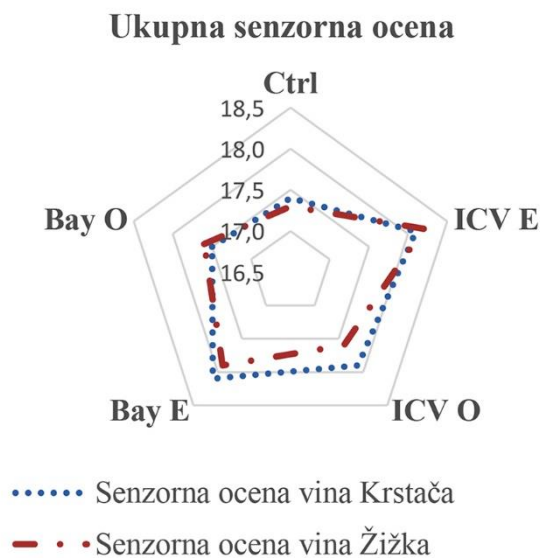


Grafik 66. Ukupna senzorna ocena vina Krstača i Žižka (primena maceracije kljuka 4 h, 8 h i enzima Lallzyme cuveé blanc, Lallzyme beta)

6.1.5. Senzorna ocena vina Krstača, dobijenih primenom različitih kvasaca (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus*) i hraniva za kvasce (Fermamid E, Fermamid O)

Boja: Uzorci su imali svetlo žutu boju. Boja K Bay E je bila nešto svetlija u odnosu na K Bay O.

Miris: K Bay E je bio bolji po mirisu od K Bay O. K Bay E je imao manje jabučnih tonova, miris je bio intenzivan i reduktivan. Najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Krstača K ICV E i K Bay E (18,1) a najnižu K Ctrl (17,4) (Grafik 67).



Grafik 67. Ukupna senzorna ocena vina Krstača i Žižka (primena kvasaca: *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus* i hraniva za kvasce fermamid E, fermamid O)

Ukus: K ICV E je imao bolju postojanost arome i zbog toga je delovao puniji na ukusu. K Bay E je bio puniji u odnosu na K Bay O. K Bay O je imao daleko nižu postojanost arome i bio je prazniji od prethodnog tretmana.

6.1.6. Senzorna ocena vina Žižka, gde su primenjene različite koncentracije bentonita (0, 50, 100, 150, 200 g/hl) za bistrenje šire

Boja: Boja je bila slamasto žuta i nije bilo razlike u boji između uzoraka vina Žižka.

Miris: Z B 100 je bio najbolji uzorak, miris je bio čist i nije bio promenjen u odnosu na kontrolu. Z B 50 je po mirisu bio sličan kontroli, dok kod Z B 150 je bilo skinuto dosta mirisa. Miris Z B 200 je bio dosta oštećen.

Ukus: Na ukusu kontrola je bila najpunija, imala je punoću ukusa, oštrinu, bila je prisutna blaga oporost i „šatiranost“ fenolima. Z B 50 je bio približno isti kao kontrola. Kod uzorka koji je tretiran bentonitom koncentracije 100 g/hl je bio najboljeg ukusa, koji je bio pitak, mek, bez oporosti i bio je glatak na ukusu. Z B 150 je na ukusu bio dosta ispražnjen, dok kod Z B 200 ukus je bio dosta oštećen, i vino je bilo lako i stanjeno. Najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Žižka Z B 100 (18,1) a najnižu Z Ctrl, Z B 150 i Z B 200 (17,3) (Tabela 22).

6.1.7. Senzorna ocena vina Žižka, gde su primenjene različite koncentracije metala Fe²⁺ (5 mg/l, 15 mg/l), Zn²⁺ (3 mg/l, 6 mg/l) i Cu²⁺ (3 mg/l, 6 mg/l)

Boja: Po boji se uzorci nisu razlikovali i ona je bila slamasto žuta (uzorci gde su bile dodate različite koncentracije gvožđa).

Miris: Nije bilo neke velike razlike u mirisu između kontrole, Z Fe 1 i Z Fe 2.

Ukus: Sa porastom tretmana povećavala se postojanost arome. Z Fe 2 je imao najveću postojanost arome.

Boja: Boja je bila slamasto žuta u svim uzorcima, gde su bile dodate različite koncentracije cinka.

Miris: Vina su bila sličnih aromatskih karakteristika.

Ukus: Vina Z Ctrl, Z Zn 1 i Z Zn 2 su bila sličnih ukusnih karakteristika. Kontrola je imala više punoće.

Boja: Kod uzoraka gde su dodate različite koncentracije cinka, boja je bila slamasto žuta. Najjači intenzitet boje je primećen u kontrolnom vinu.

Miris: U kontrolnom uzorku je bilo više arome, sortnosti i punoće. Kod Z Cu 2 miris je bio lep, voćni.

Ukus: Z Cu 2 je bio umerenog punog, glatkog ukusa, srednje postojanosti arome. Z Cu 2 je bio malo ispražnjeniji na ukusu, u odnosu na Z Cu 1. U ovom eksperimentu, najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Žižka Z Fe 1 i Z Fe 2 (17,7) a najnižu Z Cu 1 (17,2) (Tabela 22).

6.1.8. Senzorna ocena vina Žižka, dobijenih primenom različitog vremena taloženja šire (10 h, 20 h, 30 h)

Boja: Boja je bila slamasto žuta i približno je bila istog intenziteta u svim uzorcima. Uzorak gde je primenjen pritisak od 1,8 bara je bio mrkih tonova.

Miris: Kod kontrole miris je bio najintenzivniji, lep, aromatičan. Miris Z 30 je bio čist, lep, intenzivan, dopadljiv. Kod Z 20 miris je bio lep, dopadljiv, sortni, dok miris Z 10 je bio normalan, sa nešto manje mirisa. U odnosu na kontrolu, taloženjem se pojačavao miris na krušku, i taj miris je bio najjači kod Z 30. Miris uzorka vina Z pres je bio korektan i imao je „zamoreniji“ miris.

Ukus: Na ukusu Z 30 je bio lep, gladak, a imao je malo kraću postojanost arome. U odnosu na Z 30, Z 20 je bio puniji na ukusu, postojanost arome je bila duža, na ukusu je bio gladak. Z 10 je bio puniji od Z 30 i Z 20, ali je imao malo trpkosti, oporosti, oštine i malo je bio grub na ukusu. Sa porastom vremena trajanja gravitacionog taloženja, smanjivala se postojanost arome. Kontrola je na ukusu bila gruba i opora. Na ukusu je Z pres bio pun i bez oporosti. Najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Žižka Z 20 (17,7) a najnižu Z 10 (17,2) (Tabela 22).

6.1.9. Senzorna ocena vina Žižka, dobijenih primenom maceracije kljuka (4 h, 8 h) i enzima (Lallzyme cuveé blanc, Lallzyme beta)

Boja: Boja vina Žižka (Z Ctrl, Z CB4h, Z CB8h) je bila slamasto žuta i približno istog intenziteta u svim uzorcima.

Miris: Svi uzorci su bili intenzivnog voćnog mirisa. Miris kod tretmana je rastao i najintenzivniji je bio u uzorku Z CB8h, blaži u Z CB4h i najslabiji u kontroli.

Ukus: Na ukusu je Z CB8h bio najintenzivniji, najvoćniji i najglatkiji.

Boja: Boja uzoraka Z Ctrl, Z EB4h i Z EB8h je bila slamasto žuta, i približno je bila istog intenziteta u svim uzorcima.

Miris: Među uzorcima Z Ctrl i Z EB4h nije postojala značajna razlika u pogledu intenziteta mirisa (Tabela 22).

Ukus: Tretmani su bili glatki na ukusu, bez doze oporosti i gorčine, koja se osetila u kontroli. U odnosu na Z EB8h, Z EB4h je imao bolje ukusne karakteristike i bio je glatkiji na ukusu (Tabela 22). Najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Žižka Z CB8h (18,2) a najnižu Z EB8h (17,0).

6.1.10. Senzorna ocena vina Žižka, dobijenih primenom različitih kvasaca (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus*) i hraniva za kvasce (Fermaid E, Fermaid O)

Boja: Boja je bila približno ista u svim uzorcima, slamasto žuta. Z ICV E je bio najsvetliji.

Miris: Z ICV E je imao najvoćniji, najraskošniji i razućeniji miris, u odnosu na uzorke Z Ctrl i Z ICV O. Kod kontrole miris je bio intenzivniji, dok Z ICV O je imao više „jabučnog tona“. Vina koja su dobijena sa dodavanjem hraniva za kvasce, fermaid O (Z ICV O, Z Bay O) su dobile niže ocene, u odnosu na uzorke gde je bio primenjen fermaid E (Z ICV E i Z Bay E) (Tabela 22).

Ukus: Z ICV E je na ukusu bio najglatkiji, u odnosu na Z ICV O i Z Ctrl. Kontrola je imala više oporog i grubog ukusa, dok Z ICV O je na ukusu imao diskretne oporosti i malo grubosti. Vina Z ICV E i Z Bay E su dobila više poena (10,6; 10,4), u odnosu na Z ICV O i Z Bay O (10,3). U ovom eksperimentu, najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Žižka Z ICV E (18,2) a najnižu Z Ctrl (17,3) (Tabela 22).

Tabela 21. Senzorna ocena vina Krstača dobijenih primenom različitih tretmana

Uzorci vina (tretmani)	Skraćenica	Senzorna ocena (poeni)				Ukupna ocena
		Boja	Bistrina	Miris	Ukus	
Kontrola	K Ctrl	1,7	2,0	3,2	10,0	16,9
Bentonit (50 mg/l)	K B 50	1,8	2,0	3,2	10,2	17,2
Bentonit (100 mg/l)	K B 100	2,0	2,0	3,2	10,3	17,5
Bentonit (150 mg/l)	K B 150	2,0	2,0	3,1	10,4	17,5
Bentonit (200 mg/l)	K B 200	2,0	2,0	3,3	10,7	18,0
Kontrola	K Ctrl	2,0	2,0	3,3	10,0	17,3
Primena jona Zn ²⁺ (3 mg/l)	K Zn 1	2,0	2,0	3,2	9,8	17,0
Primena jona Zn ²⁺ (6 mg/l)	K Zn 2	2,0	2,0	3,1	9,8	16,9
Primena jona Cu ²⁺ (3 mg/l)	K Cu 1	2,0	2,0	3,1	9,9	17,0
Primena jona Cu ²⁺ (6 mg/l)	K Cu 2	2,0	2,0	3,0	9,8	16,8
Primena jona Fe ²⁺ (5 mg/l)	K Fe 1	1,8	2,0	3,1	10,2	17,1
Primena jona Fe ²⁺ (15 mg/l)	K Fe 2	2,0	2,0	3,2	10,5	17,7
Kontrola	K kont	1,8	2,0	3,0	9,8	16,6
Taloženje 10 h	K 10	1,8	2,0	3,3	10,3	17,4
Taloženje 20 h	K 20	2,0	2,0	3,3	10,4	17,7
Taloženje 30 h	K 30	2,0	2,0	3,4	10,6	18,0
Samotok (p=0)	K sam	1,8	2,0	3,0	9,8	16,6
Presovanje (p=1,8 bar)	K pres	1,8	2,0	3,0	9,6	16,4
Kontrola	K Ctrl	2,0	2,0	3,2	10,0	17,2
Maceracija (4 h, 5°C) Lallzyme cuveé blanc	K CB4h	2,0	2,0	3,4	10,4	17,8
Maceracija (8 h, 5°C) Lallzyme cuveé blanc	K CB8h	2,0	2,0	3,4	10,5	17,9
Maceracija (4 h, 5°C) Lallzyme beta	K EB4h	2,0	2,0	3,5	10,3	17,8
Maceracija (8 h, 5°C) Lallzyme beta	K EB8h	2,0	2,0	3,5	10,5	18,0
Kontrola	K Ctrl	2,0	2,0	3,3	10,1	17,4
<i>Sacchar. cerevisiae</i> , Fermaid E	K ICV E	2,0	2,0	3,5	10,6	18,1
<i>Sacchar. cerevisiae</i> , Fermaid O	K ICV O	2,0	2,0	3,4	10,5	17,9
<i>Sacchar. bayanus</i> , Fermaid E	K Bay E	2,0	2,0	3,5	10,6	18,1
<i>Sacchar. bayanus</i> , Fermaid O	K Bay O	2,0	2,0	3,3	10,2	17,5

Boja: max. do 2 poena; bistrina: max. do 2 poena; miris: max. do 4 poena; ukus: max. do 12 poena; ukupna senzorna ocena: max. do 20 poena (Bux-Baum metod).

Tabela 22. Senzorna ocena vina Žižka dobijenih primenom različitih tretmana

Uzorci vina (tretmani)	Skraćenica	Senzorna ocena (poeni)				Ukupna ocena
		Boja	Bistrina	Miris	Ukus	
Kontrola	Z Ctrl	2,0	2,0	3,4	9,9	17,3
Bentonit (50 mg/l)	Z B 50	2,0	2,0	3,4	10,0	17,4
Bentonit (100 mg/l)	Z B 100	2,0	2,0	3,5	10,6	18,1
Bentonit (150 mg/l)	Z B 150	2,0	2,0	2,9	10,4	17,3
Bentonit (200 mg/l)	Z B 200	2,0	2,0	3,0	10,3	17,3
Kontrola	Z Ctrl	2,0	2,0	3,3	10,3	17,6
Primena jona Zn ²⁺ (3 mg/l)	Z Zn 1	2,0	2,0	3,3	10,3	17,6
Primena jona Zn ²⁺ (6 mg/l)	Z Zn 2	2,0	2,0	3,3	10,3	17,6
Primena jona Cu ²⁺ (3 mg/l)	Z Cu 1	2,0	2,0	3,2	10,0	17,2
Primena jona Cu ²⁺ (6 mg/l)	Z Cu 2	2,0	2,0	3,3	10,0	17,3
Primena jona Fe ²⁺ (5 mg/l)	Z Fe 1	2,0	2,0	3,4	10,3	17,7
Primena jona Fe ²⁺ (15 mg/l)	Z Fe 2	2,0	2,0	3,3	10,4	17,7
Kontrola	Z kont	2,0	2,0	3,4	9,9	17,3
Taloženje 10 h	Z 10	2,0	2,0	3,2	10,0	17,2
Taloženje 20 h	Z 20	2,0	2,0	3,2	10,5	17,7
Taloženje 30 h	Z 30	2,0	2,0	3,4	10,2	17,6
Samotok (p=0)	Z sam	2,0	2,0	3,4	9,9	17,3
Presovanje (p=1,8 bar)	Z pres	2,0	2,0	3,2	10,0	17,2
Kontrola	Z Ctrl	2,0	2,0	3,4	10,3	17,7
Maceracija (4 h, 5°C) Lallzyme cuveé blanc	Z CB4h	2,0	2,0	3,4	10,4	17,8
Maceracija (8 h, 5°C) Lallzyme cuveé blanc	Z CB8h	2,0	2,0	3,6	10,6	18,2
Maceracija (4 h, 5°C) Lallzyme beta	Z EB4h	2,0	2,0	3,4	10,1	17,5
Maceracija (8 h, 5°C) Lallzyme beta	Z EB8h	2,0	2,0	3,2	9,8	17,0
Kontrola	Z Ctrl	2,0	2,0	3,3	10,0	17,3
<i>Sacchar. cerevisiae</i> , Fermaid E	Z ICV E	2,0	2,0	3,6	10,6	18,2
<i>Sacchar. cerevisiae</i> , Fermaid O	Z ICV O	2,0	2,0	3,3	10,3	17,6
<i>Sacchar. bayanus</i> , Fermaid E	Z Bay E	2,0	2,0	3,5	10,4	17,9
<i>Sacchar. bayanus</i> , Fermaid O	Z Bay O	2,0	2,0	3,3	10,3	17,6

Boja: max. do 2 poena; bistrina: max. do 2 poena; miris: max. do 4 poena; ukus: max. do 12 poena; ukupna senzorna ocena: max. do 20 poena (Bux-Baum metod).

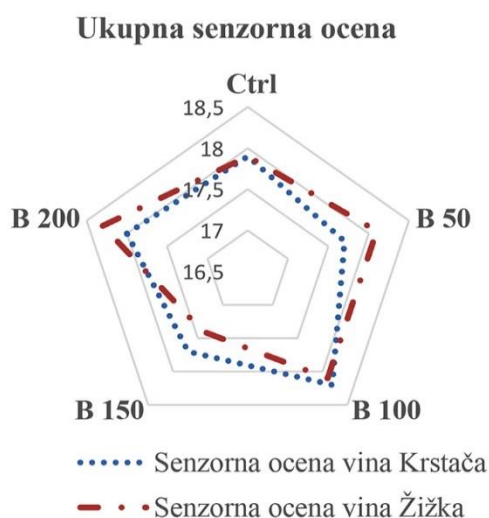
6.2. Senzorna ocena odležalih vina sorti Krstač i Žižak

6.2.1. Senzorna ocena odležalih vina Krstača, gde su primenjene različite koncentracije bentonita (0, 50, 100, 150, 200 g/hl) za bistrenje šire

Boja: Sa porastom koncentracije bentonita (50 g/hl), intenzitet boje se smanjio kod K B 50 s, ne mnogo, ali evidentno. Kod uzoraka K B 100 s, K B 150 s, K B 200 s, smanjenje boje je bilo znatno u odnosu na kontrolu, s tim da je kod navedena tri tretmana bila vizuelno slična boja, a nije se obezbojilo vino. K Ctrl s je imao najintenzivniju boju.

