

Utjecaj kvasaca sekundarne fermentacije na aromatski profil pjenušavih vina

Sažetak

Proizvodnja pjenušavih vina zauzima sve veći udio u ukupnoj svjetskoj proizvodnji vina. Tijekom posljednjeg desetljeća i Republika Hrvatska bilježi značajan porast proizvodnje i potrošnje pjenušavih vina. Sekundarna fermentacija i dozrijevanje na talogu kvasaca ključne su faze tradicionalne metode proizvodnje koje utječu na aromatski profil pjenušavih vina. U istraživanju na bijelom pjenušavom vinu proizvedenom od sorata 'Manzoni' i 'Pinot crni', korištena su tri različita komercijalno dostupna *Saccharomyces* sp. kvasca u pokretanju sekundarne fermentacije kako bi se analizirale potencijalne razlike u osnovnom sastavu te aromatskom profilu pjenušavih vina. Rezultati analiza dobivenih primjenom plinske kromatografije (GC-MS) jasno izdvajaju aromatske spojeve koji su značajno utjecali na razlike u aromatskim profilima proizvedenih pjenušavih vina.

Ključne riječi: aromatski spojevi, kvasci, pjenušava vina, sekundarna fermentacija u boci, tradicionalna metoda

Uvod

Proizvodnja pjenušavih vina posljednjih godina bilježi rast i sve veću potražnju na svjetskom vinskom tržištu. Prema statističkim podacima Međunarodne organizacije za vinovu lozu i vino (OIV) bilježi se porast proizvodnje od čak 57 % u odnosu na 2002. godinu, a u 2018. godini proizvodnja pjenušavog vina prvi puta postiže volumen od 20 m^hL (OIV, 2020). Tijekom prošlog desetljeća i Republika Hrvatska bilježi porast proizvodnje, a kao predvodnik, posebno se ističe Zagrebačka županija (Jagatić Korenika i sur., 2020).

Zbog dodane vrijednosti i porasta potražnje za pjenušavim vinima, proizvođači pa i znanstvenici sudjeluju u unaprjeđenju i pronalasku tehnoloških poboljšanja postojećih metoda proizvodnje, posebno u smislu održive proizvodnje (smanjenje vremena i troškova proizvodnje). Suvremena istraživanja usmjerena su na upotrebu različitih vrsta i sojeva kvasaca u proizvodnji kako bi se smanjilo trajanje, potencijalno pojednostavio proces proizvodnje te poboljšao aromatski profil vina. Novi trendovi i istraživanja pjenušavih vina usmjerena su i na korištenje autohtonih sorata grožđa te sojeva kvasaca kako bi se poboljšala i dobila jedinstvena aroma, različita od trenutno poznatih i „standardnih“ (Kemp i sur., 2015; Di Gianvito i sur., 2019).

Najcjenjenija i najčešće korištena metoda za proizvodnju pjenušavih vina je tradicionalna/klasična (*Champenoise*) metoda. Grožđe za proizvodnju osnovnog ili baznog vino karakterizira viša koncentracija ukupne kiselosti, niža pH vrijednost te niži sadržaj šećera. Zbog traženih parametara, rok berbe je iznimno važan čimbenik u proizvodnji baznog vina.

Na kakvoću pjenušavog vina utječu različiti čimbenici kao što su sorta, faza zrelosti grožđa, tehnologija proizvodnje, temperatura skladištenja, vrsta kvasca, duljina dozrijevanja, ekspedicijski liker, itd. Svi navedeni čimbenici mogu značajno utjecati na razlike u aromatskom profilu baznog vina u odnosu na pjenušac (Di Gianvito i sur., 2019).

¹ mag.ing.agr. Iva Šikač, Visoko gospodarsko učilište u Križevcima, Milislava Demerca 1, Križevci, Hrvatska
² prof.dr.sc. Ana Jerome, dr.sc. Ivana Tomaz, prof.dr.sc. Bernard Kozina, izv.prof.dr.sc. Ana-Marija Jagatić Korenika, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska
Autor za korespondenciju: amjagatic@agr.hr

Na kakvoću pjenušavog vina definiranu kroz svojstva mirisa i okusa te visinu i stabilnost pjene može se utjecati u svakoj fazi proizvodnje. Proces proizvodnje započinje proizvodnjom mirnog vina nakon čega slijedi dodatak tiražnog likera i pokretanje sekundarne fermentacije u boci te odležavanje na kvascu. Sekundarna fermentacija je ključni korak u proizvodnji pjenušavih vina jer upravo tada u vinu nastaju mjehurići ugljikovog dioksida ili svojstvo perlanja. Iz tog razloga ova faza naziva se *prise de mousse* („nastanak pjene“) (Buxaderas i López-Tamames, 2012). Pravilan odabir starter kulture kvasca vrlo je važan zbog uvjeta kod pokretanja sekundarne fermentacije koji podrazumijevaju visoku alkoholnu jakost, nisku pH vrijednost i visoku koncentraciju ukupne kiselosti (Di Gianvito i sur., 2018). Najveći udio arome vina rezultat je metabolizma kvasca (Herjavec, 2019). Tijekom sekundarne fermentacije dolazi do interakcije kvašćevih stanica i spojeva u vinu koje izazivaju brojne kemijske i enzimatske reakcije tvoreći tako različite aromatske i kemijske profile pjenušavih vina (Gallardo-Chacón i sur. 2010; Buxaderas i López-Tamames 2012; Stefenon i sur. 2014; Miličević i sur., 2017). S obzirom na korišteni kvasac i duljinu dozrijevanja na talogu kvasca, aromatski profil pjenušavog vina može imati naglašene cvjetne ili voćne arome, arome tostiranog kruha, meda i slično. Najčešće korištena vrsta kvasca je *Saccharomyces sp.*, odnosno *Saccharomyces cerevisiae (bayanus)*. Proizvođači su prihvatili ovu vrstu kvasca zbog poznatog metaboličkog puta pri različitim uvjetima fermentacije.

Pjenušava vina, za razliku od mirnih vina, sadrže ugljikov dioksid koji potiče razvoj i oslobađanje aroma. Na vrstu i kakvoću mirisa veliki utjecaj ima i metoda proizvodnje. Ono što pjenušava vina klasične metode čini privlačnim, su kompleksnost njihovih aroma koje proizlaze iz autolize kvasca i odležavanja na talogu u boci. Pjenušci koji dugo odležavaju na talogu razvijaju arome kvasca, kandiranog voća, voska, tostiranog kruha, meda, maslaca i slično (DiWineTaste, 2003).

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi sastav i razlike u aromatskim profilima pjenušavog vina vinogorja Zagreb s obzirom na korištene vrste kvasaca.

Materijali i metode

Proizvodnja vina

Istraživanje je provedeno na vinogradarsko-vinarskom pokušalištu „Jazbina“ koje je sastavni dio Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo, Agronomskog fakulteta u Zagrebu od 1939. godine. Nalazi se na blagim obroncima Medvednice i zauzima površinu od 8,5 ha, s oko 6 ha vinograda.

Za proizvodnju pjenušavog bijelog vina korištene su sorte "Manzoni" i "Pinot crni". Ručno pobrano grožđe pažljivo se transportiralo u plastičnim kašetama do podruma kako ne bi došlo do oštećenja. Usljedilo je hlađenje grožđa tijekom 24 sata, a zatim prešanje cijelih grozdova vodenom prešom. Mošt dobiven nježnim prešanjem (do 2 bar-a) i ocjeđivanjem, taložen je 24 h nakon čega je odvojen od taloga i rastočen u inoks posude zapremnine 200 L. Izdvojeni su uzorci za analizu osnovnog kemijskog sastava mošta, FAN-a (slobodni amino dušik) i ukupnih fenola (Tablica 1.).

Alkoholna fermentacija pokrenuta je inokulacijom mošta selekcioniranim kvascem Lalvin EC 1118° (Lallemand) uz dodatak hrane za kvasce Fermaid E° (Lallemand). Fermentacija je trajala 14 dana pri 18 °C. Po završetku alkoholne fermentacije vino je pretočeno s grubog taloga. Bazo vino je bistreno s bentonitom i filtrirano pločastim filtrom (EK) nakon čega je provedena fizikalno-kemijska analiza (Tablica 2.).

Istraživanje je podrazumijevalo tri različita tretmana u sekundarnoj fermentaciji u bocama primjenom različitih kvasaca- ProElif° AEB, Uvaferm BC° i Lalvin EC-1118°. Lalvin EC-1118° je *Saccharomyces cerevisiae var. bayanus* selekcioniran u Champagne i danas najviše korišten u proizvodnji pjenušavih vina i šampanjaca jer daje vrhunske rezultate i provodi fermentaciju do

kraja bez obzira na uvjete i tehnologiju. ProElif[®] kvasac (AEB, Italija) dobiven je inkapsulacijom *Saccharomyces cerevisiae* kvasca u alginatu i primjenjuje se kao dehidrirana kapsulica promjera 2 mm. Uvaferm BC[®] je kvasac *Saccharomyces cerevisiae*, var. *bayanus* selekcioniran u Institutu Pasteur u Parizu. Ovaj kvasac se posebno preporučuje za zahtjevne i teške uvjete fermentacije. Osim toga poznato je da ima pozitivan utjecaj na aromatski profil pjenušavog vina kod dugotrajnog dozrijevanja na kvascu.

U stabilizirana bazna vina dodan je tiražni liker s 30 g/L invertnog šećera, Lallemand Opti-White[™] (15 g/hL), Fermaid E[™] (30 g/hL) te po jedan od navedenih kvasaca (40 g/hL). Napunjene boce zatvorene su krunskim čepom s bidualom te su postavljene horizontalno pri temperaturi $12 \pm 0,5$ °C tijekom fermentacije koja je trajala 3 mjeseca. Nakon završetka fermentacije, uslijedilo je dozrijevanje pjenušaca na talogu 12 mjeseci kako bi se dobio željeni stil pjenušavog vina. Nakon 15 mjeseci, boce su postavljene na A-stalke i mjesec dana okretane do vertikalnog položaja i taloženja kvasca u grlo boce. Nakon 13 mjeseci odležavanja vina na talogu i spuštanja taloga u grlo boce, uslijedio je postupak degoržiranja. Nakon izbacivanja taloga iz boce, dodan je SO₂ (0,375 mg/ 0,75 L) i ekspedicijski liker na bazi vinjaka i začina (3,5 mL/ 0,75 L). Boce su zatvorene plutenim čepom i metalnom košaricom te su ostavljene 6 mjeseci na odležavanju prije fizikalno-kemijske analize (Tablica 3.) i analize aromatskih spojeva pjenušavog vina (Tablica 5.).

Fizikalno-kemijska analiza vina

Osnovna analiza fizikalno-kemijskih parametara u vinu provedena je prema metodama OIV-a (2020a). Ukupna kiselost u vinima, izražena u g/L kao vinska kiselina, određivana je metodom neutralizacije uzorka s 0,1 M NaOH uz indikator bromtimol plavi. pH vrijednost određena je mjerenjem na pH-metru Lab 845 (SI Analytics). Upotrebom Paulove alkalimetrijske metode određene su količine sumpornog dioksida, slobodnog i ukupnog.

Analiza organskih kiselina

Pojedinačne organske kiseline- vinska, jabučna, limunska određene su tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti, Agilent 1050 (Palo Alto, SAD). Uzorak je prethodno filtriran pomoću PTFE membranskih filtera (0.45 μm). Identifikacija i kvantifikacija provođena je pri valnoj duljini λ=210 nm na Aminex HPX-87H (BioRad, Hercules, CA, SAD).