Miris: U uzorku koji nije tretiran bentonitom K Ctrl s, miris je bio na jabuku tj. miris na jabuku koja je bila u „dobroj kondiciji“. Kod uzorka koji je tretiran bentonitom koncentracije 50 g/hl, miris je bio nešto slabiji u odnosu na kontrolu, dok u uzorku K B 100 s, intenzitet mirisa je bio lep tj. bentonit nije skinuo mirisne materije. Sa povećavanjem koncentracije bentonita koji je bio primenjen u uzorcima, intenzitet mirisa se smanjivao. K B 200 s je bio na nivou intenziteta mirisa K B 150 s (Tabela 23).

Ukus: K B 200 s je na ukusu bio lep, umereno pun, možda mu je nedostajalo malo punoće ali je bio glatak. Nije imao fenolnu strukturu, ništa nije zapinjalo i vino nije imalo „mlitavu“ teksturu. Kod uzorka K B 150 s se osećala struktura jedinjenja i mala oporost. U odnosu na prethodna dva, K B 100 s je bio puniji na ukusu i intenzivnijeg mirisa, ali je imao ukus koji je bio sličan sa K B 200 s. K B 50 s je imao problematičnu oporost, dok je kontrola imala punoću i oporost. Najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Krstača K B 100 s (18,2) a najnižu K B 50 s i K B 150 s (17,7). (Grafik 68).



Grafik 68. Ukupna senzorna ocena odležalih vina Krstača i Žižka

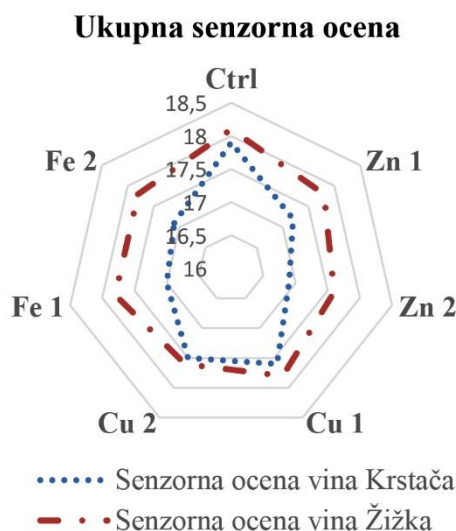
6.2.2. Senzorna ocena odležalih vina Krstača, gde su primenjene različite koncentracije metala Fe^{2+} (5 mg/l, 15 mg/l), Zn^{2+} (3 mg/l, 6 mg/l) i Cu^{2+} (3 mg/l, 6 mg/l)

Boja: K Ctrl s je imao slamasto žutu boju, dok je kod K Cu 1 s boja bila svetlija slamasto žuta. Za nijansu svetliju boju od kontrole imali su uzorci K Cu 2 s i K Fe 1 s. Sličnu boju sa kontrolom imali su K Zn 1 s i K Zn 2 s, dok je K Fe 2 s bio svetliji od kontrole.

Miris: U odnosu na K Cu 1 s i K Cu 2 s, K Ctrl je imao najviši i najbogatiji intenzitet mirisa (imao je najviše voćnosti). Miris K Cu 1 s je bio čist, i intenzitet mirisa je bio slabiji u odnosu na kontrolu. K Cu 2 s je bio sličan sa K Cu 1 s po intenzitetu i kvalitetu mirisa, s tim što K Cu 2 s je imao za

nijansu slabiji intenzitet mirisa. K Zn 1 s je sličan K Cu 2 s, i imao je niži intenzitet mirisa od njega. K Zn 2 s je imao slabiji intenzitet mirisa od K Zn 1 s. Uzorci K Fe 1 s i K Fe 2 s su imali sličan intenzitet mirisa.

Ukus: Na ukusu je K Ctrl s je bio najbolji uzorak. Od ovog uzorka nije bilo stezanja zuba i osećala se blaga gorčina u grlu. K Cu 1 s nije imao gorčine ali prilikom degustacije blago je stezao zube. Delovao je praznije na ukusu u odnosu na kontrolu, možda zbog toga što je ovaj uzorak imao manje mirisnih materija. K Cu 2 s je na ukusu bio sličan uzorku K Cu 1 s. Uzorak K Zn 1 s je imao gorčinu i prilikom degustacije je dolazilo do stezanja zuba, dok K Fe 2 s je malo stezao zube i imao blagu gorčinu. K Fe 1 s je na ukusu bio malo prazniji nego K Fe 2 s. Delovao je da je imao najviše kiselina i na ukusu imao je voćnosti. K Fe 2 s je bio najblaži po gorčini i imao je najviše voćnosti. U ovom eksperimentu, najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Krstača K Ctrl s (17,9) a najnižu K Zn 2 s (16,9). Ukupna senzorna ocena vina Krstača i Žižka prikazana je na grafiku 69.



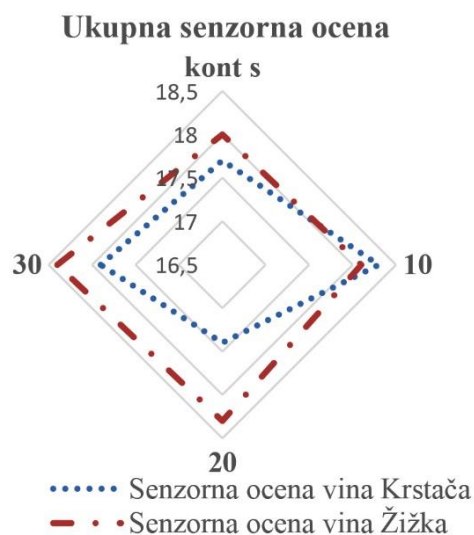
Grafik 69. Ukupna senzorna ocena odležalih vina Krstača i Žižka (primena Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+})

6.2.3. Senzorna ocena odležalih vina Krstača, dobijenih primenom različitih vremena taloženja šire (10 h, 20 h, 30 h)

Boja: K kont s je imao najintenzivniju boju, a ostali uzorci su imali sa vremenom taloženja tendenciju smanjenja obojenosti, koja nije bila velika, ali je bila evidentna.

Miris: K kont s je imao najintenzivniji miris (ne mnogo), bolje rečeno drugačijeg tipa, osetila se dominantnost jabuke (malo zamorene). U uzorku K 10 s miris je bio razućeniji, elegantniji, miris je bio na voće. U uzorku K 20 s se osećala blaga nećistoća u mirisu. K 30 s je imao nešto niži intenzitet mirisa, u odnosu na K 10 s.

Ukus: Na ukusu K 20 s je bio „zamoren“ jer je dugo tekla fermentacija. Ukus kod uzorka K 10 s je bio dobar, čist i glatak. Najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Krstača K 10 s (18,3) a najnižu K 20 s (17,4) (Tabele 23 i 24). Ukupne senzorne ocene vina Krstača i Žižka su prikazane na grafiku 70.

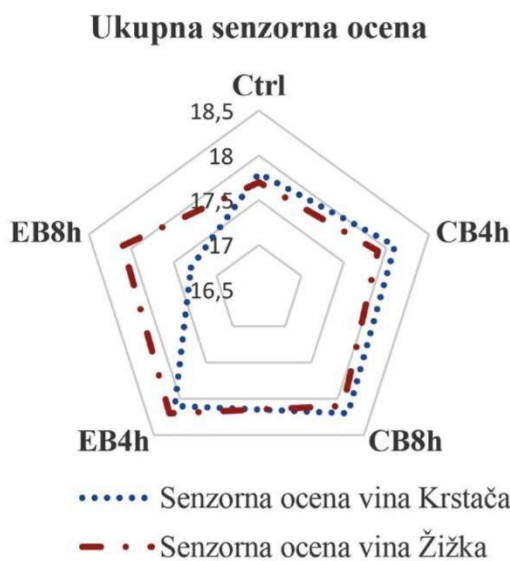


Grafik 70. Ukupna senzorna ocena odležalih vina Krstača i Žižka (taloženje 0, 10 h, 20 h, 30 h)

6.2.4. Senzorna ocena odležalih vina Krstača, dobijenih primenom maceracije kljuka (4 h, 8 h) i enzima (Lallzyme cuveé blanc, Lallzyme beta)

Boja: Uzorci K CB4h s i K EB4h s (uzorci sa kraćem vremenom maceracije) su imali boju koja je bila približna kontroli. Uzorci sa dužim vremenom maceracije (K CB8h s i K EB8h s), imali su neznatno intenzivniju boju u odnosu na kontrolu.

Miris: Kontrola je imala miris jabuke, miris je bio jednostran, neinteresantan, malo zamoren. U odnosu na kontrolu, vina enzimiranih uzoraka su bila lepšeg, razućenijeg, ne tako jednostranog mirisa. U odnosu na kontrolu, uzorak K CB8h s je bio lepši, sa razućenijom aromom, izvanrednim mirisom, sa lepim kiselinama i voćnosti. Osećala se jedna glatkoća u ukusu, u odnosu na kontrolu i K CB4h s. Miris K CB4h s je bio bolji od K EB4h s. K EB8h s je imao najlošiji miris, verovatno zbog fermentacije koja je dugo trajala. Najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Krstača K CB8h s (18,2) a najnižu K EB8h s (17,3) (Grafik 71).



Grafik 71. Ukupna senzorna ocena odležalih vina Krstača i Žižka (primena maceracije kljuka 4 h, 8 h i enzima Lallzyme cuveé blanc, Lallzyme beta)

Ukus: Postojala je velika razlika na ukusu između tretmana. U vinu koji je tretiran enzimom cuvee blanc u trajanju od 8 h, nije bilo paljenja, oporosti i tvrdoće. Uzorak je bio najmekši na ukusu i ovaj uzorak je dobio najbolju ocenu prilikom degustacije. K EB8h s je imao izmenjen ukus usled duge fermentacije. Enzimi kao da su smanjivali oporost, odnosno razlagali fenolna jedinjenja koja daju oporost.

6.2.5. Senzorna ocena odležalih vina Krstača, dobijenih primenom različitih kvasaca (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus*) i hraniva za kvasce (Fermaid E, Fermaid O)

Boja: Uzorak Bay E s je imao nešto svetliju boju u odnosu na Bay O s.

Miris: Bay E s je imao, voćni, dopadljiv, elegantan miris, dok je Bay O s imao razućden miris, na „zamorenu“ jabuku i voćni miris. Miris uzoraka ICV E s i ICV O s je približno isti, sa manje mirisa na jabuku.

Ukus: Bay E s na ukusu deluje lako, lepršavo, relativno kratke postojanosti arome. Bay O s je puniji na ukusu, sa lepšim kiselinama, boljom postojanosti arome, ali ima više oporosti u odnosu na Bay E s. ICV E s je zaokruženiji i puniji na ukusu dok ICV O ima malo više oporosti. Zbog oporosti uzorci gde je dodat fermaid O su dobili niže ocene (Tabela 23). Najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Krstača K ICVE s (18,4) a najnižu K Ctrl s (17,8).

6.2.6. Senzorna ocena odležalih vina Žižka, gde su primenjene različite koncentracije bentonita (0, 50, 100, 150, 200 g/hl) za bistrenje šire

Boja: Vizuelno se moglo konstantovati da je nešto svetliji uzorak Z B 200 s, u odnosu na kontrolu.

Miris: Nije bilo značajne razlike u intenzitetu i kvalitetu mirisa između svih uzoraka (osim Z B 150).

Ukus: Na ukusu je kontrola bila umereno puna, s tim što se u ovom uzorku osetila jedna blaga oporost. Osetila se neka fenolna nota koja narušava glatkoću ukusa. Kod Z B 50 s na ukusu je imalo još uvek te „hrapavosti“ ali nešto manje izražene, nego kod kontrole. U uzorku Z B 100 s, oporosti skoro da nije imalo i dobila se glatkoća i elegancija. Nešto veća oporost se mogla degustacijom osetiti u vinu Z B 150 s. U ovom uzorku miris i ukus je bio lošiji u odnosu na druge uzorke. Z B 200 s je imao lepe glatkoće, delovao je malo praznije na ekstraktu. Imao je eleganciju i glatkoću. Najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Žižka Z B 200 s (18,3) a najnižu Z B 150 s (17,4) (Tabela 24).

6.2.7. Senzorna ocena odležalih vina Žižka, gde su primenjene različite koncentracije metala Fe²⁺ (5 mg/l, 15 mg/l), Zn²⁺ (3 mg/l, 6 mg/l) i Cu²⁺ (3 mg/l, 6 mg/l)

Boja: Kontrola je delovala neznatno obojenija od ostalih uzoraka, pri čemu Z Cu 1 s i Z Zn 1 s su bili neznatno obojeniji od Z Cu 2 s i Z Zn 2 s. Vino Z Fe 1 s je delovao svetlije od Z Fe 2 s.

Miris: Kod kontrole miris je bio izražen, imao je voćni karakter. Malo je aromatičnija bila kontrola od drugih uzoraka. Z Cu 1 s je imao voćni miris koji je bio sličan kontroli, sličnog intenziteta. Kod uzoraka Z Cu 2 s i Z Zn 2 s intenzitet mirisa je bio nešto niži, u odnosu na Z Cu 1 s i Z Zn 1 s (Tabela 24). Z Zn 1 s i Z Zn 2 s su bili približnog mirisa kao Z Cu 1 s i Z Cu 2 s. Razlika u intenzitetu mirisa kod Z Fe 1 s i Z Fe 2 s se nije ni osetila.

Ukus: Na ukusu je kontrola bila umereno puna, glatka, sa nešto manje kiselina i sa dozom slasti, nije bilo oporosti. Z Cu 1 s je delovao puniji na ukusu od kontrole. Vino Z Zn 1 s je bilo oporo, na ukusu tupo, sa manjom kiselošću a punoća je bila evidentna. Z Zn 2 s je bio jako opor, slično kao kod Z Zn 1 s, ali još oporije. U uzorcima Z Fe 1 s i Z Fe 2 s je bilo više kiselina nego kod vina kojima je dodat

Cu i Zn. Uzorak Z Fe 1 s je imao više kiselina, osetila se oporost, miris je bio malo slabiji od kontrole. Na ukusu je Z Fe 2 s je bio umereno opor i gorak i kao da je imao nešto više kiselina. U ovom eksperimentu, najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Žižka Z Ctrl s (18,1) a najnižu Z Zn 2 s i Z Cu 2 s (17,6) (Tabela 24).

6.2.8. Senzorna ocena odležalih vina Žižka, dobijenih primenom različitih vremena taloženja šire (10 h, 20 h, 30 h)

Boja: Nije bilo značajnije razlike u boji između svih tretmana.

Miris: Po intenzitetu i kvalitetu mirisa nije bilo značajne razlike. Z 30 s je bio najelegantniji na mirisu.

Ukus: Na ukusu je bio najbolji uzorak Z 30 s. Vino je sa taloženjem dobilo na lepoti, čistoći i glatkoći, dok se smanjila hrapavost. Najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Žižka Z 30 s (18,4) a najnižu Z kont s (18,0) (Tabela 24).

6.2.9. Senzorna ocena odležalih vina Žižka, dobijenih primenom maceracije kljuka (4 h, 8 h) i enzima (Lallzyme cuveé blanc, Lallzyme beta)

Boja: Najintenzivnija boja je bila u kontroli, dok je najsvetlija bila u uzorku Z EB8h s.

Miris: Svi tretirani uzorci enzimima su bili elegantniji, prefinjeniji na mirisu, bez tog običnog „mat tona“. U pogledu intenziteta i kvaliteta mirisa nije bilo neke značajne razlike između Z CB4h s i Z CB8h s. U uzorcima vina, gde je tokom maceracije dodat enzim Lallzyme beta, Z EB4h s je bila intenzivnija na mirisu. U oba uzorka vina Z EB4h s i Z EB8h s, nije bilo oporosti i vina su bila glatka.

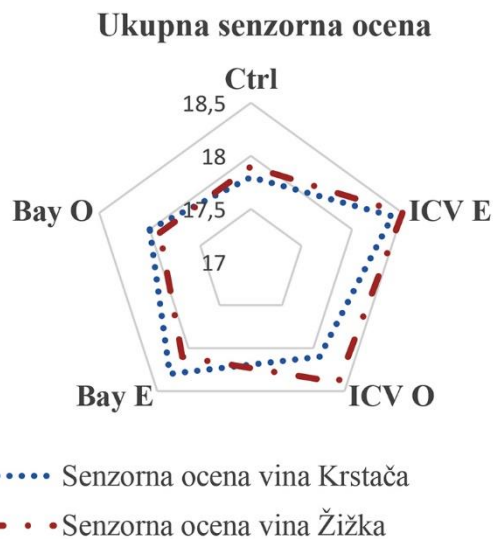
Ukus: U vinima gde je tokom maceracije dodat enzim cuvee blanc, sa porastom vremena maceracije oporost se smanjivala. Tako je Z CB8h s bio bolji uzorak, u odnosu na Z CB4h s. U oba uzorka vina Z EB4h s i Z EB8h s, nije bilo oporosti i vina su bila glatka. Dodati enzim Lallzyme β je više uticao na smanjenje oporosti. Kod dodavanja enzima cuvee blanc tokom maceracije vina su imala malo puniji ukus. U ovom eksperimentu, najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Žižka Z EB4h s (18,2) a najnižu Z Ctrl s (17,7) (Tabela 24).