Analiza ukupnih fenola

Ukupni fenoli mjereni su prema Folin-Ciocalteu metodi upotrebom spektrofotometra Lambda XLS+ (PerkinElmer) na 765 nm valne duljine. Rezultati su izraženi u ekvivalentima galne kiseline, GAE mg/L. Reagens je napravljen dodavanjem 200 g natrijevog karbonata u 800 mL destilirane vode. Otopina je zagrijana do vrenja, a nakon hlađenja dodani su kristali Na₂CO₃. Nakon 24 h otopina je filtrirana i razrijeđena destiliranom vodom do 1000 mL. Postupak pripreme uzoraka za mjerenje u spektrofotometru započeo je pipetiranjem 100 μL vina u odmjernu tikvicu u koju je dodano još 6 mL destilirane vode i 50 μL Folin Ciocalteu-ovog reagensa. Smjesa je miješana 8 min i 30 s te je zatim dodano 2 mL 20%-tne otopine natrijevog karbonata. U odmjernu tikvicu dodano je destilirane vode do oznake. Pripremljena otopina zagrijavana je 16 minuta u vodenoj kupelji na 50 °C.

Analiza hlapljivih spojeva arome

Provedena je analiza pojedinačnih aromatskih spojeva primjenom plinske kromatografije (GC-MS). Ekstrakcija spojeva iz vina provedena je primjenom ekstrakcije na čvrstoj fazi. Korištene su LichrolutEN (Merck, Njemačka) kolone. Prije korištenja kolona je kondicionirana s 3 mL diklormetana, 3 mL metanola i 3 mL 12 % otopine etanola. Pri završetku kondicioniranja 50 mL

vina naneseo je na kolonu. Nakon toga kolona se sušila u struji vakuuma 20 minuta. Željeni spojevi eluirani su s 800 μ L diklormetana. Dobiveni uzorak (ekstrakt) određen je plinsko-kromatografskom analizom na HP 6890 plinskom kromatografu uz 5793 Agilent spektrometar masa kao detektor. Analiza je provedena na ZB-WAX koloni dimenzija 60 m x 0,25 mm promjera kolone, te debljine filma nepokretne faze 0,5 μ m (Phenomenex, SAD). Početna temperatura kolone bila je 40 °C 15 minuta te je zatim podignuta na 210 °C brzinom od 2 °C po minuti. Temperatura injektora bila je 200 °C. Volumen injektiranog uzorka bio je 3 μ L. Vrijeme trajanja analize bilo je 120 minuta. Plin nosilac bio je helij, a protok plina bio je 1 mL/min.

Aktivna mirisna vrijednost (OAV)

S ciljem procjene utjecaja analiziranih aromatskih spojeva na senzorna svojstva vina, određena je aktivna mirisna vrijednost (OAV) koja se dobiva dijeljenjem koncentracije pojedinog kemijskog spoja s pragom njegove percepcije. Samo spojevi s OAV > 1 pojedinačno pridonose aromi vina (Güth, 1997). Međutim, i pojedini spojevi čiji je OAV < 1 mogu doprinijeti kompleksnosti arome zahvaljujući sinergističkom djelovanju (Francis i Newton, 2005).

Statistička analiza podataka

Provedena je statistička obrada podataka jednosmjernom analizom varijance (ANOVA) pri čemu su prikazane srednje vrijednosti pojedinog tretmana označene različitim slovima ako se statistički razlikuju pri $p < 0.05$. Analiza je provedena upotrebom XLSTAT software v.2020.3.1. (Addinsoft, New York, NY, USA).

Rezultati i rasprava

Tablica 1. Analiza osnovnog kemijskog sastava, FAN-a i ukupnih fenola u moštu
Table 1. Analysis of basic chemical composition, FAN and total phenols in must

Limunska kiselina (g/L)/Citric acid	0,22
Vinska kiselina (g/L)/Tartaric acid	6,03
Jabučna kiselina (g/L)/Malic acid	2,05
Ukupna kiselost (g/L)/Total acidity	8,0
pH	3,05
Šećer (°Oe) /Sugar	82
FAN (mg/L) (slobodni amino dušik/free amino nitrogen)	58,999
Ukupni fenoli (mg/L)/Total phenols	296,38

Tablica 2. Rezultati osnovne fizikalno-kemijske analize baznog vina
Table 2. Results of basic physicochemical analysis of base wine

Specifična težina (20/20°C)/Specific gravity	0,9931
Alkohol (v/v, vol %)/Alcohol	11,3
Ekstrakt ukupni (g/L)/Total extract	20,9
Šećer reducirajući (g/L)/Residual sugar	4,0
Ekstrakt bez šećera (g/L)/Sugar-free extract	17,7
Ukupna kiselost ¹ (g/L)/Total acidity	7,1
Hlapljiva kiselost ² (g/L)/Volatile acidity	0,58

Nehlapljiva kiselost (g/L)/Non-volatile acidity	6,4
pH	3,00
SO ₂ slobodni (mg/L)/Free SO ₂	28,0
SO ₂ vezani (mg/L)/Bound SO ₂	119,0
SO ₂ ukupni (mg/L)/Total SO ₂	147,0
Pepeo (g/L)/Ash	1,57

¹ kao vinska kiselina/ as tartaric acid ² kao octena kiselina/ as acetic acid

Rezultati prikazani u Tablicama 1. i 2. prikazuju optimalne parametre u moštu i baznom vinu za proizvodnju pjenušavog vina u pogledu razgradnje šećera, vrijednosti ukupne i hlapljive kiselosti te pH vrijednosti vina. Vrijednosti hlapljive kiselosti upućuju da je sekundarna fermentacija protekla pravilno te da nije došlo do značajnije sinteze octene kiseline što pozitivno utječe na čistoću aromatskog profila vina.

Fizikalno-kemijskom analizom pjenušavih vina (Tablica 3.) utvrđene su minimalne razlike između tretmana. Alkoholna jakost kretala se između 12,2 - 12,3 %, v/v, što je niže u usporedbi s rasponom od 12,8 do 13,6 %, v/v u sličnom istraživanju kojeg su proveli Miličević i sur. (2017). Najveća razlika zabilježena je kod tretmana inkapsuliranim kvascem PE u kojem je sadržaj neprevrelog šećera bio najviši (17,0 g/L), kao i ukupna kiselost (8,0 g/L) što prati i najnižu pH vrijednost od 3,02. S obzirom na sadržaj neprovrelog šećera pjenušavo vino PE kategorizira se kao *extra sec* i kod njega je zabilježena najmanja iskoristivost šećera, dok su ostala pjenušava vina kategorizirana kao *brut*.