6.2.10. Senzorna ocena odležalih vina Žižka, dobijenih primenom različitih kvasaca (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus*) i hraniva za kvasce (Fermaid E, Fermaid O)

Boja: Boja je bila nesto svetlija u vinu Z ICV E s u odnosu na Z ICV O s.

Miris: Z ICV E s je imao viši intenzitet mirisa u odnosu na Z ICV O s. Z Bay E s i Z Bay O s su na mirisu bili drugačiji, nego uzorci Z ICV E s i Z ICV O s. Imali su više tog tona kore hleba. Uzorci gde je dodavan kvasac ICV D47 su bili sa više voćnosti i elegantniji.

Ukus: Z ICV O s i Z ICV E s su na ukusu bili elegantniji, glatkiji, bolji po kiselinama i čistoći ukusa. Uzorci Z ICV E s i Z ICV O s su bili bolji od uzoraka Z Bay E s i Z Bay O s, po mirisu i ukusu. Najvišu ukupnu senzornu ocenu dobilo je vino Žižka Z ICV E s (18,5) a najnižu Z Ctrl s i Z Bay O s (17,9). (Tabela 24). Ukupna senzorna ocena vina Krstača i Žižka, za eksperiment sa različitim kvascima i hranivima za kvasce, prikazana je na grafiku 72.



Grafik 72. Ukupna senzorna ocena odležalih vina Krstača i Žižka (primena kvasaca *Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces bayanus*; suplementi za kvasce fermaid E i fermaid O)

Tabela 23. Senzorna ocena odležalih vina Krstača dobijenih primenom različitih tretmana

Uzorci vina (tretmani)	Skraćenica	Senzorna ocena (poeni)				Ukupna ocena
		Boja	Bistrina	Miris	Ukus	
Kontrola	K Ctrl s	2,0	2,0	3,3	10,6	17,9
Bentonit (50 mg/l)	K B 50 s	2,0	2,0	3,2	10,5	17,7
Bentonit (100 mg/l)	K B 100 s	2,0	2,0	3,4	10,8	18,2
Bentonit (150 mg/l)	K B 150 s	2,0	2,0	3,2	10,5	17,7
Bentonit (200 mg/l)	K B 200 s	2,0	2,0	3,2	10,8	18,0
Kontrola	K Ctrl s	2,0	2,0	3,2	10,7	17,9
Primena jona Zn ²⁺ (3 mg/l)	K Zn 1 s	2,0	2,0	2,8	10,4	17,2
Primena jona Zn ²⁺ (6 mg/l)	K Zn 2 s	2,0	2,0	2,7	10,2	16,9
Primena jona Cu ²⁺ (3 mg/l)	K Cu 1 s	2,0	2,0	3,1	10,5	17,6
Primena jona Cu ²⁺ (6 mg/l)	K Cu 2 s	2,0	2,0	3,0	10,5	17,5
Primena jona Fe ²⁺ (5 mg/l)	K Fe 1 s	2,0	2,0	2,8	10,2	17,0
Primena jona Fe ²⁺ (15 mg/l)	K Fe 2 s	2,0	2,0	2,7	10,4	17,1
Kontrola	K kont s	2,0	2,0	3,1	10,6	17,7
Taloženje 10 h	K 10 s	2,0	2,0	3,4	10,9	18,3
Taloženje 20 h	K 20 s	2,0	2,0	2,9	10,5	17,4
Taloženje 30 h	K 30 s	2,0	2,0	3,2	10,7	17,9
Samotok (p=0)	K sam s	2,0	2,0	3,1	10,6	17,7
Presovanje (p=1,8 bar)	K press	2,0	2,0	3,0	10,4	17,4
Kontrola	K Ctrl s	2,0	2,0	3,2	10,6	17,8
Maceracija (4 h, 5°C), Lallzyme cuveé blanc	K CB4h s	2,0	2,0	3,3	10,8	18,1
Maceracija (8 h, 5°C), Lallzyme cuveé blanc	K CB8h s	2,0	2,0	3,2	11,0	18,2
Maceracija (4 h, 5°C), Lallzyme beta	K EB4h s	2,0	2,0	3,2	10,9	18,1
Maceracija (8 h, 5°C), Lallzyme beta	K EB8h s	2,0	2,0	2,8	10,5	17,3
Kontrola	K Ctrl s	2,0	2,0	3,2	10,6	17,8
<i>Sacchar. cerevisiae</i> , Fermaid E	K ICV E s	2,0	2,0	3,3	11,1	18,4
<i>Sacchar. cerevisiae</i> , Fermaid O	K ICV O s	2,0	2,0	3,3	10,8	18,1
<i>Sacchar. bayanus</i> , Fermaid E	K Bay E s	2,0	2,0	3,4	10,9	18,3
<i>Sacchar. bayanus</i> , Fermaid O	K Bay O s	2,0	2,0	3,2	10,8	18,0

Boja: max. do 2 poena; bistrina: max. do 2 poena; miris: max. do 4 poena; ukus: max. do 12 poena; ukupna senzorna ocena: max. do 20 poena (Bux-Baum metod).

Tabela 24. Senzorna ocena odležalih vina Žižka dobijenih primenom različitih tretmana

Uzorci vina (tretmani)	Skraćenica	Senzorna ocena (poeni)					Ukupna ocena
		Boja	Bistrina	Miris	Ukus		
Kontrola	Z Ctrl s	2,0	2,0	3,3	10,6	17,9	
Bentonit (50 mg/l)	Z B 50 s	2,0	2,0	3,4	10,7	18,1	
Bentonit (100 mg/l)	Z B 100 s	2,0	2,0	3,4	10,7	18,1	
Bentonit (150 mg/l)	Z B 150 s	2,0	2,0	3,1	10,3	17,4	
Bentonit (200 mg/l)	Z B 200 s	2,0	2,0	3,5	10,8	18,3	
Kontrola	Z Ctrl s	2,0	2,0	3,4	10,7	18,1	
Primena jona Zn ²⁺ (3 mg/l)	Z Zn 1 s	2,0	2,0	3,3	10,5	17,8	
Primena jona Zn ²⁺ (6 mg/l)	Z Zn 2 s	2,0	2,0	3,2	10,4	17,6	
Primena jona Cu ²⁺ (3 mg/l)	Z Cu 1 s	2,0	2,0	3,3	10,5	17,8	
Primena jona Cu ²⁺ (6 mg/l)	Z Cu 2 s	2,0	2,0	3,2	10,4	17,6	
Primena jona Fe ²⁺ (5 mg/l)	Z Fe 1 s	2,0	2,0	3,3	10,5	17,8	
Primena jona Fe ²⁺ (15 mg/l)	Z Fe 2 s	2,0	2,0	3,3	10,5	17,8	
Kontrola	Z kont s	2,0	2,0	3,3	10,7	18,0	
Taloženje 10 h	Z 10 s	2,0	2,0	3,2	10,9	18,1	
Taloženje 20 h	Z 20 s	2,0	2,0	3,4	10,9	18,3	
Taloženje 30 h	Z 30 s	2,0	2,0	3,4	11,0	18,4	
Samotok (p=0)	Z sam s	2,0	2,0	3,3	10,7	18,0	
Presovanje (p=1,8 bar)	Z press	2,0	2,0	3,2	10,5	17,7	
Kontrola	Z Ctrl s	2,0	2,0	3,2	10,5	17,7	
Maceracija (4 h, 5°C) Lallzyme cuveé blanc	Z CB4h s	2,0	2,0	3,3	10,6	17,9	
Maceracija (8 h, 5°C) Lallzyme cuveé blanc	Z CB8h s	2,0	2,0	3,4	10,7	18,1	
Maceracija (4 h, 5°C) Lallzyme beta	Z EB4h s	2,0	2,0	3,4	10,8	18,2	
Maceracija (8 h, 5°C) Lallzyme beta	Z EB8h s	2,0	2,0	3,4	10,7	18,1	
Kontrola	Z Ctrl s	2,0	2,0	3,2	10,7	17,9	
<i>Sacchar. cerevisiae</i> , Fermaid E	Z ICV E s	2,0	2,0	3,5	11,0	18,5	
<i>Sacchar. cerevisiae</i> , Fermaid O	Z ICV O s	2,0	2,0	3,4	11,0	18,4	
<i>Sacchar. bayanus</i> , Fermaid E	Z Bay E s	2,0	2,0	3,3	10,8	18,1	
<i>Sacchar. bayanus</i> , Fermaid O	Z Bay O s	2,0	2,0	3,2	10,7	17,9	

Boja: max. do 2 poena; bistrina: max. do 2 poena; miris: max. do 4 poena; ukus: max. do 12 poena; ukupna senzorna ocena: max. do 20 poena (Bux-Baum metod).

7. ZAKLJUČAK

Na osnovu ispitivanja uticaja različitih tretmana na sadržaj aromatičnih jedinjenja u vinima Krstač i Žižak, mogu se izvesti sledeći zaključci:

- ❖ U pokožici grožđa Krstač i Žižak, najzastupljeniji aldehidi su bili heksanal i (E) 2-heksenal. Procentualni udeo heksanala i pentanala se snižavao sa sazrevanjem grožđa i bio je najniži u prezrelim uzorcima. Kod (E) 2-heksanala i 3-metil butanala su utvrđeni najviši udeli u prezrelom grožđu. U pokožici grožđa Krstač i Žižak je detektovan terpen D-limonen. Maksimalni sadržaj ovog terpena, za sortu Krstač je postignut u fazi pune zrelosti (0,3 %).
- ❖ U vinima gde je primenjena maceracija, utvrđena je statistički značajna razlika u sadržaju svih aromatičnih jedinjenja između Krstač Ctrl i Krstač EB4h vina, i Ctrl i CB4h vina proizvedenih od sorte Žižak. Najviše koncentracije ukupnih aromatičnih jedinjenja imala su vina gde je maceracija trajala 8 sati i dodavan enzim Lallzyme cuveé blanc (K CB8h, Z CB8h).
- ❖ Među alkoholima, u vinima Krstač i Žižak najviše su bili zastupljeni viši alkoholi kao što su: izoamil, feniletil i izobutil alkohol. Statistička analiza je pokazala značajnu razliku u sadržaju 2-feniletil alkohola između Žižak Ctrl i Z CB8h, i Krstač Ctrl kada se upoređi sa K CB4h i K EB8h. Primenom enzima Lallzyme beta i sa povećanjem trajanja maceracije kod vina Krstača, smanjio se sadržaj alkohola.
- ❖ Vina Krstača i Žižka koja su dobijena dodavanjem različitih enzimskih preparata (cuveé blanc, β -enzim) i maceracija u trajanju 8 h imala su statistički značajno viši sadržaj izoamil i izobutil alkohola, u poređenju sa kontrolnim vinima (osim K EB 8h za izoamil alkohol).
- ❖ Maceracija u trajanju 8 h i upotreba enzimskog preparata Lallzyme β rezultirali su višim sadržajem 1-heksanola u vinu Žižka, u poređenju sa Z CB8h. Najviši sadržaj ukupnih alkohola su imali uzorci vina Krstača i Žižka gde je primenjena prefermentativna maceracija kljuka u trajanju 8 sati, i gde je dodavan Lallzyme cuveé blanc.
- ❖ Kod sorte Žižak, primenom prefermentativne maceracije kljuka u trajanju 4h i 8 h i glikolitičkog enzimskog preparata Lallzyme cuveé blanc (Z CB4h, Z CB8h), i prefermentativne maceracije kljuka u trajanju 4 h i enzima Lallzyme beta (Z EB4h), postoji statistički značajan porast sadržaja etil estara, acetata i laktona, u odnosu na kontrolu (Z Ctrl).
- ❖ Utvrđeno je da je maceracija (4 h, 8 h) sa enzimskim preparatima uticala na statistički značajan porast koncentracija etil butirata, etil heksanoata, etil hidrogen sukcinata, izoamil acetata i feniletil acetata u svim vinima Krstača, dok je došlo do smanjenja sadržaja etil laktata i γ -butirolaktona (osim K CB8h za etil laktat i K EB4h za γ -butirolakton).
- ❖ Izoamil acetat je najzastupljeniji acetat u vinima Krstača i Žižka. Koncentracija izoamil acetata je bila niža u uzorku vina K Ctrl (0,27 mg/l) u odnosu na njegovu koncentraciju u vinu Z Ctrl (0,69 mg/l).
- ❖ γ -butirolakton je jedini detektovani lakton i koncentracije su bile više u vinima Krstača, u odnosu na vina Žižka. Maceracija 4 h i upotreba enzimskog preparata cuveé blanc rezultirali su višim sadržajem etil oktanoata u vinu Žižka, u poređenju sa vinom Žižak Ctrl.
- ❖ U vinima Krstač i Žižak, koja su dobijena prefermentativnom maceracijom kljuka i dodavanjem glikolitičkih enzima, najdominantnije kiseline su bile heksanska, oktanska, dekanska i 9-decenska kiselina.
- ❖ Vina Krstača i Žižka dobijena prefermentativnom maceracijom (4h i 8h) i upotrebom enzimskog preparata glikozidaze, pokazala su viši sadržaj heksanske i oktanske kiseline.
- ❖ Utvrđena je statistički značajna razlika u sadržaju heksanske i oktanske kiseline, između kontrolnih uzoraka (K Ctrl, Z Ctrl) i svih drugih Krstač i Žižak vina dobijenih primenom maceracije (osim K CB 4h za heksansku i oktansku kiselinu).
- ❖ Sadržaj ukupnih aromatičnih jedinjenja je bio viši u vinima dobijenim fermentacijom samotoka (K sam, Z sam), u poređenju sa vinima dobijenim primenom pritiska tokom presovanja kljuka (K pres i Z pres).

- ❖ Primenom različitog vremena statičkog taloženja (10 h, 20 h, 30 h), najviši sadržaj ukupnih aromatičnih jedinjenja imali su uzorci vina Krstača K 30 (174,4 mg/l) i Žižka Z 10 i Z 30 (197,8 mg/l, 197,3 mg/l), respektivno
- ❖ Primenom prefermentativnog taloženja šire u trajanju 10 i 30 sati, kao i 20 i 30 sati, za vina Krstača, i taloženje šire u trajanju 20 sati i kontrole, za vina Žižka, beleži se statistički značajna razlika u sadržaju svih aromatičnih jedinjenja.
- ❖ Koncentracije ukupnih alkohola su bile više u vinima dobijenim fermentacijom samotoka u poređenju sa vinima dobijenim presovanjem kljuka.
- ❖ U vinu Krstača, gdje je primenjen pritisak 1,8 bara (K pres), sadržaj 1-heksanola je bio 5,5 puta viši, dok u vinu Žižka (Z pres) 7 puta, u poređenju sa K sam i Z sam vinima.
- ❖ Vina Krstača koja su proizvedena od šira dobijenih taloženjem u trajanju 30 sati, imala su viši sadržaj izobutil alkohola, izoamil alkohola, 3-etoksi-1-propanola i 2,3 butandiola i niži sadržaj 1-heksanola, u poređenju sa vinima proizvedenim od šira koje su se taložile 10 sati.
- ❖ Sadržaj ukupnih alkohola je najviši u uzorcima Krstača (K kont i K 30) i Žižka (Z 10 i Z 30).
- ❖ Sadržaj ukupnih estara je bio viši u vinima K pres i Z pres i iznosio je 16,6 mg/l i 12,8 mg/l, dok u vinima K sam i Z sam je bio 8,8 mg/l i 8,7 mg/l, respektivno. Vina Krstača i Žižka koja su proizvedena fermentacijom šire dobijenom presovanjem kljuka ($p = 1,8$ bar), imala su viši sadržaj etil butirata, etil heksanoata, etil laktata, etil oktanoata, 1,3 propandiol diacetata, u odnosu na vina K sam i Z sam.
- ❖ Utvrđena je značajna razlika u sadržaju etil estara, acetata i laktona, između vina Žižka (Z 30) u odnosu na Z 20 i Z kont. Najvišu koncentraciju etil estara, acetata i laktona su imali uzorci vina K 30 (11,4 mg/l) i Z 30 (8,4 mg/l). Koncentracije izoamil acetata i feniletil acetata su bile više u vinima Krstača i Žižka koja su dobijena taloženjem šire u trajanju 30 sati, u odnosu na vina K 10 i Z 10.
- ❖ Ukupna količina kiselina u vinu sorte Krstač koje je dobijeno primenom pritiska od 1,8 bara je bila viša (14,9 mg/l), u odnosu na vina koja su dobijena bez presovanja (8,04 mg/l).
- ❖ Najviše koncentracije ukupnih kiselina su konstantovane u uzorcima vina K 30 i Z 30 i iznosile su 19,9 mg/l i 11,9 mg/l, respektivno. U vinima gde je primenjeno duže trajanje taloženja (30 h), koncentracije heksanske, oktanske, dekanske i izobuterne kiseline su bile znatno više, u odnosu na vina gde je sprovedeno prefermentativno taloženje u trajanju 10 sati i kontrolu.
- ❖ Primena različitih koncentracija bentonita, uticala je na smanjenje sadržaja izoamil alkohola, izobutil alkohola, 1-heksanola i 2,3 butandiola u vinima Krstača. Zapaža se, da je došlo do najvišeg sniženja alkohola u vinu Krstača, gde je dodato 150 g/hl bentonita za bistrenje šire. Dodavanjem bentonita, došlo je do najvećeg smanjenja sadržaja 2,3 butandiola u uzorku Z B 150, dok je najveće snižavanje koncentracije 2-feniletil alkohola bilo u uzorku Z B 200.
- ❖ Rastuće koncentracije bentonita su značajno uticale na smanjenje sadržaja estara u vinima Krstača, dok je u vinu sorte Žižak smanjenje ukupnih estara uočeno u uzorcima Z B 150 i Z B 200, u odnosu na kontrolu.
- ❖ U vinima Krstača, primenom različitih koncentracija bentonita došlo je do snižavanja koncentracija etil butirata, etil heksanoata, etil laktata, dietil sukcinata, etil hidrogen sukcinata, izoamil acetata, 1,3 propandiol diacetata, 2-feniletil acetata, u odnosu na kontrolu. U vinima Žižka, bentonit je negativno uticao na sadržaj etil heksanoata, etil oktanoata, etil dekanata, etil 9-decenoata i 2-feniletil acetata. Koncentracija bentonita od 150 g/hl najviše je uticala na smanjenje sadržaja estara u vinima Krstača i Žižka.
- ❖ Kod vina Krstača i Žižka koja su dobijena tretiranjem šire bentonitom u koncentraciji 150 g/hl, kiseline su najviše uklonjene, a nije došlo do smanjenja sadržaja kiselina u uzorcima vina K B 100 i K B 200.
- ❖ Zapaža se da delovanjem jona Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} u prisustvu kiseonika, dolazi do porasta koncentracija 1-heksanola (osim K Fe 2), izoamil alkohola, 3-(metiltio)-1-propanola i 2-feniletil alkohola u svim uzorcima Krstača i Žižka, u odnosu na kontrolu. Koncentracije 2,3 butandiola opadaju, u odnosu na kontrolu.

- ❖ Primenom jona metala Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} i aeracije, došlo je do smanjenja sadržaja ukupnih estara u svim uzorcima vina Krstača, u odnosu na kontrolu.
- ❖ Dodavanje Zn, Cu i Fe u obliku sulfata pre početka alkoholne fermentacije, uz oksigenaciju, uticalo je na smanjenje sadržaja oktanske i dekanske kiseline u svim vinima Krstača i Žižka, u odnosu na kontrolu.
- ❖ U vinima Krstača i Žižka, gde je alkoholna fermentacija sprovedena kvascem *Saccharomyces cerevisiae* i hranivima za kvasce E i O (ICV E, ICV O), sadržaj aromatičnih jedinjenja je bio viši, u odnosu na vina koja su dobijena primenom kvasca *Saccharomyces bayanus* i istih hraniva (Bay E, Bay O).
- ❖ Kada viši alkoholi nisu uključeni u sadržaj ukupnih aromatičnih jedinjenja, zapaža se da primenom dva kvasca i dva hraniva, najvišu koncentraciju aromatičnih jedinjenja imaju uzorci vina K Bay E i Z Bay E.
- ❖ Najviše koncentracije viših alkohola u vinima Krstača imala je kontrola, pa zatim vina koja su dobijena dodavanjem startnih kultura kvasaca.
- ❖ Kvasac *Saccharomyces cerevisiae* (ICV D47) stvarao je višu koncentraciju viših alkohola, u odnosu na *Saccharomyces bayanus*. Kada se porede različiti kvasci i ista hraniva, sadržaj viših alkohola bio je viši u uzorcima vina Krstača i Žižka (ICV E i ICV O), nego u Bay E i Bay O.
- ❖ Primećeno je, da se dodavanjem fermaida E stvarao viši sadržaj viših alkohola u vinima Krstača i Žižka, u odnosu na primenu aminokiselinskog hraniva fermaida O kod oba kvasca (*Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces bayanus*) (osim Z ICV O).
- ❖ Primenom dva kvasca i dva hraniva za kvasce došlo je do porasta koncentracija ukupnih estara kod svih vina Krstača i Žižka (osim K Bay O), u odnosu na kontrolu.
- ❖ Dodavanjem fermaida E i fermaida O, i primenom dva različita kvasca *Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces bayanus*, beležila se statistički značajna razlika u sadržaju etil estara, acetata i laktone u vinima Krstača (ICV E i Bay E) i (ICV O i Bay O). Na osnovu rezultata možemo konstantovati da je na stvaranje različitih koncentracija etil estara i acetata, značajan uticaj imao kvasac koji je primenjen u eksperimentu. Može se zaključiti da je kvasac *Saccharomyces bayanus* proizvodio viši sadržaj etil estara, acetata i laktone, u odnosu na *Saccharomyces cerevisiae* (osim K Bay O).
- ❖ Na osnovu dobijenih rezultata može se konstantovati da pojedino hranivo za kvasce naglašava različite karakteristike kvasaca. Primenom fermaida E i fermaida O, beležila se statistički značajna razlika u sastavu etil estara, acetata i laktone vina sorti Krstač i Žižak, kada alkoholnu fermentaciju izvodi kvasac *Saccharomyces bayanus*. Sadržaj estara je statistički značajno viši u uzorcima Z ICV O i Z Bay E, u odnosu na kontrolu.
- ❖ Vina Krstača i Žižka, koja su dobijena fermentacijom šira uz dodavanje kvasaca *Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces bayanus* i suplemenata za kvasce (fermaid E i fermaid O), imala su više koncentracije ukupnih kiselina, heksanske, oktanske i dekanske kiseline, u odnosu na kontrolu (osim K Bay O).
- ❖ Kada se uporede hraniva za kvasce fermaid E i fermaid O, *Saccharomyces bayanus* uz dodavanje suplementa fermaid E je stvarao viši sadržaj heksanske, oktanske, dekanske i 9-decenske kiseline u svim uzorcima vina Krstača i Žižka.
- ❖ Praćenjem dinamike aromatičnih jedinjenja tokom alkoholne fermentacije (1, 3, 5, 7, 10 dan) utvrđeno je da je većina jedinjenja (alkohola, estara i kiselina) imala linearni porast koncentracija. Kod većine jedinjenja postojala je jaka korelaciona zavisnost.
- ❖ Praćenjem kinetike ekstrakcije 2-feniletil alkohola i 3-(metiltio)-1-propanola, utvrđeno je da su sadržaji ovih jedinjenja imali eksponencijalni porast tokom alkoholne fermentacije. Maksimalna vrednost proizvodnje 2-feniletil alkohola se ostvarivala kod sorte Krstač sedmog dana alkoholnog vrenja (27286,1 $\mu\text{g/l}$), dok je kod sorte Žižak imala tendenciju porasta i nakon deset dana alkoholne fermentacije. Maksimalna vrednost prelaska 3-(metiltio)-1-propanola se odigrala devetog dana (329,3 $\mu\text{g/l}$), dok je kod Žižka on imao trend porasta koncentracije.

- ❖ Na osnovu korelacione analize, utvrđen je linearni porast ukupnih alkohola tokom alkoholne fermentacije za vina Krstač i Žižak ($R=0,9537$, $R=0,9561$). Brzine ekstrakcije ukupnih alkohola su iznosile za vino Krstač $v=0,949 \mu\text{g/dan}$ i za Žižak $v=1,529 \mu\text{g/dan}$.
- ❖ Sadržaji etil estara (etil heksanoat, etil butirat) su linearno rasli tokom alkoholne fermentacije. Maksimalna vrednost prelaska izoamil acetata u širu Krstača, ostvarivala se šestog dana alkoholne fermentacije i iznosila je $584,5 \mu\text{g/l}$, dok je brzina ekstrakcije bila $0,675 \mu\text{g/dan}$. Posle šestog dana, koncentracija izoamil acetata se snizila.
- ❖ Sadržaj ukupnih alkohola se snizio nakon izvođenja malolaktičke fermentacije sa bakterijama mlečne kiseline *Oenococcus oeni* i *Lactobacillus plantarum*. Vina Krstača i Žižka koja su dobijena primenom *Lactobacillus plantarum* su imala viši sadržaj ukupnih alkohola u odnosu na vina gde se za izvođenje malolaktičke fermentacije koristio *Oenococcus oeni*.
- ❖ *Lactobacillus plantarum* je tokom malolaktičke fermentacije uticao na višu sintezu estara, u odnosu na *Oenococcus oeni*. Ovo se može objasniti činjenicom da su sojevi *Lactobacillus* imali nižu aktivnost hidrolize estara nego *Oenococcus oeni*.
- ❖ *Lactobacillus plantarum* je uticao na višu sintezu etil laktata i dietil sukcinata, u odnosu na *Oenococcus oeni*. U odnosu na kontrolno vino (bez primene malolaktike), koncentracije etil laktata i dietil sukcinata su bile više.
- ❖ Dodavanjem bakterija *Oenococcus oeni* došlo je do većeg snižavanja količine etil butirata (vina Krstača i Žižka) i etil heksanoata (vina Krstača), u odnosu na uticaj bakterija *Lactobacillus plantarum*.
- ❖ Koncentracija γ -butirolaktona se povisila sa primenom bakterija mlečne kiseline *Oenococcus oeni* u vinima Krstača i *Lactobacillus plantarum* u vinima Krstača i Žižka. U vinima Krstača, *Oenococcus oeni* je sintetizovao više koncentracije γ -butirolaktona u odnosu na bakterije mlečne kiseline *Lactobacillus plantarum*.
- ❖ Može se zaključiti, da su bakterije *Lactobacillus plantarum* u vinima Krstača više uticale na sniženje sadržaja heksanske, oktanske i dekanske kiseline, u odnosu na *Oenococcus oeni*. U vinima Žižka, *Oenococcus oeni* je uticao na višu promenu sadržaja heksanske i oktanske kiseline. U svim vinima Krstača i Žižka došlo je do snižavanja koncentracija masnih kiselina srednjeg lanca.
- ❖ Na osnovu statističke analize može se zaključiti, da je tretiranje vina sa 200 g/hl bentonita značajno uticalo na sadržaj aromatičnih jedinjenja u vinima Krstača i Žižka (izoamil acetata, 2-feniletal acetata, etil butirata i dietil sukcinata).
- ❖ Dodavanje 100 g/hl i 200 g/hl bentonita, u vinima Žižka uzrokovalo je smanjenje etil heksanoata, etil oktanoata, oktanske i dekanske kiseline.
- ❖ U vinima Krstača i Žižka koja su sazrevala 12 meseci, utvrđen je viši sadržaj etil estara (etil heksanoata, etil laktata, dietil sukcinata, dietil hidroksibutandioata, etil hidrogen sukcinata) i γ -butirolaktona, i niži sadržaj acetata (1,3-propandiol acetata, 2-feniletal acetata, izoamil acetata) u odnosu na ista vina koja nisu sazrevala.
- ❖ Na osnovu rezultata može se zaključiti da je sazrevanje u trajanju od dvanaest meseci pozitivno uticalo na razvoj aromatičnih jedinjenja i senzornih karakteristika vina Krstača i Žižka.
- ❖ Prema najvažnijim faktorskim opterećenjima u PCA analizi, koja je urađena na osnovu grupisanja vina, može se konstatovati da postoji razdvajanje vina koja su sazrevala 12 meseci od vina koja nisu sazrevala (primena različitih tretmana).
- ❖ Najvišu senzornu ocenu dobila su sledeća vina: K B 200 (18,0), Z B 100 (18,1); K Fe 2 (17,7), Z Fe 1 i Z Fe 2 (17,7); K 30 (18,0), Z 20 (17,7); K sam (16,6), Z sam (17,3); K EB8h (18,0), Z CB8h (18,2); K Bay E i K ICV E (18,1), Z ICV E (18,2).
- ❖ Vina koja su sazrevala 12 meseci imala su bolje senzorne karakteristike i bolje senzorne ocene: K B 100 s (18,2), Z B 200 s (18,3); K Ctrl s (17,9), Z Ctrl s (18,1); K 10 s (18,3), Z 30 s (18,4); K sam s (17,7), Z sam s (18,0); K CB8h s (18,2), Z EB4h s (18,2); K ICV E s (18,4), Z ICV E s (18,5).

8. LITERATURA

- Aćimović, M., Cvetković, M., Stanković, J., Malenčić, Đ., Kostadinović, Lj. (2015): Analiza komponenti etarskih ulja plodova selena i celera dobijenih headspace ekstrakcijom. Letopis naučnih radova 39: 44-51.
- Ancín, C., Ayestarán, B., Corroza, M., Garrido, J., González, A. (1996): Influence of prefermentation clarification on the higher alcohol contents of wines. Food Chem. 55: 241-249.
- Antonelli, A., Castellari, L., Zambonelli, C., Carnacini, A. (1999): Yeast influence on volatile composition of wines. J. Agric. Food Chem. 47: 1139-1144.
- Armada, L., Falqué, E. (2007): Repercussion of the clarification treatment agents before the alcoholic fermentation on volatile composition of white wines. Eur. Food Res. Technol. 225: 553-558.
- Armada, L., Fernández, E., Falqué, E. (2010): Influence of several enzymatic treatments on aromatic composition of white wines. LWT-Food Sci. & Techn. 43: 1517-1525.
- Avram, V., Floare, C.G., Hosu, A., Cimpoi, C., Măruțoiu, C., Moldovan, Z. (2014): Characterization of Romanian wines by gas chromatography-mass spectrometry. Anal. Lett. 48: 1099-1116.
- Ayestarán, B.M., Ancín, M.C., García, A.M., González, A., Garrido, J.J. (1995): Influence of prefermentation clarification on nitrogenous content of musts and wines. J. Agric. Food Chem. 43: 476-482.
- Barril, C., Rutledge, D.N., Scollary, G.R., Clark, A.C. (2016): Ascorbic acid and white wine production: a review of beneficial versus detrimental impact. Australian Journal of Grape and Wine Research 22: 169-181.
- Baumes, R. (2009): Wine Aroma Precursors. In: Moreno-Arribas, M.V., Polo, M.C. (eds) Wine Chemistry and Biochemistry. Chapter 8A, Springer Science + Business Media, LLC, New York, pp. 251-274.
- Bell, S.J., Henschke, P.A. (2005): Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. Australian Journal of Grape and Wine Research 11(3): 242-295.
- Beltran, G., Novo, M., Guillamón J.M., Mas, A., Rozès, N. (2008): Effect of fermentation temperature and culture media on the yeast lipid composition and wine volatile compounds. International Journal of Food Microbiology 121: 169-177.
- Boulton, R.B., Singleton, V.L., Bisson, L.F., Kunkee, R.E. (1995): Principles and practices of winemaking, Chapman & Hall, New York.
- Bradshaw, M.P., Barril, C., Clark, A.C., Prenzler, P.D., Scollary, G.R. (2011): Ascorbic acid: a review of its chemistry and reactivity in relation to a wine environment. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 51: 479-498.
- Bravo-Ferrada, B., Hollmann, A., Delfederico, L., Valdes La Hens, D., Cabaleiro, A., Semorile, L. (2013): Patagonial red wines: selection of *Lactobacillus plantarum* isolates as potential starter cultures for malolactic fermentation. World J. Microbiol. Biotechnol. 19: 1537-1549.
- Brizuela, N., Tymczyszyn, E.E., Semorile, L.C., Valdes La Hens, D., Delfederico, L., Hollmann, A., Bravo-Ferrada, B. (2019): *Lactobacillus plantarum* as a malolactic starter culture in winemaking: A new (old) player? Electronic Journal of Biotechnology 38: 10-18.