Tablica 3. Fizikalno-kemijska svojstva pjenušavog vina u tri tretmana
Table 3. Physicochemical properties of sparkling wine in three treatments

Parametar/ Parameter	PE	UBC	EC
Alkohol (% v/v)/Alcohol	12,3 a	12,2 a	12,3 a
Šećer reducirajući (g/L)/Residual sugar	17,0 a	9,9 c	13,4 b
Ukupna kiselost ¹ (g/L)/Total acidity	8,0 a	7,9 b	7,7 c
Hlapljiva kiselost ² (g/L)/Volatile acidity	0,50 a	0,42 b	0,50 a
pH	3,02 b	3,09 a	3,04 b

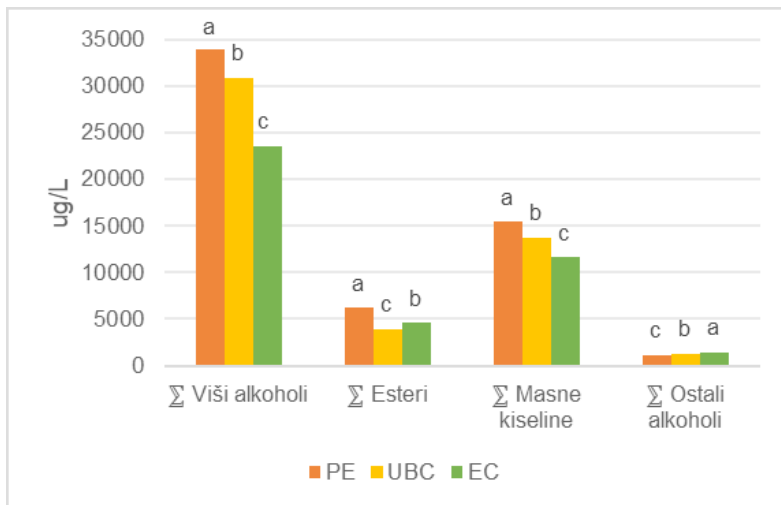
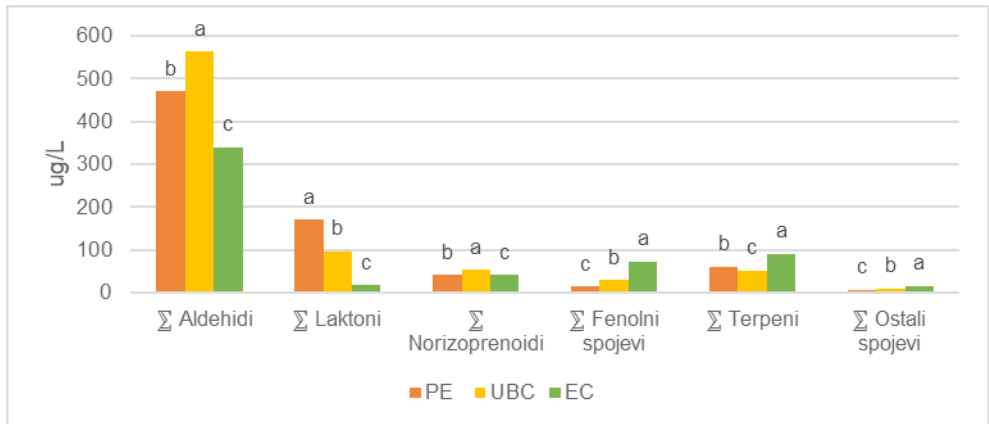
¹ kao vinska kiselina/ as tartaric acid; ² kao octena kiselina/ as acetic acid; Različita slova u istom redu (a, b, c) upućuju na značajnu različitost pri $p < 0,05$ / Different letters in the same row (a, b, c) indicate a significant difference at $p < 0.05$. PE= ProElif; UBC= Uvaferm BC; EC= Lalvin EC-1118[®].

Analizom aromatskih spojeva detektirana su i kvantificirana ukupno 93 različita spoja u pjenušavim vinima klasificirana u 10 kemijskih grupa (Tablica 4.). U grafovima 1a i 1b prikazane su ukupne srednje vrijednosti pojedinih grupa aromatskih spojeva iz kojih je vidljivo da su zabilježene značajne razlike između tretmana.

Viši alkoholi su grupa s najvišom ukupnom koncentracijom kao i u istraživanju Jagatić Korenika i sur. (2020) i to najviše u tretmanu PE dok su kod EC zabilježene signifikantno najniže koncentracije u odnosu na ostale tretmane. 1-Heksanol i *cis*-3-heksen-1-ol su jedini spojevi čija je aktivna mirisna vrijednost (OAV) bila > 1 te su tako ovisno o korištenom kvascu značajno doprinijeli aromi pjenušavog vina zelenim i herbalnim notama. *Cis*-3-heksen-1-ol doprinio je

herbalnim i aromama zelene trave u tretmanu UBC. 1-Heksanol nije značajno utjecao samo na aromu vina EC.

Aldehidi u vinu nastaju u nižim koncentracijama u kojima ne utječu značajno na aromu vina. Zabilježeno je značajno povećanje koncentracije furfurala u tretmanu UBC u odnosu na ostale, međutim detektirana koncentracija bila je niža od mirisnog praga percepcije te nije značajno utjecala na aromu pjenušavog vina.



Različita slova iznad stupaca (a,b,c) upućuju na značajnu različitost pri $p < 0,05$ / Different letters upon the columns (a, b, c) indicate a significant difference at $p < 0.05$. PE= ProElif®; UBC= Uvaferm BC®; EC= Lalvin EC-1118®

Grafikon 1a i 1b. Ukupne koncentracije grupa hlapljivih aromatičnih spojeva (µg/L) u pjenušavim vinima

Graph 1a and 1b. Concentration of total volatile aromatic compound groups (µg/L) in sparkling wines

Laktani su poželjna grupa kemijskih spojeva u vinima jer su jedni od nositelja cvjetno-voćnih mirisa. Najviša koncentracija zabilježena je kod tretmana PE, dok je značajno najniža koncentracija zabilježena kod tretmana EC. Uspoređujući rezultate koje su dobili Jagatić Korenika i sur. (2020) za hrvatska pjenušava vina proizvedena na području Plešivice, Zeline i Krašića, vidljivo je kako su u ovom istraživanju zabilježene više koncentracije *cis*-whiskey laktona (samo za EC) i γ -butirolaktona (osim za EC).