- Burin, V.M., Gomes, T.M., Caliari, V., Rosier, J.P., Luiz, M.T.B. (2015): Establishment of influence the nitrogen content in musts and volatile profile of white wines associated to chemometric tools. *Microchemical Journal* 122: 20-28.
- Cabaroglu, T., Canbas, A. (2002): The effect of skin contact on the aromatic composition of the white wine of *Vitis vinifera L. cv. Muscat of Alexandria* grown in Southern Anatolia. *Acta Alimentaria* 31 (1): 45-55.
- Cabaroglu, T., Canbas, A., Baumes, R., Bayonove, C., Lepoutre, J.P., Günata, Z. (1997): Aroma composition of a white wine of *Vitis vinifera L. cv. Emir* as affected by skin contact. *Journal of Food Sci.* 62: 680–683.
- Cabaroglu, T., Selli, S., Canbas, A., Lepoutre, J.P., Günata, Z. (2003): Wine flavor enhancement through the use of exogenous fungal glycosidases. *Enzyme and Microbial Technology* 33: 581-587.
- Cabrita, M.J., Costa Freitas, A.M., Laureano, O., Borsa, D., Di Stefano, R. (2007): Aroma compounds in varietal wines from Alentejo, Portugal. *Journal of Food Composition and Analysis* 20: 375-390.
- Capucho, I., San Romão, M.V. (1994): Effect of ethanol and fatty acids on malolactic activity of *Leuconostoc oenos*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 42 (2): 391-395.
- Carrau, F.M., Medina, K., Farina, L., Boido, E., Henschke, P.A., Dellacassa, E. (2008): Production of fermentation aroma compounds by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts: effects of yeast assimilable nitrogen on two model strains. *FEMS Yeast Res.* 8: 1196-1207.
- Cheynier, V., Schneider, R., Salmon, J.M., Fulcrand, H. (2010): Chemistry of wine. In: *Comprehensive natural products chemistry II. Volume 3: development and modification of bioactivity*. Elsevier, Oxford, UK, pp. 1119–1172.
- Chisholm, M.G., Guiher, L.A., Zaczekiewicz, S.M. (1995): Aroma characteristics of aged Vidal blanc wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 46: 56–62.
- Clark, A.C., Wilkes, E.N., Scollary, G.R. (2015): Chemistry of copper in white wine: a review. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 21: 339-350.
- Coelho, E., Rocha, S.M., Barros, A.S., Delgadillo, I., Coimbra, M.A. (2007): Screening of variety- and pre-fermentation-related volatile compounds during ripening of white grapes to define their evolution profile. *Analytica Chimica Acta* 597: 257-264.
- Conde, C., Silva, P., Fontes, N., Dios, A.C.P., Tavares, R.M., Sousa, M.J., Agasse, A., Delrot, S., Gerós, H. (2007): Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality. *Food Global Science Books* 1 (1): 1-22.
- Crouzet, J. (1999): Enzymes impliqués dans la formation des aldéhydes et alcools en C₆. In: Flanzy C. (ed.), *Oenologie. Fondements scientifiques et technologiques*. Paris: Lavoisier Tec & Doc, pp. 370-376.
- Danilewicz, J.C., Seccombe, J.T., Whelan, J. (2008): Mechanism of interaction of polyphenols, oxygen, and sulfur dioxide in model wine and wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 59: 128-136.
- Dennis, E.G., Keyzers, R.A., Kalua, C.M., Maffei, S.M., Nicholson, E.L., Boss, P.K. (2012): Grape contribution to wine aroma: Production of hexyl acetate, octyl acetate and benzyl acetate during

- yeast fermentation is dependent upon precursors in the must. *J. Agric. Food Chem.* 60: 2638-2646.
- de Revel, G., Martin, N., Pripis-Nicolau, L., Lonvaud-Funel, A., Bertrand, A. (1999): Contribution to the knowledge of malolactic fermentation influence on wine aroma. *J. Agric. Food. Chem.* 47: 4003-4008.
- Díaz-Maroto, M.C., Schneider, R., Baumes, R. (2005): Formation pathways of ethyl esters of branched short-chain fatty acids during wine aging. *J. Agric. Food Chem.* 53: 3503–3509.
- Diéguez, S.C., Lois, L.C., Gómez, E.F., Luisa, M., De la Peña, G. (2003): Aromatic composition of the *Vitis vinifera* grape Albarino. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.* 36: 585-590.
- Dordoni, R., Lambri, M., Manara, M. (2009): Bentonites. Interaction with wine proteins and fermentation aromas. *Italian Food Materials & Machinery*, pp. 1-5.
- Dufossé, L., Latrassé, A., Spinnler, H.E. (1994): Importance des lactones dans les arômes alimentaires: structure, distribution, propriétés sensorielles et biosynthèse. *Sciences des Aliments* 14:17-50.
- Eglinton, J.M., McWilliam, S.J., Fogarty, M.W., Francis, I.L., Kwiatkowski, M.J., Høj, P.B., Henschke, P.A. (2000): The effect of *Saccharomyces bayanus*-mediated fermentation on the chemical composition and aroma profile of Chardonnay wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 6: 190-196.
- Falqué, E., Darriet, P., Fernández, E., Dubourdiou, D. (2008): Volatile profile and differentiation between Albariño wines from different origins. *Int. J. Food Sci. Technol.* 43: 464–475.
- Falqué, E., Fernández, E., Dubourdiou, D. (2002): Volatile components of Loureira, Dona Branca, and Treixadura wines. *J. Agric. Food Chem.* 50: 538-543.
- Ferrando, M., Güell, C., López, F. (1998): Industrial wine making: Comparison of must clarification treatments. *J. Agric. Food Chem.* 46: 1523-1528.
- Ferreira, B., Hory, C., Bard, M.H., Taisant, C., Olsson, A., Le Fur, Y. (1995): Effect of skin contact and settling on the level of the C18:2, C18:3 fatty acids and C6 compounds in Burgundy Chardonnay musts and wines. *Food Quality and Preference* 6: 35-41.
- Fraile, P., Garrido, J., Carmen, A. (2000): Influence of a *Saccharomyces cerevisiae* selected strain in the volatile composition of rosé wines evolution during fermentation. *J. Agric. Food Chem.* 48: 1789-1798.
- Furdíková, K., Malík, F. (2007): Influence of yeast on the aroma profile of wine. *Kvasný Průmysl* 53: 215-221.
- García, E., Chacón, J.L., Martínez, J., Izquierdo, P.M. (2003): Changes in volatile compounds during ripening in grapes of Airén, Macabeo and Chardonnay white varieties grown in La Mancha region (Spain). *Food Sci. Tech. Int.* 9 (1): 33-41.
- Garde-Cerdán, T., Ancín-Azpilicueta, C. (2007): Effect of SO₂ on the formation and evolution of volatile compounds in wines. *Food Control* 18: 1501-1506.

- Garde-Cerdán, T., Ancín-Azpilicueta, C. (2008): Effect of the addition of different quantities of amino acids to nitrogen-deficient must on the formation of esters, alcohols, and acids during wine alcoholic fermentation. *LWG* 41: 501-510.
- Gil-Sánchez, I., Bartolomé, B., Moreno-Arribas, S., Moreno-Arribas, M.V. (2019): Malolactic fermentation. *Red Wine Technology*, Chapter 6, pp. 85-98.
- Giudici, P., Romano, P., Zambonelli, C. (1990): A biometric study of higher alcohol production in *Saccharomyces cerevisiae*. *Can. J. Microbiol.* 36: 61-64.
- Gómez, E., Martínez, A., Laencina, J. (1994): Localization of free and bound aromatic compounds among skin, juice and pulp fractions of some grape varieties. *Vitis* 33: 1-4.
- Gómez, E., Martínez, A., Laencina, J. (1995): Changes in volatile compounds during maturation of some grape varieties. *J. Sci. Food Agric.* 67: 229-233.
- Gómez-Míguez, M.J., Gómez-Míguez, M., Vicario, I.M., Heredia, F.J. (2007): Assessment of colour and aroma in white wines vinifications: Effects of grape maturity and soil type. *Journal of Food Engineering* 79: 758-764.
- González-Barreiro, C., Rial-Otero, R., Cancho-Geande, B., Simal-Gándara, J. (2015): Wine aroma compounds in grapes: A critical review. *Critical Review in Food Science and Nutrition* 55: 202-218.
- Guerrero, R.F., Cantos-Villar, E. (2014): Demonstrating the efficiency of sulphur dioxide replacements in wine: A parameter review. *Trends in Food Science & Technology* 42: 27-43.
- Hajduković, A., Savić, S., Knežević, B., Đoković, F. (2001): Elaborat o zaštiti oznake porijekla za crnogorsko bijelo vino. Podgorica, pp. 1-55.
- Herjavec, S., Podgorski, V., Redžepović, S., Mirošević, N. (2003): The influence of some commercial *Saccharomyces cerevisiae* strains on the quality of Chardonnay wines. *Food Technol. Biotechnol.* 41 (1): 77-81.
- Herjavec, S., Tupajic, P., Majdak, A. (2001): Influence of malolactic fermentation on the quality of Riesling wine. *Agric. Conspec. Sci.* 66: 59–64.
- Hernández-Orte, P., Ibarz, M.J., Cacho, J., Ferreira, V. (2005): Effect of the addition of ammonium and amino acids to musts of Airen variety on aromatic composition and sensory properties of the obtained wine. *Food Chemistry* 89: 163-174.
- Hernández-Orte, P., Bely, M., Cacho, J., Ferreira, V. (2006): Impact of ammonium additions on volatile acidity, ethanol, and aromatic compound production by different *Saccharomyces cerevisiae* strains during fermentation in controlled synthetic media. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 12: 150-160.
- Horvat, I., Radeka, S., Plavša, T., Lukić, I. (2019): Bentonite fining during fermentation reduces the dosage required and exhibits significant side-effects on phenols, free and bound aromas and sensory quality of white wine. *Food Chemistry* 285: 305-315.
- Houtman, A.C., Du Plessis, C.S. (1981): The effect of juice clarity and several conditions promoting yeast growth on fermentation rate, the production of aroma components and wine quality. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 2: 1–82.

- Jackson, R.S. (2008): Chemical constituents of grapes and wine. Wine Science, Principles and application, Elsevier Inc., Burlington, MA, USA, pp. 270-331.
- Jeromel, A., Herjavec, S., Orlić, S., Redžepović, S., Wondra, M. (2008): Changes in volatile composition of Kraljevina wines by controlled malolactic fermentation. Journal of Central European Agriculture 9 (2): 363-372.
- Junghans, K., Straube, G. (1991): Biosorption of copper by yeasts. Biology of Metals 4: 233–237.
- Kalua, C.M., Boss, P.K. (2010): Comparison of major volatile compounds from Riesling and Cabernet Sauvignon grapes (*Vitis vinifera L.*) from fruitset to harvest. Australian Journal of Grape and Wine Research 16: 337-348.
- Karadjova, I., Izgi, B., Gucer, S. (2002): Fractionation and speciation of Cu, Zn and Fe in wine samples by atomic absorption spectrometry. Spectrochimica Acta Part B 57: 581–590.
- Kechagia, D., Paraskevopoulos, Y., Symeou, E., Galiotou-Panayotou, M., Kotseridis, Y. (2008): Influence of prefermentative treatments to the major volatile compounds of Assyrtiko wines. J. Agric. Food Chem. 56: 4555-4563.
- Khvalbota, L., Machyňáková, A., Čuchorová, J., Furdíková, K., Špánik, I. (2021): Enantiomer composition of chiral compounds present in traditional Slovak Tokaj wines. J. Food Comp. Anal. 96: 1-30.
- Knoll, C., Fritsch, S., Schnell, S., Grossmann, M., Rauhut, D., du Toit, M. (2011): Influence of pH and ethanol on malolactic fermentation and volatile aroma compound composition in white wines. Food Sci. Technol. 44: 2077-2086.
- Knoll, C., Fritsch, S., Schnell, S., Grossmann, M., Krieger-Weber, S., du Toit, M., Rauhut, D. (2012): Impact of different malolactic fermentation inoculation scenarios on Riesling wine aroma. World J. Microbiol. Biotechnol. 28: 1143-1153.
- Kotseridis, Y., Baumes, R. (2000): Identification of impact odorants in Bordeaux red grape juice, in the commercial yeast used for its fermentation, and in the produced wine. J. Agric. Food Chem. 48: 400-406.
- Lambrechts, M.G., Pretorius, I.S. (2000): Yeast and its importance to wine aroma - A review. S. Afr. J. Enol. Vitic. 21: 97-129.
- Lambri, M., Colangelo, D., Dordoni, R., Torchio, F., De Faveri, D.M. (2016): Innovations in the use of bentonite in oenology: Interactions with grape and wine proteins, colloids, polyphenols and aroma compounds. Grape and Wine Biotechnology. Chapter 18: 381-400.
- Lambri, M., Dordoni, R., Silva, A., De Faveri, D.M. (2010): Effect of bentonite fining on odor-active compounds in two different white wine styles. American Journal of Enology and Viticulture 61 (2): 225-233.
- Lambri, M., Dordoni, R., Silva, A., De Faveri, D.M. (2012): Comparing the impact of bentonite addition for both must clarification and wine fining on the chemical profile of wine from Chambave Muscat grapes. International Journal of Food Science and Technology 47: 1-12.
- Lambri, M., Dordoni, R., Silva, A., De Faveri, D.M. (2013): Odor-active compound adsorption onto bentonite in a model white wine solution. Chemical Engineering Transactions 32: 1741–1746.

- Lambropoulos, I., Roussis, I.G. (2007): Inhibition of the decrease of volatile esters and terpenes during storage of a white wine and a model wine medium by caffeic acid and gallic acid. *Food Research International* 40: 176-181.
- Li, H., Guo, A., Wang, H. (2008): Mechanisms of oxidative browning of wine. *Food Chemistry* 108: 1-13.
- Li, H., Tao, Y.S., Wang, H., Zhang, L. (2008): Impact odorants of Chardonnay dry white wine from Changli County (China). *Eur. Food Res. Technol.* 227: 287-292.
- Linsenmeier, A.W., Rauhut, D., Sponholz, W.R. (2010): Ageing and flavour deterioration in wine. In *Managing wine quality*. Woodhead Publishing in Food Science, Technology and Science, Cambridge, pp. 459-493.
- Lira, E., Rodríguez-Bencomo, J.J., Salazar, F.N., Orriols, I., Fornos, D., López, F. (2015): Impact of bentonite additions during vinifications on protein stability and volatile compounds of Albariño wines. *J. Agric. Food Chem.* 63: 3004-3011.
- Lira, E., Salazar, F.N., Rodríguez-Bencomo, J.J., Vincenzi, S., Curioni, A., López, F. (2014): Effect of using bentonite during fermentation on protein stabilisation and sensory properties of white wine. *International Journal of Food Science and Technology* 49: 1070-1078.
- Lisov, N., Petrović, A., Čakar, U., Jadranin, M., Tešević, V., Bukarica-Gojković, Lj. (2020): Extraction kinetic of some phenolic compounds during Cabernet Sauvignon alcoholic fermentation and antioxidant properties of derived wines. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering* 39: 185-196.
- Lois, L.C., Diéguez, S.C., Gil de la Peña, M.L., Fernández Gómez, E. (2001): SPE-GC determination of aromatic compounds in two varieties of white grape during ripening. *Chromatographia Supplement* 53: 350-355.
- Losada, M.M., Andrés, J., Cacho, J., Revilla, E., López J.F. (2011): Influence of some prefermentative treatments on aroma composition and sensory evaluation of white Godello wines. *Food Chem.* 125: 884-891.
- Lukić, I., Lotti, C., Vrhovsek, U. (2017): Evolution of free and bound volatile aroma compounds and phenols during fermentation of Muscat blanc grape juice with and without skins. *Food Chemistry* 232: 25-35.
- Lund, S.T., Bohlmann, J. (2006): The molecular basis for wine grape quality - A volatile subject. *Science* 311: 804-805.
- Maggu, M., Winz, R., Kilmartin, P.A., Trought, M.C.T., Nicolau, L. (2007): Effect of skin contact and pressure on the composition of Sauvignon blanc must. *J. Agric. Food Chem.* 55: 10281-10288.
- Maicas, S., Gil, J.V., Pardo, I., Ferrer, S. (1999): Improvement of volatile composition of wines by controlled addition of malolactic bacteria. *Food Rech. Int.* 32: 491-496.
- Marais, J. (1994): Sauvignon blanc cultivar aroma - A Review. *S. Afr. Enol. Vitic.* 15 (2): 41-45 .
- Maraš, V., Mugoša, M., Popović, T., Gazivoda, A., Raičević, J., Perišić, M. (2018): Rad na valorizaciji genetskih resursa vinove loze u Crnoj Gori. In *Zbornik radova „130 godina organiziranoga vinogradarstva i vinarstva u Bosni i Hercegovini“*, Mostar, pp. 16-25.

- Maraš, V., Popović, T., Gazivoda, A., Raičević, J., Kodžulović, V., Mugoša, M., Šućur., S. (2015): Origin and characterization of Montenegrin grapevine varieties. *Vitis* 54: 135-137.
- Martin, B., Etievant, P.X., Le Quere, J.L., Schlich, P. (1992): More clues about sensory impact of sotolon in some flor sherry wines. *J. Agric. Food Chem.* 40: 475-478.
- Mauricio, J.C., Moreno, J.J., Valero, E.M., Zea, L., Medina, M., Ortega, J.M. (1993): Ester formation and specific activities of in vitro alcohol acetyltransferase and esterase by *Saccharomyces cerevisiae* during grape must fermentation. *J. Agric. Food Chem.* 41: 2086-2091.
- Mauricio, J.C., Moreno, J., Zea, L., Ortega, J.M., Medina, M. (1997): The effects of grape must fermentation conditions on volatile alcohols and esters formed by *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Sci. Food Agric.* 75: 155-160.
- Mendes-Ferreira, A., Barbosa, C., Lage, P., Mendes-Faia, A. (2011): The impact of nitrogen on yeast fermentation and wine quality. *Ciência Téc.Vitiv.* 26 (1): 17-32.
- Morozova, K., Schmidt, O., Schwack, W. (2015): Effect of headspace volume, ascorbic acid and sulphur dioxide on oxidative status and sensory profile of Riesling wine. *European Food Research and Technology* 240: 205-221.
- Nurgel, C., Erten, H., Canbaş, A., Cabaroğlu, T., Selli, S. (2002): Influence of *Saccharomyces cerevisiae* strains on fermentation and flavor compounds of white wines made from cv. Emir grown in Central Antolia, Turkey. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 29: 28-33.
- Oliveira, J.M., Araújo, I.M., Pereira, O.M., Maia, J.S., Amaral, A.J., Maia, M.O. (2004): Characterization and differentiation of five “Vinhos Verdes” grape varieties on the basis of monoterpenic compounds. *Analytica Chimica Acta* 513: 269-275.
- Oliveira, J.M., Faria, M., Sá, F., Barros, F., Araújo, I.M. (2006): C6-alcohols as varietal markers for assessment of wine origin. *Analytica Chimica Acta* 563: 300–309.
- Oliveira, C.M., Ferreira, A.C.S., De Freitas, V., Silva, A.M.S. (2011): Oxidation mechanisms occurring in wines. *Food Research International* 44: 1115-1126.
- Oliveira, J.M., Oliveira, P., Baumes, R.L., Maia, O. (2008): Changes in aromatic characteristics of Loureiro and Alvarinho wines during maturation. *Journal of Food Composition and Analysis* 21: 695-707.
- Peinado, R.A., Mauricio, J.C. (2009): Biologically aged wines. *Wine Chemistry and Biochemistry*. Chapter 3B, Springer Science + Business Media, LLC, New York, pp. 82-96.
- Perez-Coello, M.S., González-Vinas, M.A., Garcia-Romero, E., Diaz-Maroto, M.C., Cabezudo, M.D. (2003): Influence of storage temperature on the volatile compounds of young white wines. *Food Control* 14 (5): 301–306.
- Petrović, A. (2012): Uticaj načina prerade grožđa i vinifikacije na sadržaj resveratrola u vinu, Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Petrović, A.V., Lisov, N.M., Čakar, U.D., Marković, N.R., Matijašević, S.M., Cvejić, J.M., Atanacković, M.T., Gojković Bukarica, L.J.C. (2019): The effects of Prokupac variety clones and vinification method on the quality of resveratrol in wine. *Food and Feed Research* 46 (2): 189-198.

- Pozo-Bayón, M.A., Alegría, E.G., Polo, M.C., Tenorio, C., Martín-Álvarez, P.J., Calvo de la Banda, M.T., Ruiz-Larrea, F., Moreno-Arribas, M.V. (2005): Wine volatile and amino acid composition after malolactic fermentation: Effect of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus plantarum* starter cultures. *J. Agric. Food Chem.* 53: 8729–8735.
- Puig-Deu, M., López-Tamames, E., Buxaderas, S., Torre-Boronat, M.C. (1999): Quality of base and sparkling wines as influenced by the type of fining agent added pre-fermentation. *Food Chemistry* 66: 35-42.
- Rapp, A., Versini, G. (1995): Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines. *Developments in food science* 37: 1659-1694.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D. (2000a): The microbiology of wine and vinifications. In: *Handbook of Enology*, Vol 1. John Wiley and Sons, Chichester, England.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D. (2000b): Varietal aroma. *Handbook of Enology. The chemistry of wine stabilization and treatments* (2). John Wiley and Sons, Chichester, England.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., Lonvaud, A. (2006a): *Handbook of Enology: The microbiology of wine and vinifications*. Vol. 1., 2nd edition. John Wiley & Sons, Chichester, England.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D. (2006b): *Handbook of Enology: The chemistry of wine stabilization and treatments*. Vol. 2, 2nd edition. John Wiley & Sons, Chichester, England.
- Robinson, L.A., Boss, K.P., Solomon, S.P., Trengove, D.R., Heyman, H., Ebelers, E.S. (2014): Origins of grape and wine aroma. Part 1. Chemical components and viticultural impacts. *Am. J. Enol. Vitic.* 65: 1-24.
- Rocha, S.M., Coutinho, P., Delgadillo, I., Cardoso, A.D., Coimbra, M.A. (2005): Effect of enzymatic aroma release on the volatile compounds of white wines presenting different aroma potentials. *J. Sci. Food Agric.* 85: 199-205.
- Roland, A., Schneider, R., Razungles, A., Cavelier, F. (2011): Varietal thiols in wine: Discovery, analysis and applications. *Chem. Rev.* 111: 7355-7376.
- Romano, P., Fiore, C., Paraggio, M., Caruso, M., Capece, A. (2003): Function of yeast species and strains in wine flavour. *International Journal of Food Microbiology* 86: 169-180.
- Rosi, I., Bertuccioli, M. (1992): Influences of lipid addition on fatty acid composition of *S. cerevisiae* and aroma characteristics of experimental wines. *J. Inst. Brew.* 98: 305-314.
- Rousseva, M., Kontoudakis, N., Schmidtke, L.M., Scollary, G.R., Clark, A.C. (2016): Impact of wine production on the fractionation of copper and iron in Chardonnay wine: Implications for oxygen consumption. *Food Chemistry* 203: 440-447.
- Ruiz, J., Kiene, F., Belda, I., Fracassetti, D., Marquina, D., Navascués, E., Calderon, F., Benito, A., Rauhut, D., Santos, A., Benito, S. (2019): Effects on varietal aromas during wine making: a review of the impact of varietal aromas on the flavor of wine. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 103: 7425-7450.

- Saerens, S.M.G., Delvaux, F., Verstrepen, K.J., Van Dijck, P., Thevelein, J.M., Delvaux, F.R. (2008): Parameters affecting ethyl ester production by *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation. *Applied and Environmental Microbiology* 74 (2): 454-461.
- Sanborn, M., Edwards, C.G., Ross, C.F. (2010): Impact of fining on chemical and sensory properties of Washington State Chardonnay and Gewurztraminer wines. *Am J Enol Vitic* 61: 31-41.
- Sánchez-Palomo, E., Alonso-Villegas, R., González-Viñas, M.A. (2015): Characterisation of free and glycosidically bound aroma compounds of La Mancha Verdejo white wines. *Food Chemistry* 173: 1195-1202.
- Sánchez-Palomo, E., Díaz-Maroto, M.C., González-Viñas, M.A., Soriano-Pérez, A., Pérez-Coello, M.S. (2007): Aroma profile of wines from Albillo and Muscat grape varieties at different stages of ripening. *Food Control* 18: 398-403.
- Sánchez-Palomo, E., González-Viñas, M.A., Díaz-Maroto, M.C., Soriano-Pérez, A., Pérez-Coello, M.S. (2007): Aroma potential of Albillo wines and effect of skin-contact treatment. *Food Chemistry* 103: 631-640.
- Savić, S. (2003): Ekološki uslovi i autohtone sorte vinove loze u Crnoj Gori. Holding Agrokombinat „13 Jul“ AD „Plantaže“, Podgorica.
- Savić, S. (2016): Crnogorska ampelografija. Odeljenje prirodnih nauka, Crnogorska akademija nauka i umetnosti, Podgorica.
- Schwab, W., Davidovich-Rikanati, R., Lewinsohn, E. (2008): Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. *Plant J.* 54: 712-732.
- Selli, S., Bagatar, B., Sen, K., Kelebek, H. (2011): Evaluation of differences in the aroma composition of free-run and pressed neutral grape juices obtained from Emir (*Vitis vinifera L.*). *Chemistry & Biodiversity* 8: 1776-1782.
- Selli, S., Canbas, A., Cabaroglu, T., Erten, H., Günata, Z. (2006a): Aroma components of cv. Muscat of Bornova wines and influence of skin contact treatment. *Food Chem.* 94: 319-326.
- Selli, S., Canbas, A., Cabaroglu, T., Erten, H., Lepoutre, J.P., Günata, Z. (2006b): Effect of skin contact on the free and bound aroma compounds of the white wines of *Vitis vinifera L.* cv. Narince. *Food Control* 17: 75-82.
- Sonni, F., Moore, E.G., Chinnici, F., Riponi, C., Smyth, H.E. (2015): Characterisation of Australian Verdelho wines from Queensland Granit Belt region. *Food Chemistry* 196: 1163-1171.
- Styger, G., Prior, B., Bauer, F.F. (2011): Wine flavor and aroma. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 38: 1145–1159.
- Sumby, K.M., Jiranek, V., Grbin, P.R. (2013): Ester synthesis and hydrolysis in an aqueous environment, and strain specific changes during malolactic fermentation in wine with *Oenococcus oeni*. *Food Chemistry* 141: 1673-1680.
- Šćepanović, R.P., Madžgalj, V., Vukoslavljević, V. (2019): Assay of polyphenols in Montenegrin Vranac wines. *Mitteilungen Klosterneuburg* 69: 65-75.
- Teissedre, P.L. (2018): Composition of grape and wine from resistant vine varieties. *Oeno One* 52: 211-217.

- Torija, M.J., Beltran, G., Novo, M., Poblet, M., Guillamón, J.M., Mas, A., Rozès, N. (2003): Effects of fermentation temperature and *Saccharomyces* species on the cell fatty acid composition and presence of volatile compounds in wine. *International Journal of Food Microbiology* 85: 127-136.
- Torrea, D., Varela, C., Ugliano, M., Ancin-Azpilicueta, C., Francis, I.L., Henschke, P.A. (2011): Comparison of inorganic and organic nitrogen supplementation of grape juice – Effect on volatile composition and aroma profile of a Chardonnay wine fermented with *Saccharomyces cerevisiae* yeast. *Food Chemistry* 127: 1072-1083.
- Ugliano, M., Henschke, P.A. (2009): Yeasts and wine flavour. *Wine Chemistry and Biochemistry*, Chapter 8D, Springer Science + Business Media, LLC, New York, pp. 313-393.
- Ugliano, M., Moio, L. (2005): Changes in the concentration of yeast-derived volatile compounds of red wine during malolactic fermentation with four commercial starter cultures of *Oenococcus oeni*. *J. Agric. Food Chem.* 53: 10134-10139.
- Ulićević, M. (1959): Prilog rejonizaciji vinogradarstva u Crnoj Gori (Contribution to the Zoning of Viticulture in Montenegro). *Naša poljoprivreda i šumarstvo*, num. 2/V, Titograd.
- 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: 1-13.
- Vela, E., Hernández-Orte, P., Castro, E., Ferreira, V., Lopez, R. (2017): Effect of bentonite fining on polyfunctional mercaptans and other volatile compounds in Sauvignon blanc wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 6(1): 30-38.
- Veljović, S., Tomić, N., Belović, M., Nikićević, N., Vukosavljević, P., Nikšić, M., Tešević, V. (2019): Volatile composition, colour, and sensory quality of spirit-based beverages enriched with medicinal fungus *Ganoderma lucidum* and herbal extract. *Food Technol. Biotechnol.* 57: 408-417.
- Vianna, E., Ebeler, S.E. (2001): Monitoring ester formation in grape juice fermentations using solid phase microextraction coupled with Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 49: 589-595.
- Vilanova, M., Siebert, T.E., Varela, C., Pretorius, I.S., Henschke, P.A. (2012): Effect of ammonium nitrogen supplementation of grape juice on wine volatiles and non-volatiles composition of the aromatic grape variety Albariño. *Food Chemistry* 133: 124-131.
- Vilanova, M., Sieiro, C. (2006): Determination of free and bound terpene compounds in Albariño wine. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 694-697.
- Vincenzi, S., Panighel, A., Gazzola, D., Flamini, R., Curioni, A. (2015): Study of combined effect of proteins and bentonite fining on the wine aroma loss. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63: 2314–2320.
- Walker, G.M. (1998): *Yeast physiology and biotechnology*. John Wiley & Sons, Chichester, England.
- Wehrung, F. (1996): Els productes enològics adaptats a la vinificació del tipus „champenoise“. Technical note, Station Oenotechnique de Champagne Martin Vialatte, Reims.

- Zea, L., Moreno, J., Medina, M., Ortega, J.M. (1994): Evolution of C₆, C₈ and C₁₀ acids and their ethyl esters in cells and musts during fermentation with three *Saccharomyces cerevisiae* races. *Journal of Industrial Microbiology* 13: 269-272.
- Zoecklein, B.W., Fugelsang, K.C., Gump, B.H. (1995): Phenolic compounds and wine colour. In: *Wine analysis and production*. Chapman & Hall, New York. pp. 115 – 151.
- Zoecklein, B.W., Fugelsang, K.C., Gump, B.H., Nury, F.S. (1995): *Wine analysis and production*. Chapman and Hall, New York. pp. 178–191.
- Zoecklein, B.W., Marcy, J.E., Williams, J.M., Jasinski, Y. (1997): Effect of native yeasts and selected strains of *Saccharomyces cerevisiae* on glycosyl glucose, potential volatile terpenes, and selected aglycones of white Riesling (*Vitis vinifera* L.) wines. *Journal of Food Composition and Analysis* 10: 55-65.

9. PRILOG

Tabela 25. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Krstača, koja su dobijena primenom prefermentativnih tretmana [maceracija (4h, 8h, 5°C) i enzima glikozidaza Lallzyme (cuveé blanc, beta) posle godinu dana sazrevanja vina

Jedinjenja	K Ctrl s	K CB4h s	K CB8h s	K EB4h s	K EB8h s
1-Heksanol	769,3	548,6	383,9	623,5	485,1
3-Heksen-1-ol	t	t	t	t	t
Izobutil alkohol	3274,3	3556,1	3769,2	4340,2	3809,4
Izoamil alkohol	112201,8	95678,0	95362,3	103838,2	89521,5
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	t	t	t	t	t
2,3 Butandiol	nd	nd	nd	nd	nd
3-(Metiltio)-1-Propanol	268,7	228,8	247,2	290,7	213,1
2-Feniletil alkohol	52958,8	41594,1	44669,0	52520,1	38191,3
Ukupni alkoholi	177602,9	149735,6	152561,6	169742,7	140350,4
Etil butirat	1051,4	1093,0	1267,8	1406,5	1172,3
Etil heksanoat	280,8	320,6	386,3	436,7	440,9
Etil 3-heksenoat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil (S)-(-) laktat	1764,3	1092,3	1293,4	1222,1	1017,8
Etil oktanoat	t	128,9	164,4	173,8	203,6
Etil 3-hidroksibutirat	t	t	t	t	t
Etil dekanoat	t	t	128,5	128,9	t
Dietil sukcinat	1168,3	1665,8	1440,0	1704,6	1582,4
Etil 9-decenoat	t	t	t	t	t
Etil 4-hidroksibutanoat	386,6	164,2	257,9	500,3	226,9
Dietil hidroksibutandioat	931,3	575,2	537,9	576,7	698,6
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	440,7	265,6	228,9	263,3	278,1
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	nd	nd	nd	nd	nd
Etil hidrogen sukcinat	8063,9	6922,7	6543,1	7500,8	6619,1
Izoamil acetat	207,4	303,6	508,6	538,6	315,1
Heksil acetat	t	t	t	t	t
1,3-Propandiol diacetat	95,7	104,1	129,1	176,5	101,8
2-Feniletil acetat	131,2	157,7	206,9	230,4	160,7
γ -Butirolakton	1809,4	938,1	1065,2	1605,2	1145,6
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	16331,0	13731,8	14158,0	16464,4	13962,9
Heksanska kiselina	2289,2	2371,0	2499,2	2753,0	2884,4
Oktanska kiselina	4466,1	4106,1	4664,0	5205,6	4871,5
Dekanska kiselina	821,5	351,2	497,2	600,9	466,9
Izobuterna kiselina	t	217,0	248,3	275,4	228,4
9-Decenska kiselina	1196,5	nd	419,6	622,0	852,5
Ukupne kiseline	8773,3	7045,3	8328,3	9456,9	9303,7
Ukupna aromatična jedinjenja	202707,2	170512,7	175047,9	195664,0	163617,0

Skraćenice: Krstač vino [kontrola (K Ctrl s), maceracija 4 h, Lallzyme cuveé blanc (K CB4h s), maceracija 8 h, Lallzyme cuveé blanc (K CB8h s), maceracija 4 h, enzimski preparat Lallzyme β (K EB4h s), maceracija 8 h, enzimski preparat Lallzyme β (K EB8h s)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

Tabela 26. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Žižka, koja su dobijena primenom prefermentativnih tretmana maceracija (4h, 8h, 5°C) i enzima glikozidaza Lallzyme (cuveé blanc, beta) posle godinu dana sazrevanja vina