Norizoprenoidi su skupina spojeva koji također pozitivno doprinose aromi vina, a posebice β -damaskenon koji, iako se nalazi u niskim koncentracijama, utječe na percepciju drugih mirisa, pa tako može naglasiti voćnost povezanu s esterima, a ujedno i smanjiti zelene note povezane s metoksipirazinima (Mendes-Pinto, 2009; Ubeda i sur., 2018; Waterhouse i sur., 2016). U ovom istraživanju, u sva tri tretmana, zabilježene su vrlo slične koncentracije iznad mirisnog praga percepcije, a najviše u tretmanu Uvaferm BC. TDN je norizoprenoid koji se nalazi iznad praga detekcije u sva tri tretmana, a najviše u ProElif AEB. Kako navode Riu-Aumatell i sur. (2006) koncentracija TDN-a se povećava tijekom perioda starenja vina zbog kontakta s kvascem te doprinosi aromatskom profilu s karakterističnim petrolejskim notama koje povećavaju kompleksnost pjenušavih vina.

Tablica 5. Koncentracije pojedinačnih aromatskih spojeva ($\mu\text{g/L}$) u pjenušavim vinima
Table 5. Concentrations of individual aromatic compounds ($\mu\text{g/L}$) in sparkling wines

Spojevi/Compounds	Deskriptori/Descriptors	PE	UBC	EC
Benzaldehid	gorko, bademi	36,15 b	36,40 a	0,00 c
Furfural	bademi, kvasac	433,74 b	526,45 a	338,98 c
Σ Aldehidi		469,88 b	562,85 a	338,98 c
1-Butanol	kemijski	60,47 b	57,78 c	63,05 a
1-Dekanol	kruška, voštano, kokos, uljno	2337,18 a	795,95 c	2329,68 b
1-Heksanol	travnati, masni	3482,02 a	2844,45 b	1241,35 c
1-Heptanol	masni	60,89 a	57,76 b	48,93 c
1-Nonanol		10,85 a	9,85 b	7,96 c
1-Oktanol	kokos, orah, uljno	35,05 a	32,28 b	32,19 c
1-Pentanol	gorko, bademi	830,54 b	857,51 a	737,27 c
1-Propanol	zrelo voće, alkohol	2322,81 b	2490,90 a	1062,51 c
[S-(R*,R*)]-2,3-Butandiol	voćni	101,37 a	63,70 b	51,97 c
2,5,8-Trimetil-1,2,3,4-tetrahydro-1-naftol		8,63 b	5,50 c	14,24 a
2-Etilheksanol		27,03 a	19,96 c	24,85 b
2-Heptanol	voćni, biljni	0,00 b	13,35 a	0,00 b
3-Etoksi-1-propanol	prezrela kruška	2751,37 a	2654,54 b	1500,64 c
4-Metil-1-pentanol		173,86 b	227,85 a	79,56 c
<i>cis</i>-3-Heksen-1-ol	travnato, zeleno	394,80 b	458,47 a	235,87 c
Feniletil alkohol	cvjetni, ruže, med	2680,65 a	2402,37 b	2226,08 c
Izoamil alkohol	kemijski, lak za nokte	18102,56 a	17363,63 b	13321,65 c

Spojevi/Compounds	Deskriptori/Descriptors	PE	UBC	EC
Izobutanol	kemijski, lak za nokte	571,04 a	499,35 c	525,42 b
Metionol	luk, češnjak, sumporno	7,58 a	4,87 b	2,99 c
<i>trans</i> -2-Okten-1-ol	masno, prženo	44,09 a	29,66 c	43,01 b
Σ Viši alkoholi		34002,80 a	30889,73 b	23549,23 c
<i>cis</i> -whiskey laktan	orašasti, kokos	0,00 b	0,00 b	5,53 a
γ-butirolaktan	kokos, karamela	154,63 a	84,05 b	0,00 c
γ-nonalaktan	kokos, breskva	15,04 a	12,94 b	11,48 c
Σ Laktoni		169,67 a	96,99 b	17,01 c
2,3-Dehidro-4-oxo-β-jonol		8,92 b	10,96 a	8,49 c
TDN	petrolej, kerozin	16,67 a	12,63 b	10,84 c
TPB		10,43 a	8,25 c	9,96 b
Vitispiran A		0,00 b	7,43 a	0,00 b
Vitispiran B		0,00 c	7,76 a	6,22 b
β-damaskenon	slatki, voćni, cvjetni, med	5,61 a	5,57 b	5,42 c
Σ Norizoprenoidi		41,64 b	52,59 a	40,92 c
3,7-Dimetil-6-okten-1-ol acetat		10,55 b	9,45 c	14,46 a
2-Feniletil acetat	ruža, med, duhan	47,48 a	43,29 c	43,43 b
3-Metilbutil dekanooat		9,80 b	6,45 c	14,68 a
3-Metilbutil oktanoat		54,80 a	29,41 c	46,27 b
Dietil malat		1830,64 a	557,74 c	1034,21 b
Dietil sukcinat	prezrelo, dozrelo	1120,45 b	1544,96 a	1008,65 c
Etil dekanooat	cvjetni, grožđe, voćni	200,88 a	9,09 c	163,32 b
Etil heksanoat	voćni, zelena jabuka, banana	72,55 a	51,55 b	24,98 c
Etil heptanoat		0,00 b	0,00 b	13,20 a
Etil hidrogen sukcinat	čokolada	1610,84 a	642,36 c	937,79 b
Etil nonanoat		48,80 c	50,41 b	50,97 a
Etil oktanoat	slatki, cvjetni, voćni	612,15 a	314,83 c	503,49 b
Etil palmitat		0,00 b	0,00 b	37,79 a
Etil sorbat		193,70 a	87,55 c	127,80 b
Etil-2-hidroksipropanooat		0,00 c	62,35 b	113,60 a
Etil-3-hidroksibutanoat	grožđe, voćni, karamela	21,37 a	0,00 b	0,00 b
Etil-3-hidroksitridekanoat		8,51 b	7,37 c	9,15 a
Etil-4-hidroksibutanoat	karamela, cvjetni	0,00 b	0,00 b	48,05 a
Etil-9-decenoat	kamilica, cvjetni, celer	125,82 a	125,11 c	124,61 b
Etil-9-heksadecenoat	voštano	10,03 a	5,56 c	6,75 b
Feniletil acetat	ruža, med, duhan	22,92 b	29,08 a	0,00 c

Spojevi/Compounds	Deskriptori/Descriptors	PE	UBC	EC
Heksil acetat		0,00 b	72,07 a	0,00 b
Izoamil acetat	banana	87,87 c	100,64 a	94,41 b
Izoamil dekanolat		14,57 a	11,75 b	8,94 c
Metil dekanolat		6,97 c	7,03 b	7,75 a
Metil oktanoat		11,03 b	9,96 c	12,11 a
Oktil oktanoat		0,72 b	0,60 c	1,58 a
Butil etil sukcinat	rakija	67,98 b	63,26 c	77,02 a
trans-Etil cinamat		0,00 c	57,68 b	60,45 a
Σ Esteri		6190,44 a	3899,53 c	4585,45 b
4-Etilgvajakol	prepečeni kruh, dim	14,04 b	14,96 a	13,88 c
4-Etilfenol	staja, konj, dim	0,00 b	0,00 b	45,36 a
4-Vinilgvajakol	začini, klinčići, curry	0,00 c	13,73 b	13,99 a
Σ Fenolni spojevi		14,04 c	28,68 b	73,23 a
2-Etilheksanoična kiselina		0,00 c	167,99 a	74,66 b
Butanska kiselina	užeglo, sirast	91,31 b	634,54 a	0,00 c
Dekanska kiselina	užeglo, voštano	809,76 a	404,89 c	633,96 b
Geranska kiselina		0,00 b	7,52 a	0,00 b
Heksanska kiselina	mliječno, uljno	8796,44 a	7168,81 b	6007,05 c
Izobutanska kiselina		432,23 b	733,44 a	373,18 c
Izovalerijanska kiselina	slatko, užeglo	900,20 b	1296,45 a	612,98 c
Laurinska kiselina		24,73 a	24,68 b	23,57 c
Nonanska kiselina	masno	57,55 a	50,90 c	51,43 b
Oktanska kiselina	užeglo, uljno	4321,22 a	3278,04 c	3812,20 b
trans-2-Undecilenska kiselina		14,30 a	10,84 c	11,11 b
Undecilenska kiselina	uljno, užeglo	11,28 a	9,21 c	10,41 b
Σ Masne kiseline		15459,02 a	13787,30 b	11610,56 c
4-Hidroksi-β-jonon		5,25 a	4,88 b	0,00 c
cis-α-bisabolen	balzamično	0,00 b	0,00 b	6,72 a
Citronelol	cvjetni, ruže	35,76 a	25,78 b	8,20 c
D-limonen	limun, naranča	0,00 b	0,00 b	12,29 a
Linalil izobutirat	ruža, slatko	0,00 b	0,00 b	5,64 a
Linalol	citrusi, cvjetni, slatko	0,00 b	0,00 b	6,57 a
Mentol	limun, menta	13,21 a	12,40 b	6,47 c
β-Miricen		0,00 b	0,00 b	28,29 a
α-Terpinen	bobičasto, limun, drvo	0,00 c	8,31 b	10,49 a
α-Terpineol	cvjetni, slatki	6,69 a	0,00 c	5,82 b

Spojevi/Compounds	Deskriptori/Descriptors	PE	UBC	EC
Σ Terpeni		60,91 b	51,37 c	90,50 a
3-Metil-3-pentanol		370,80 a	348,92 b	207,52 c
3-Metil-1-pentanol		663,23 b	739,87 a	510,08 c
Benzil alkohol	dimljeno, prženo	149,31 a	147,52 b	109,59 c
Furfuril alkohol	slatki, orašasti	0,00 c	87,35 b	572,54 a
Hotrienol	cvjetni, voćni	0,00 c	5,30 a	5,23 b
Σ Ostali alkoholi		1183,34 c	1328,96 b	1404,95 a
(E,Z)-2,6-dimetil-2,4,6-oktatrien		0,00 c	3,32 b	3,51 a
1,2-dihidro-3,5,8-trimetilnaphthalen		7,53 a	6,59 b	6,45 c
Azulen, 1,4-dimetil-7-(1-metiletil)		0,00 b	0,00 b	5,90 a
Σ Ostali spojevi		7,53 c	9,91 b	15,86 a

Rezultati predstavljaju srednje vrijednosti ($n = 3$), a različita slova u redu (a,b,c) upućuju na značajnu različitost pri $p < 0,05$. Podebljane vrijednosti spojeva su iznad mirisnog praga percepcije, $OAV > 1$./ The results represent the mean values ($n = 3$), and the different letters in the row (a, b, c) indicate a significant difference at $p < 0.05$. Bold values and compounds are above the olfactory perception threshold, $OAV > 1$. PE=ProElif[®]; UBC= Uvaferm BC; EC= Lavlin EC-1118[®].

U odnosu na podatke koje su dobili Jagatić Korenika i sur. (2020), ukupna koncentracija estera u ovom istraživanju bila je značajno niža. Esteri s najvišim koncentracijama u pjenušavim vinima bili su dietil sukcinat, etil hidrogen sukcinat i dietil malat. Dobiveni rezultati usporedivi su s rezultatima istraživanja Benucci i sur. (2019) te Jagatić Korenika i sur. (2020). Izoamil acetat, etil-9-decenoat, etil heksanoat (te etil dekanoat i etil oktanoat samo u PE) su esteri koji su u oba pjenušava vina imali $OAV > 1$. S obzirom da je njihova koncentracija bila značajno iznad mirisnog praga percepcije pozitivno su doprinijeli voćnim (banana, grožđe, zelena jabuka) i cvjetnim aromama (kamilica).