Jedinjenja	Z Ctrl s	Z CB4h s	Z CB8h s	Z EB4h s	Z EB8h s
1-Heksanol	691,4	540,7	473,7	750,4	731,9
3-Heksen-1-ol	t	124,9	107,1	t	t
Izobutil alkohol	5400,1	4898,0	5556,6	4751,1	5045,8
Izoamil alkohol	108218,1	96904,9	115489,5	96201,6	103190,0
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	nd	nd	nd	nd	nd
2,3 Butandiol	nd	nd	nd	nd	nd
3-(Metiltio)-1-Propanol	210,2	152,9	252,1	246,0	299,4
2-Feniletil alkohol	34628,1	36042,2	43477,7	40004,4	39524,0
Ukupni alkoholi	157277,9	146793,6	173486,7	150083,5	156921,1
Etil butirat	1570,3	1802,2	1285,2	1688,5	1485,5
Etil heksanoat	430,8	574,6	498,9	466,1	383,8
Etil 3-heksenoat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil (S)-(-) laktat	540,8	216,5	434,6	466,8	685,7
Etil oktanoat	134,7	230,8	177,7	138,8	115,9
Etil 3-hidroksibutirat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil dekanoat	160,8	202,2	138,2	148,2	t
Dietil sukcinat	1112,0	884,0	1238,3	1952,0	1517,5
Etil 9-decenoat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil 4-hidroksibutanoat	1074,6	1067,0	934,2	1006,6	755,7
Dietil hidroksibutandioat	251,8	180,7	269,5	551,1	790,4
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	nd	nd	nd	nd	nd
Etil hidrogen sukcinat	4394,8	3255,7	4350,6	5604,6	5899,2
Izoamil acetat	634,2	725,3	839,3	589,7	542,3
Heksil acetat	t	t	nd	t	t
1,3-Propandiol diacetat	191,4	233,4	210,2	212,7	183,6
2-Feniletil acetat	83,5	128,8	180,2	127,8	96,0
γ -Butirolakton	1228,2	981,1	1216,4	1346,0	1345,6
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	11807,9	10482,3	11773,3	14298,9	13801,2
Heksanska kiselina	2529,0	3336,9	3072,4	3191,2	2668,5
Oktanska kiselina	4606,7	6361,7	6071,8	5806,0	4799,6
Dekanska kiselina	818,5	843,6	775,7	967,5	681,0
Izobuterna kiselina	182,2	237,6	251,5	203,7	191,4
9-Decenska kiselina	286,7	933,6	629,7	837,8	732,9
Ukupne kiseline	8423,1	11713,4	10801,1	11006,2	9073,4
Ukupna aromatična jedinjenja	177508,9	168989,3	196061,1	175388,6	179795,7

Skraćenice: Žižak vino [kontrola (Z Ctrl s), maceracija 4 h, Lallzyme cuveé blanc (Z CB4h s), maceracija 8 h, Lallzyme cuveé blanc (Z CB8h s); maceracija 4 h, Lallzyme beta (Z EB4h s), maceracija 8 h, Lallzyme beta (Z EB8h s)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

Tabela 27. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Krstača i Žižka, koja su dobijena primenom pritiska (0; 1,8 bara) prilikom presovanja, posle godinu dana sazrevanja

Jedinjenja	K sam s	K press	Z sam s	Z press
1-Heksanol	958,7	5047,6	435,5	2685,1
3-Heksen-1-ol	t	117,5	137,0	311,8
Izobutil alkohol	7314,3	6158,9	5961,4	10787,4
Izoamil alkohol	158369,5	90803,5	117653,5	132485,4
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	t	245,6	t	t
2,3 Butandiol	nd	nd	nd	nd
3-(Metiltio)-1-Propanol	452,9	t	135,4	313,2
2-Feniletil alkohol	71897,4	16071,3	40718,8	26219,0
Ukupni alkoholi	247122,8	126574,4	173171,6	180931,9
Etil butirat	1573,3	8208,9	1578,4	2192,3
Etil heksanoat	388,7	806,3	528,9	511,7
Etil 3-heksenoat	nd	nd	nd	nd
Etil (S)-(-) laktat	1863,8	2024,0	421,1	8188,8
Etil oktanoat	160,5	204,4	203,1	196,3
Etil 3-hidroksibutirat	t	t	nd	nd
Etil dekanat	127,9	t	183,6	189,3
Dietil sukcinat	1153,9	424,8	1366,6	1712,8
Etil 9-decenoat	t	nd	nd	nd
Etil 4-hidroksibutanoat	655,8	511,9	1019,4	2234,7
Dietil hidroksibutandioat	694,2	119,1	240,8	157,1
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	260,5	t	nd	nd
Etil ester 4-etoksi benzoeva kiselina	nd	nd	nd	nd
Etil hidrogen sukcinat	6536,6	3397,1	3372,3	6946,9
Izoamil acetat	695,6	2178,5	917,3	383,7
Heksil acetat	t	249,5	nd	nd
1,3-Propandiol diacetat	209,3	471,5	184,2	171,1
2-Feniletil acetat	292,8	148,8	158,8	nd
γ -Butirolakton	1608,9	1255,9	1245,7	3065,8
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	16221,8	20000,7	11420,2	25950,5
Heksanska kiselina	2652,4	4425,2	3261,3	3385,4
Oktanska kiselina	5249,4	7599,5	6240,0	6629,9
Dekanska kiselina	843,4	1397,3	786,2	843,5
Izobuterna kiselina	240,7	189,3	363,2	244,8
9-Decenska kiselina	1217,4	163,5	715,6	654,0
Ukupne kiseline	10203,3	13774,8	11366,3	11757,6
Ukupna aromatična jedinjenja	273547,9	160349,9	195958,1	218640,0

Skraćenice: Krstač i Žižak vino [samotok ($p=0$ bar) (K sam s, Z sam s); pritisak $p=1,8$ bar (K press, Z press)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

Tabela 28. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Krstača i Žižka, koja su dobijena primenom različitih vremena statičkog taloženja šire (10 h, 20 h, 30 h), posle godinu dana sazrevanja

Jedinjenja	K kont s	K 10 s	K 20 s	K 30 s	Z kont s	Z 10 s	Z 20 s	Z 30 s
1-Heksanol	777,0	950,9	759,9	582,4	726,0	897,9	673,1	618,4
3-Heksen-1-ol	t	t	t	t	t	t	t	t
Izobutil alkohol	3110,6	3759,7	3751,6	3644,9	5130,1	6372,5	5042,1	5831,3
Izoamil alkohol	106591,7	83801,5	81526,4	76073,9	102807,2	140904,2	113894,5	125807,7
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	t	153,5	155,9	173,4	nd	nd	nd	nd
2,3 Butandiol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
3-(Metiltio)-1-Propanol	268,7	t	t	t	210,2	257,5	233,5	233,0
2-Feniletil alkohol	52958,8	24539,9	23614,8	18183,4	34628,1	37122,6	37541,3	39467,2
Ukupni alkoholi	171836,8	121335,5	117938,6	106788,0	151631,6	193684,7	165514,5	180087,6
Etil butirat	1040,9	3403,1	3307,8	3506,6	1554,6	1311,4	1314,2	1396,0
Etil heksanoat	280,8	515,8	427,8	469,8	430,8	360,8	574,1	509,0
Etil 3-heksenoat	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Etil (S)-(-) laktat	1746,7	743,0	645,7	706,7	535,4	623,6	483,1	505,2
Etil oktanoat	t	223,2	153,9	173,2	134,7	125,4	206,8	204,4
Etil 3-hidroksibutirat	t	t	103,1	t	nd	nd	nd	nd
Etil dekanat	t	t	t	t	160,8	t	t	t
Dietil sukcinat	1168,3	646,0	734,7	529,4	1112,0	799,8	782,4	834,9
Etil 9-decenoat	t	t	t	t	nd	nd	nd	nd
Etil 4-hidroksibutanoat	386,6	442,9	525,4	433,6	1074,6	936,9	917,5	1071,5
Dietil hidroksibutandioat	931,3	269,3	253,8	226,8	251,8	388,1	294,4	297,9
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	440,7	171,9	177,7	159,2	nd	nd	nd	nd
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Etil hidrogen sukcinat	7983,3	3366,7	3235,8	2081,1	4350,8	5355,2	4494,6	4917,6
Izoamil acetat	207,4	1096,9	785,8	1241,0	634,2	408,7	873,3	810,4
Heksil acetat	t	t	t	t	t	t	t	t
1,3-Propandiol diacetat	95,7	211,6	200,9	184,2	191,4	138,7	156,4	153,4
2-Feniletil acetat	131,2	164,0	129,0	152,8	83,5	t	123,3	135,6
γ -Butirolakton	1791,3	1079,5	1258,4	1226,9	1215,9	1201,4	1083,8	1152,6
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	16204,2	12333,9	11939,8	11091,3	11730,5	11650,0	11303,9	11988,5

Jedinjenja (nastavak tabele)	K kont s	K 10 s	K 20 s	K 30 s	Z kont s	Z 10 s	Z 20 s	Z 30 s
Heksanska kiselina	2174,7	2974,5	2964,9	2979,8	2402,5	2295,7	2889,7	2888,9
Oktanska kiselina	4242,8	5826,6	5820,5	5862,2	4376,4	4389,9	5613,2	5520,3
Dekanska kiselina	821,5	707,2	433,4	418,2	818,5	966,0	956,2	973,9
Izobuterna kiselina	t	201,8	208,3	221,1	182,2	184,2	t	208,8
9-Decenska kiselina	1136,7	352,8	279,9	237,6	272,4	378,2	624,8	651,6
Ukupne kiseline	8375,7	10062,9	9707,0	9718,9	8052,0	8214,0	10083,9	10243,5
Ukupna aromatična jedinjenja	196416,7	143732,3	139585,4	127598,2	171414,1	213548,7	186902,3	202319,6

Skraćenice: Krstač i Žižak vina [kontrola (K kont s, Z kont s,), taloženje 10 h (K 10 s, Z 10 s), taloženje 20 h (K 20 s, Z 20 s), taloženje 30 h (K 30 s, Z 30 s)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

Tabela 29. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Krstača, koja su dobijena primenom rastućih koncentracija bentonita (0, 50, 100, 150, 200 g/hl), posle godinu dana sazrevanja

Jedinjenja	K Ctrl s	K B 50 s	K B 100 s	K B 150 s	K B 200 s
1-Heksanol	740,2	721,7	672,9	686,9	830,9
3-Heksen-1-ol	t	101,8	113,1	101,6	t
Izobutil alkohol	5382,6	4089,1	3549,5	3772,4	5180,2
Izoamil alkohol	115524,6	99351,2	93340,5	94774,7	114041,0
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	t	t	t	t	t
2,3 Butandiol	nd	nd	nd	nd	nd
3-(Metiltio)-1-Propanol	292,7	281,4	293,5	316,0	353,9
2-Feniletil alkohol	48174,4	51213,4	57011,2	55832,5	56174,8
Ukupni alkoholi	178244,5	163888,6	163110,7	163614,1	184710,8
Etil butirat	1829,0	1379,9	1158,3	1263,7	1425,8
Etil heksanoat	446,6	355,0	371,0	386,2	352,4
Etil 3-heksenoat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil (S)-(-) laktat	1595,7	1410,0	1167,4	1232,8	1456,8
Etil oktanoat	170,0	133,9	147,6	141,1	143,8
Etil 3-hidroksibutirat	t	t	t	t	t
Etil dekanat	133,3	121,6	t	t	128,4
Dietil sukcinat	1273,7	1083,4	923,8	1038,3	952,3
Etil 9-decenoat	t	t	t	t	t
Etil 4-hidroksibutanoat	427,5	389,3	435,8	449,7	491,1
Dietil hidroksibutandioat	552,9	505,1	502,1	471,5	517,1
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	182,7	274,4	233,1	192,1	234,7
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	nd	nd	nd	nd	nd
Etil hidrogen sukcinat	5947,7	5256,7	4879,6	4854,7	5760,4
Izoamil acetat	916,8	808,1	608,3	604,6	578,2
Heksil acetat	t	t	t	t	t
1,3-Propandiol diacetat	188,8	165,2	163,1	180,6	175,6
2-Feniletil acetat	291,4	282,2	278,5	272,0	267,6
γ -Butirolakton	1317,6	1252,7	1298,4	1321,3	1283,4
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	15273,7	13417,5	12167,0	12408,6	13767,6
Heksanska kiselina	2764,7	2385,4	2376,7	2460,7	2695,3
Oktanska kiselina	5487,0	4865,0	4861,6	5088,4	5255,3
Dekanska kiselina	820,0	546,7	546,5	560,6	613,8
Izobuterna kiselina	204,5	180,2	173,6	203,5	246,9
9-Decenska kiselina	539,3	380,5	674,6	577,5	897,4
Ukupne kiseline	9815,5	8357,8	8633,0	8890,7	9708,7
Ukupna aromatična jedinjenja	203333,7	185663,9	183910,7	184913,4	208187,1

Skraćenice: Vina Krstača [kontrola (K Ctrl s), bentonit 50 g/hl (K B 50 s), bentonit 100 g/hl (K B 100 s), bentonit 150 g/hl (K B 150 s), bentonit 200 g/hl (K B 200 s)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

Tabela 30. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Žižka, koja su dobijena primenom rastućih koncentracija bentonita (0, 50, 100, 150, 200 g/hl), posle godinu dana sazrevanja

Jedinjenja	Z Ctrl s	Z B 50 s	Z B 100 s	Z B 150 s	Z B 200 s
1-Heksanol	483,6	458,3	538,9	566,4	550,6
3-Heksen-1-ol	131,9	121,1	128,5	141,0	133,8
Izobutil alkohol	5634,9	4952,4	5100,7	4743,9	4972,4
Izoamil alkohol	114846,6	106063,0	107990,5	105346,0	106266,0
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	nd	nd	nd	nd	nd
2,3 Butandiol	nd	nd	nd	nd	nd
3-(Metiltio)-1-Propanol	148,8	148,2	233,5	227,8	218,8
2-Feniletil alkohol	42228,5	39936,7	44867,0	42302,7	42067,7
Ukupni alkoholi	171604,3	159809,7	166989,1	161457,8	162339,3
Etil butirat	1450,2	1400,8	1262,7	1219,7	1287,4
Etil heksanoat	493,4	546,6	524,6	524,2	559,9
Etil 3-heksenoat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil (S)-(-) laktat	563,2	428,9	499,1	478,7	468,6
Etil oktanoat	181,5	213,8	224,2	236,4	228,5
Etil 3-hidroksibutirat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil dekanat	203,4	164,1	196,4	171,1	174,7
Dietil sukcinat	1518,7	1068,5	1198,7	1080,5	1074,7
Etil 9-decenoat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil 4-hidroksibutanoat	816,3	934,0	1164,1	1008,3	980,3
Dietil hidroksibutandioat	420,6	253,7	279,3	248,5	258,8
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	nd	nd	nd	nd	nd
Etil hidrogen sukcinat	4979,3	3168,5	3720,5	3225,6	2905,3
Izoamil acetat	884,6	1235,7	1075,4	1172,1	1111,7
Heksil acetat	nd	nd	nd	nd	nd
1,3-Propandiol diacetat	146,4	144,3	163,2	143,6	146,7
2-Feniletil acetat	180,3	219,7	211,2	246,9	218,6
γ -Butirolakton	1335,9	1137,5	1332,5	1218,1	1240,6
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	13173,8	10916,1	11851,9	10973,7	10655,8
Heksanska kiselina	3192,3	2914,4	3269,0	2996,5	3037,0
Oktanska kiselina	6070,7	5743,5	6670,5	6285,9	6146,9
Dekanska kiselina	675,5	560,7	640,2	640,5	648,7
Izobuterna kiselina	219,9	177,9	184,4	198,3	197,1
9-Decenska kiselina	843,9	979,0	1153,3	1256,6	1214,7
Ukupne kiseline	11002,3	10375,5	11917,4	11377,8	11244,4
Ukupna aromatična jedinjenja	195780,4	181101,3	190758,4	183809,3	184239,5

Skraćenice: Vina Žižka [kontrola (Z Ctrl s), bentonit 50 g/hl (Z B 50 s), bentonit 100 g/hl (Z B 100 s), bentonit 150 g/hl (Z B 150 s), bentonit 200 g/hl (Z B 200 s)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd)

Tabela 31. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Krstača, koja su dobijena mikrooksigencijom šire i katalitičkim delovanjem jona teških metala, posle godinu dana sazrevanja