Hlapljivi fenolni spojevi nositelji su začinskih ili neželjenih aroma koje podsjećaju na životinje, štalu, medicinske proizvode i sl., a koje u niskim koncentracijama doprinose kompleksnosti vina. Koncentracija fenolnih spojeva bila je najviša u tretmanu EC, dok je najniža bila u PE. 4-etilfenol je zabilježen jedino u varijanti EC, ali ispod praga detekcije. Signifikantne razlike zabilježene su u ukupnim koncentracijama masnih kiselina između tretmana što je usporedivo s rezultatima koje su dobili Jagatić Korenika i sur. (2020). Najviše koncentracije masnih kiselina imale su butanska, heksanska, izovalerijanska, oktanska i dekanska kiselina što je donekle usporedivo s istraživanjem Voce i sur. (2019). Sve navedene kiseline bile su iznad praga detekcije osim dekanske. Najniža ukupna koncentracija zabilježena je u tretmanu EC, a najviša u tretmanu PE. Prema Shinohara (1985) ove kiseline mogu pozitivno doprinijeti aromatskom profilu vina u koncentraciji od 4 do 10 mg/L, a iznad 20 mg/L negativno utječu na aromu vina, što u ovom istraživanju nije bio slučaj.

Terpeni su grupa spojeva koji doprinose cvjetnim i voćnim aromama u vinima (De Souza Nascimento i sur., 2018), a u ovom istraživanju najviša ukupna koncentracija zabilježena je u tretmanu EC. Citronelol je bio najzastupljeniji terpen u tretmanima PE i UBC, dok je u tretmanu EC najzastupljeniji bio β -miricen, međutim niti jedan detektirani terpen nije bio iznad praga detekcije, slično kao i u istraživanju Voce i sur. (2019).

Zaključak

Na temelju provedenog istraživanja s ciljem utvrđivanja razlika u aromatskom profilu između pjenušavih vina proizvedenih u tri tretmana s različitim kvascima sekundarne fermentacije, može se zaključiti kako su razlike vidljive na razini grupa kemijskih spojeva te pojedinih aromatskih spojeva. Tretman s ProElif® rezultirao je najvišim ostatkom neprevrelog šećera, te ukupnim koncentracijama estera, laktona, masnih kiselina i viših alkohola koji doprinose naglašenim cvjetno-voćnim i petrolejskim aromama. Tretman s Uvaferm BC® kvascem dao je najvišu ukupnu koncentraciju aldehida, ali ispod mirisnog praga detekcije što nije direktno utjecalo na aromatski profil vina. U istom tretmanu zabilježena je i najviša koncentracija norizoprenoida. U tretmanu s Lalvin EC1118® zabilježena je značajno viša koncentracija ukupnih terpena koja je doprinijela intenzivno cvjetnom aromatskom profilu pjenušavog vina.

Literatura

- Benucci I., Cerreti M., Maresca D., Mauriello G., Esti M. (2019) Yeast cells in double layer calcium alginate–chitosan microcapsules for sparkling wine production. *Food Chemistry*. 300, 125174. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125174
- Buxaderas S., López-Tamames E. (2012) Sparkling Wines: Features and Trends from Tradition. *Advances in Food and Nutrition Research*. Elsevier. 66, 1–45. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-394597-6.00001-X>
- Caliari V., Burin V.M., Rosier J.P., BordignonLuiz M.T. (2014). Aromatic profile of Brazilian sparkling wines produced with classical and innovative grape varieties. *Food Research International*. 62, 965–973. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.05.013>
- Clarke R.J., Bakker J. (2004) Wine Flavour Chemistry. Blackwell Publishing. <https://download.e-bookshelf.de/download/0000/5974/44/L-G-0000597444-0002310001.pdf> (10.4.2022.)
- De Souza Nascimento A.M., De Souza J.F., Dos Santos Lima M., Pereira G.E. (2018) Volatile Profiles of Sparkling Wines Produced by the Traditional Method from a Semi-Arid Region. *Beverages*. 4(4), 103. <https://doi.org/10.3390/beverages4040103>
- Di Gianvito P., Arfelli G., Suzzi G., Tofalo R. (2019) New Trends in Sparkling Wine Production: Yeast Rational Selection. *Alcoholic Beverages*. Elsevier. 347–386. doi: 10.1016/B978-0-12-815269-0.00011-8
- Di Gianvito P., Perpetuini G., Tittarelli F., Schirone M., Arfelli G., Piva A., Patrignani F., Lanciotti R., Olivastri L., Suzzi G., Tofalo R. (2018) Impact of *Saccharomyces cerevisiae* strains on traditional sparkling wines production. *Food Research International*. 109, 552–560.
- DiWineTaste (2003) Tasting Sparkling Wines. 11. <http://www.diwinetaste.com/dwt/en2003093.php> (25.4.2022.)
- Dominé A. (2003) Wine. First edition. *Könemann*.
- Francis, I. L., Newton, J. L. (2005) Determining wine aroma from compositional data. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11(2), 114–126.
- Gallardo-Chacón J.J., Vichi S., Urpí P., López-Tamames E., Buxaderas S. (2010) Antioxidant activity of lees cell surface during sparkling wine sur lie ageing. *International Journal of Food Microbiology*. 143: 48–53.
- Güth, H. (1997) Quantitation and sensory studies of character impact odorants on different white wine varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 3027–3032.
- Herjavec S. (2019) Vinarstvo. *Nakladni zavod Globus*, Zagreb.
- Herrero P., Sáenz-Navajas P., Culleré L., Ferreira V., Chatin A., Chaperon V., Litoux-Desrués F., Escudero A. (2016). Chemosensory characterization of Chardonnay and Pinot Noir base wines of Champagne. Two very different varieties for a common product. *Food Chemistry*. 207, 239–250. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.068>
- Jackson R.S. (2008) Wine Science: Principles and Applications. Third edition. *Food Science and Technology*.
- Jagatić Korenika A.-M., Preiner D., Tomaz I., Jeromel A. (2020) Volatile Profile Characterization of Croatian Commercial Sparkling Wines. *Molecules*, 25(18), 4349. <https://doi.org/10.3390/molecules25184349>
- Jeandet P., Vasserot Y., Linger-Belair G., Marchal R. (2010) Sparkling Wine Production. *Handbook of Enology: Principles, Practices and Recent Innovations*. *The Asiatech Publisher*.
- Kemp B., Alexandre H., Robillard B., Marchal R. (2015) Effect of Production Phase on Bottle-Fermented Sparkling Wine Quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63, 19–38. <https://doi.org/10.1021/jf504268u>
- Lallemant Brewing (2022) Home wine yeast. <https://www.lallemantbrewing.com/en/continental-europe/> (5.4.2022.)
- Lallemant Wine (2022) Specific inactivated yeasts. <https://www.lallemantwine.com/en/central-europe/> (5.4.2022.)
- Marinov L., Jeromel A., Tomaz I., Preiner D., Jagatić Korenika A.-M. (2021) Učinak fermentacije kvascima *Lachanea thermotolerans* i *Torulasporea delbrueckii* na kemijski sastav vina 'Malvazija istarska'. 44, 4. *Glasnik zaštite bilja*. <https://doi.org/10.31727/gzb.44.4.8>
- Mendes-Pinto M.M. (2009) Carotenoid breakdown products the—norisoprenoids—in wine aroma. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 483, 236–245. doi: 10.1016/j.abb.2009.01.008
- Miličević B., Babić J., Ačkar Đ., Miličević R., Jozinović A., Jukić H., Babić V., Šubarić D. (2017) Sparkling wine production by immobilised yeast fermentation. *Czech Journal of Food Sciences*. 35(2), 171–179. <https://doi.org/10.17221/194/2016-CJFS>
- O.I.V. (2020a) Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis. Vol. 1. <https://www.oiv.int/public/medias/7372/oiv-compendium-volume-1-2020.pdf> (20.4.2022.)

- O.I.V. (2020) Focus the Global Sparkling Wine Market. <https://oiv.int/js/lib/pdfjs/web/viewer.html?file=/public/medias/7291/oiv-sparkling-focus-2020.pdf> (20.4.2022.)
- Pavin (2016) Enologija. <http://www.pavin.hr/> (6.4.2022.)
- Plavša T., Bubola M., Jagatić Korenika A.-M., Jeromel A. (2021) Utjecaj inkapsuliranog kvasca na kakvoću pjenušavog ružičastog vina 'Teran'. Glasnik zaštite bilja. 44(6), 92-99. <http://dx.doi.org/10.31727/gzb.44.6.10>
- Rapp A. (1988). Wine Aroma Substances from Gas Chromatographic Analysis. Wine Analysis. Modern Methods of Plant Analysis. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 6. https://doi.org/10.1007/978-3-642-83340-3_3
- Rapp A., Mandery H. (1986). Wine aroma. *Experientia*. 42, 873-884. <https://doi.org/10.1007/BF01941764>
- Ribéreau-Gayon P., Dubourdieu D., Donèche B., Lonvaud A. (2006) Handbook of Enology Vol. 1. Second Edition. The Microbiology of Wine and Vinifications. Wiley.
- Robinson J., Harding J. (2015) The Oxford Companion to Wine. Fourth edition. Oxford University Press.
- Riu-Aumatell, M.; Bosch-Fusté, J.; López-Tamames, E.; Buxaderas, S. (2006). Development of volatile compounds of cava (Spanish sparkling wine) during long ageing time in contact with lees. *Food Chem.* 95, 237–242.
- Shinohara T. (1985) Gas Chromatographic Analysis of Volatile Fatty Acids in Wines. *Agricultural and Biological Chemistry*. 49(7), 2211–2212.
- Stefenon C.A., Bonesi C.M., Marzarotto V., Barnabé D., Spinelli F.R., Webber V., Vanderlinde R. (2014) Phenolic composition and antioxidant activity in sparkling wines: Modulation by the ageing on lees. *Food Chemistry*. 145, 292–299.
- Ubeda C., Kania-Zelada I., Del Barrio-Galán R., Medel-Marabolí M., Gil M., Peña-Neira Á. (2018) Study of the changes in volatile compounds, aroma and sensory attributes during the production process of sparkling wine by traditional method. *Food Research International*. 119, 554-563. doi: 10.1016/j.foodres.2018.10.032
- Voce S., Škrab D., Vrhovsek U., Battistutta F., Comuzzo P., Sivilotti P. (2019) Compositional characterization of commercial sparkling wines from cv. Ribolla Gialla produced in Friuli Venezia Giulia. *European Food Research and Technology*. 245(10), 2279-2292. doi: 10.1007/s00217-019-03334-9
- Waterhouse A.L., Sacks G.L., Jeffery D.W. (2016) Understanding Wine Chemistry. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/9781118730720>
- Welke J.E., Zanus M., Lazzarotto M., Pulgati F.H., Zini C.A. (2014) Main differences between volatiles of sparkling and base wines accessed through comprehensive two dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection and chemometric tools. *Food Chemistry*. 164, 427-437. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.025>
- Zhu F., Du B., Li J. (2016) Aroma Compounds in Wine. Grape and Wine Biotechnology. *IntechOpen*. 273-284. <http://dx.doi.org/10.5772/65102>

Prispjelo/Received: 26.8.2022.

Prihvaćeno/Accepted: 3.10.2022.

Original scientific paper

Influence of Different Secondary Fermentation Yeasts on Aromatic Profiles of Sparkling wines

Abstract

The production of sparkling wines occupies an increasing share of the total world wine production. During the last decade, there has been an increase in the production and consumption of sparkling wines in the Republic of Croatia. Secondary fermentation and maturation on yeast lees are key stages of the traditional production method, which affects the aromatic profile of sparkling wines. In the research on white sparkling wine produced from the varieties 'Manzoni' and 'Pinot noir', three different commercially available *Saccharomyces* sp. yeast in the initiation of secondary fermentation were used to analyze potential differences in the basic composition and aromatic profile of sparkling wines. The results of the gas chromatography (GC-MS) analysis clearly distinguish the aromatic compounds created by the use of different yeasts, which significantly influenced the differences in the aromatic profiles of the produced sparkling wines.

Keywords: aromatic compounds, secondary fermentation in bottle, sparkling wines, traditional method, yeasts