Jedinjenja	K Ctrl s	K Zn 1 s	K Zn 2 s	K Cu 1 s	K Cu 2 s	K Fe 1 s	K Fe 2 s
1-Heksanol	740,2	872,7	990,1	946,9	898,4	760,6	716,1
3-Heksen-1-ol	t	t	t	t	t	t	t
Izobutil alkohol	5382,6	5795,4	5971,8	5938,5	5227,1	4519,8	4461,1
Izoamil alkohol	115524,6	133551,4	133598,1	126930,4	123010,5	113631,6	111002,2
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	t	t	t	t	t	t	t
2,3 Butandiol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
3-(Metiltio)-1-Propanol	292,7	433,1	419,0	387,2	362,7	385,0	317,2
2-Feniletal alkohol	48174,4	71032,1	68024,2	62531,9	63167,5	69212,9	63106,1
Ukupni alkoholi	178244,5	219814,7	217133,2	204864,9	200796,2	196639,9	187732,7
Etil butirrat	1829,0	1201,0	1233,6	1599,7	1242,1	1177,9	1250,9
Etil heksanoat	446,6	277,6	285,9	322,2	318,3	321,0	341,1
Etil 3-heksenoat	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Etil (S)-(-) laktat	1595,7	1748,6	1786,0	1806,3	1732,3	1592,3	1332,2
Etil oktanoat	170,0	t	t	t	t	t	t
Etil 3-hidroksibutirat	t	t	t	t	t	t	t
Etil dekanat	133,3	t	t	t	t	t	t
Dietil sukcinat	1273,7	1055,5	951,5	1081,3	1124,8	1034,3	932,0
Etil 9-decenoat	t	t	t	t	t	t	t
Etil 4-hidroksibutanoat	427,5	441,8	492,6	422,5	410,6	519,8	558,1
Dietil hidroksibutandioat	552,9	731,0	645,8	745,1	825,1	650,6	506,5
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	182,7	322,0	255,9	259,8	276,5	228,1	215,4
Etil ester 4-etoksi benzoeva kiselina	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Etil hidrogen sukcinat	5947,7	6060,3	5978,6	6517,5	6565,0	6137,9	5422,0
Izoamil acetat	916,8	375,6	311,8	494,2	374,0	429,3	572,9
Heksil acetat	t	t	t	t	t	t	t
1,3-Propandiol diacetat	188,8	163,6	175,8	177,9	145,1	156,1	160,6
2-Feniletal acetat	291,4	203,4	164,7	191,2	176,2	230,6	236,4
γ -Butirolakton	1317,6	1555,6	1447,0	1488,9	1590,8	1568,4	1436,6
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	15273,7	14136,0	13729,2	15106,6	14780,8	14046,3	12964,7

Jedinjenja (nastavak tabele)	K Ctrl s	K Zn 1 s	K Zn 2 s	K Cu 1 s	K Cu 2 s	K Fe 1 s	K Fe 2 s
Heksanska kiselina	2764,7	2047,9	1915,9	2197,0	2147,2	2213,2	2244,9
Oktanska kiselina	5487,0	3828,6	3917,0	4358,5	4560,4	4370,1	4743,7
Dekanska kiselina	820,0	379,4	797,4	376,6	588,7	678,5	732,1
Izobuterna kiselina	204,5	205,2	204,4	210,8	188,6	178,4	204,6
9-Decenska kiselina	539,3	918,8	811,3	1394,7	1252,7	1026,5	980,8
Ukupne kiseline	9815,5	7379,9	7646,0	8537,6	8737,6	8466,7	8906,1
Ukupna aromatična jedinjenja	203333,7	241330,6	238508,4	228509,1	224314,6	219152,9	209603,5

Skraćenice: Krstač vina [kontrola (K Ctrl s), koncentracija Zn (3 mg/l, 6 mg/l) (K Zn 1 s, K Zn 2 s), koncentracija Cu (3 mg/l, 6 mg/l) (K Cu 1 s, K Cu 2 s), koncentracija Fe (3 mg/l, 6 mg/l) (K Fe 1 s, K Fe 2 s)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

Tabela 32. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Žižka, koja su dobijena mikrooksigencijom šire i katalitičkim delovanjem jona teških metala, posle godinu dana sazrevanja

Jedinjenja	Z Ctrl s	Z Zn 1 s	Z Zn 2 s	Z Cu 1 s	Z Cu 2 s	Z Fe 1 s	Z Fe 2 s
1-Heksanol	483,6	625,0	596,2	487,5	497,4	494,0	514,5
3-Heksen-1-ol	131,9	143,2	109,5	109,6	118,5	110,2	t
Izobutil alkohol	5634,9	6852,0	7046,7	5885,3	5845,3	5291,5	5629,2
Izoamil alkohol	114846,6	139222,0	139836,8	122008,2	120979,8	118449,1	123357,9
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	nd	t	t	t	t	t	t
2,3 Butandiol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
3-(Metiltio)-1-Propanol	148,8	288,3	252,4	233,0	238,4	251,0	253,1
2-Feniletal alkohol	42228,5	44280,7	45909,9	44120,0	46670,9	45847,3	44793,0
Ukupni alkoholi	171604,3	191411,2	193751,5	172843,6	174350,3	170443,1	174547,7
Etil butirat	1450,2	1253,7	1495,1	1365,7	1240,6	1214,5	1098,0
Etil heksanoat	493,4	464,3	541,7	520,9	448,7	505,2	429,2
Etil 3-heksenoat	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Etil (S)-(-) laktat	563,2	562,1	613,3	589,7	609,7	581,8	598,6
Etil oktanoat	181,5	197,6	241,2	229,0	200,0	207,7	193,4
Etil 3-hidroksibutirat	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Etil dekanat	203,4	191,7	218,4	194,6	188,6	192,9	201,7
Dietil sukcinat	1518,7	1291,2	1327,5	1153,7	1265,8	1190,3	1239,5
Etil 9-decenoat	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Etil 4-hidroksibutanoat	816,3	1215,5	1255,6	1076,4	1031,2	1090,8	999,2
Dietil hidroksibutandioat	420,6	417,2	302,4	286,3	339,1	300,5	255,9
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Etil ester 4-etoksi benzoeva kiselina	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Etil hidrogen sukcinat	4979,3	3662,8	3245,6	3291,6	4261,2	3676,2	4101,1
Izoamil acetat	884,6	865,0	1013,3	1065,1	881,3	888,7	927,0
Heksil acetat	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
1,3-Propandiol diacetat	146,4	165,0	175,2	157,3	147,0	138,1	138,3
2-Feniletal acetat	180,3	149,7	200,1	199,3	188,7	177,5	163,6
γ -Butirolakton	1335,9	1287,0	1349,3	1290,7	1387,3	1374,9	1332,1
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	13173,8	11722,8	11978,7	11420,3	12189,2	11539,1	11677,6

Jedinjenja (nastavak tabele)	Z Ctrl s	Z Zn 1 s	Z Zn 2 s	Z Cu 1 s	Z Cu 2 s	Z Fe 1 s	Z Fe 2 s
Heksanska kiselina	3192,3	2760,6	3089,9	2911,8	2831,2	2747,7	2793,9
Oktanska kiselina	6070,7	5160,6	5627,6	5691,2	5648,5	5524,4	5251,3
Dekanska kiselina	675,5	701,2	676,8	679,5	675,5	627,9	655,6
Izobuterna kiselina	219,9	353,5	239,2	222,6	240,6	189,9	189,4
9-Decenska kiselina	843,9	851,8	866,8	859,6	816,1	949,2	772,6
Ukupne kiseline	11002,3	9827,7	10500,3	10364,7	10211,9	10039,1	9662,8
Ukupna aromatična jedinjenja	195780,4	221091,7	224360,5	202758,6	204881,4	200151,3	204018,1

Skraćenice: Žižak vina [kontrola (Z Ctrl s), koncentracija Zn (3 mg/l, 6 mg/l) (Z Zn 1 s, Z Zn 2 s), koncentracija Cu (3 mg/l, 6 mg/l) (Z Cu 1 s, Z Cu 2 s), koncentracija Fe (3 mg/l, 6 mg/l) (Z Fe 1 s, Z Fe 2 s)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd)

Tabela 33. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Krstača, koja su dobijena primenom različitih kvasaca (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus*), i hraniva za kvasce (fermaid E, fermaid O), posle godinu dana sazrevanja

Jedinjenja	K Ctrl s	K ICV E s	K ICV O s	K Bay E s	K Bay O s
1-Heksanol	910,8	747,7	652,1	692,1	750,2
3-Heksen-1-ol	t	t	115,0	121,8	105,3
Izobutil alkohol	6948,6	4732,2	4158,3	4092,9	4664,9
Izoamil alkohol	150451,0	104818,4	89723,7	100069,5	102320,8
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	t	t	447,9	539,7	t
2,3 Butandiol	nd	nd	nd	nd	nd
3-(Metiltio)-1-Propanol	452,9	202,2	129,2	68,2	217,2
2-Feniletil alkohol	71897,4	39997,7	29814,6	27318,2	44650,4
Ukupni alkoholi	238790,7	158628,2	133170,8	141032,4	160838,8
Etil butirat	1494,6	2170,4	2234,5	2652,1	1537,5
Etil heksanoat	388,7	532,0	711,4	953,2	550,3
Etil 3-heksenoat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil (S)-(-) laktat	1770,6	1577,5	1007,2	1449,0	1309,3
Etil oktanoat	160,5	247,1	247,7	339,2	268,9
Etil 3-hidroksibutirat	t	121,8	t	t	t
Etil dekanat	127,9	167,5	322,0	299,1	148,4
Dietil sukcinat	1153,9	1183,9	467,7	573,7	990,7
Etil 9-decenoat	t	t	t	t	t
Etil 4-hidroksibutanoat	655,8	333,9	862,6	496,5	453,6
Dietil hidroksibutandioat	694,2	549,2	244,7	469,8	468,8
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	260,5	231,5	196,7	177,2	215,1
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	nd	nd	nd	nd	nd
Etil hidrogen sukcinat	6209,8	4804,2	2550,7	3111,5	4270,3
Izoamil acetat	695,6	1569,9	1970,3	2701,7	1276,4
Heksil acetat	t	t	t	t	t
1,3-Propandiol diacetat	209,3	210,5	290,6	263,8	164,3
2-Feniletil acetat	292,8	411,8	427,9	465,7	355,5
γ -Butirolakton	1528,4	1167,0	1642,7	1721,4	1283,6
Ukupni etil estri, acetati i laktone	15642,6	15278,2	13176,7	15673,9	13292,7
Heksanska kiselina	2519,8	3005,9	4216,1	4656,4	2918,7
Oktanska kiselina	4986,9	6356,0	8009,3	9047,7	5958,1
Dekanska kiselina	843,4	803,8	871,4	1249,9	872,3
Izobuterna kiselina	240,7	196,5	t	t	202,3
9-Decenska kiselina	1156,5	284,2	250,8	194,6	273,1
Ukupne kiseline	9747,3	10646,4	13347,6	15148,6	10224,5
Ukupna aromatična jedinjenja	264180,6	184552,8	159695,1	171854,9	184356,0

Skraćenice: Krstač vina [kontrola (K Ctrl s), *Saccharomyces cerevisiae*, fermaid E (K ICV E s), *Saccharomyces cerevisiae*, fermaid O (K ICV O s), *Saccharomyces bayanus*, fermaid E (K Bay E s), *Saccharomyces bayanus*, fermaid O (K Bay O s)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

Tabela 34. Sadržaj aromatičnih jedinjenja ($\mu\text{g/l}$) u vinima Žižka, koja su dobijena primenom različitih kvasaca (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus*), i hraniva za kvasce (fermaid E, fermaid O), posle godinu dana sazrevanja

Jedinjenja	Z Ctrl s	Z ICV E s	Z ICV O s	Z Bay E s	Z Bay O s
1-Heksanol	413,7	557,4	494,8	600,9	701,9
3-Heksen-1-ol	137,0	153,4	121,7	t	140,3
Izobutil alkohol	5663,3	6677,7	5822,3	4872,3	5814,2
Izoamil alkohol	114123,9	131724,0	113654,6	103475,7	121619,3
4-Metil-1-Pentanol	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0	8130,0
3-Etoksi-1-Propanol	t	nd	t	t	t
2,3 Butandiol	nd	nd	nd	nd	nd
3-(Metiltio)-1-Propanol	135,4	160,9	161,9	187,7	187,2
2-Feniletil alkohol	40718,8	44765,0	42549,4	30715,3	34809,9
Ukupni alkoholi	169322,1	192168,4	170934,7	147981,9	171402,8
Etil butirat	1499,5	2168,2	1526,1	1791,4	1664,0
Etil heksanoat	528,9	670,3	547,3	708,7	614,4
Etil 3-heksenoat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil (S)-(-) laktat	400,0	808,0	488,0	884,0	628,0
Etil oktanoat	203,1	223,2	240,0	240,8	241,7
Etil 3-hidroksibutirat	nd	113,6	nd	nd	nd
Etil dekanat	183,6	287,1	t	278,7	306,0
Dietil sukcinat	1366,6	1769,2	968,6	1070,6	868,2
Etil 9-decenoat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil 4-hidroksibutanoat	1019,4	958,6	987,9	1646,3	2161,5
Dietil hidroksibutandioat	240,8	488,6	235,1	455,6	262,7
Dietil 2-hidroksi 3-metilsukcinat	nd	nd	nd	nd	nd
Etil estar 4-etoksi benzoeva kiselina	nd	nd	nd	nd	nd
Etil hidrogen sukcinat	3203,7	6898,9	3603,2	4300,5	3084,9
Izoamil acetat	917,3	1506,3	1068,2	1414,8	1308,6
Heksil acetat	nd	t	nd	173,4	t
1,3-Propandiol diacetat	184,2	204,6	172,7	171,0	192,3
2-Feniletil acetat	158,8	256,0	210,6	197,4	208,3
γ -Butirolakton	1183,4	1403,0	1136,6	2629,7	1982,8
Ukupni etil estri, acetati i laktoni	11089,3	17755,6	11184,3	15962,9	13523,4
Heksanska kiselina	3098,2	4141,2	3169,2	4233,4	4530,8
Oktanska kiselina	5928,0	7142,6	6142,8	8049,1	8193,5
Dekanska kiselina	786,2	795,2	737,7	1073,3	696,4
Izobuterna kiselina	363,2	269,4	252,6	t	t
9-Decenska kiselina	679,8	1154,3	851,6	299,8	294,9
Ukupne kiseline	10855,4	13502,7	11153,9	13655,6	13715,6
Ukupna aromatična jedinjenja	191266,8	223426,7	193272,9	177600,4	198641,8

Skraćenice: Žižak vina [kontrola (Z Ctrl s), *Saccharomyces cerevisiae*, fermaid E (Z ICV E s), *Saccharomyces cerevisiae*, fermaid O (Z ICV O s), *Saccharomyces bayanus*, fermaid E (Z Bay E s), *Saccharomyces bayanus*, fermaid O (Z Bay O s)], koncentracija jedinjenja u tragovima (t), nije detektovano (nd).

BIOGRAFIJA AUTORA

Valerija Madžgalj rođena je 13.08.1972. godine u Bijelom Polju, Crna Gora, gde je završila osnovno i srednje obrazovanje. Dobitnik je diplome „Luča“ iz osnovne škole i Gimnazije (hemijski smer). Diplomirala je u maju 1998. godine na Poljoprivrednom fakultetu u Beogradu, Odsek za prehrambenu tehnologiju i biohemiju, smer: Tehnologija biljnih proizvoda. Iste godine je upisala specijalističke studije na grupi Tehnologija konzervisanja i dobila zvanje specijaliste za tehnologiju konzervisanja.

Dvogodišnje magistarske studije upisala je školske 2005/2006 godine, po starom programu obrazovanja, koje je završila sa prosečnom ocenom 9,83. Magistarsku tezu pod nazivom „Antioksidativnost voćnih nektara na bazi jagodastog voća“, odbranila je 2010. godine i stekla naziv magistra biotehničkih nauka, oblast prehrambeno-tehnoloških nauka.

Upisala je 2013/2014 godine doktorske akademske studije na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu, studijski program Prehrambena tehnologija. Položila je sve ispite predviđene planom i programom doktorskih studija sa prosečnom ocenom 9,83.

Kandidatkinja je obavila pripravnički staž pri Ministarstvu poljoprivrede šumarstva i vodoprivrede, u fabrici „Ekoflora“. Na Biotehničkom fakultetu, Univerzitet Crne Gore, radila je u laboratoriji za kontrolu kvaliteta vina. Bila je angažovana u radu na realizaciji projekata: „Vina Balkana i Jadrana“, „Polifenolni potencijal crvenih sorti grožđa u Sloveniji i Crnoj Gori“, „Polifenolni sadržaj i antioksidativna aktivnost austrijskih i crnogorskih crvenih vina“. Pored toga, radila je kao enolog u pogonu za mikrovinifikaciju, „13. Jul Plantaže“ ad. Kandidatkinja je bila angažovana kao saradnik iz prakse, na predmetima Tehnologija proizvoda biljnog porijekla, Analiza hrane i vode i Tehnologija voća i povrća, na Fakultetu za prehrambenu tehnologiju, bezbjednost hrane i ekologiju u Podgorici.

Objavila je sama ili u saradnji sa drugim autorima 10 radova, od kojih dva rada u međunarodnim časopisima (M 23), osam saopštenja na međunarodnim i nacionalnim naučnim skupovima (M 33, M 34, M 63).

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora: Valerija Madžgalj

Broj indeksa: TH 13/31

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

„Dinamika sadržaja aromatičnih materija grožđa sorti Krstač i Žižak tokom sazrevanja i vinifikacije i njen uticaj na senzorne karakteristike vina“

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio/la intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis autora

U Beogradu, _____

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: mr Valerija Madžgalj

Broj indeksa: TH 13/31

Studijski program: Prehrambena tehnologija

Naslov rada: **„Dinamika sadržaja aromatičnih materija grožđa sorti Krstač i Žižak tokom sazrevanja i vinifikacije i njen uticaj na senzorne karakteristike vina“**

Mentor: prof. dr Aleksandar Petrović

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la radi pohranjenja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis autora

U Beogradu, _____

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

„Dinamika sadržaja aromatičnih materija grožđa sorti Krstač i Žižak tokom sazrevanja i vinifikacije i njen uticaj na senzorne karakteristike vina“

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci.

Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).

Potpis autora

U Beogradu, _____

1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.