Utjecaj oplodnje na kemijski sastav grožđa sorte 'Grk bijeli'

Petković, Fran Zvonimir

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:693146

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Utjecaj oplodnje na kemijski sastav grožđa sorte 'Grk bijeli'

DIPLOMSKI RAD

Fran Zvonimir Petković

Zagreb, lipanj, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:
Hortikultura - Vinogradarstvo i vinarstvo

Utjecaj oplodnje na kemijski sastav grožđa sorte 'Grk bijeli'

DIPLOMSKI RAD

Fran Zvonimir Petković

Mentor: doc. dr. sc. Željko Andabaka

Zagreb, lipanj, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Fran Zvonimir Petković**, JMBAG 0178094516, rođen/a 17.10.1993. u Dubrovniku, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

Utjecaj oplodnje na kemijski sastav grožđa sorte 'Grk bijeli'

Svojim potpisom jamčim:

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

U Zagrebu, dana _____

_____

Potpis studenta / studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta/ice **Fran Zvonimir Petković**, JMBAG 0178094516, naslova

Utjecaj oplodnje na kemijski sastav grožđa sorte 'Grk bijeli'

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo: potpisi:

1. Doc.dr.sc Željko Andabaka mentor _____
2. Doc.dr.sc. Darko Preiner član _____
3. Doc.dr.sc. Marko Karoglan član _____

Sadržaj

1. Uvod 1
   1.1 Cilj rada 2
2. Pregled literature 3
   2.1. Polifenoli 3
      2.1.1. Neflavonoidi 4
      2.1.2. Flavonoidi 6
   2.2. Aroma grožđa 9
      2.2.1 Terpeni 10
      2.2.2 Norizoprenoidi 11
      2.2.3 Metoksipirazini 12
      2.2.4 Mirisni hlapivi tioli 12
      2.2.5 C6 alkoholi 13
   2.3 Utjecaj oplodnje na osnovne kemijske parametre u moštu Grka 13
   2.4 Utjecaj oplodnje na organske kiseline 15
3 Materijali i metode 17
   3.2 Sorta Grk bijeli 17
   3.3 Klimatske prilike 19
   3.4 Kemijske analize 21
      3.4.3 Osnovne kemijske analize mošta 21
      3.4.4 Analiza sadržaja aromatskih spojeva u bobicama grožđa 22
      3.4.5 Analiza sadržaja polifenolnih spojeva iz kožice grožđa 23
4 Rezultati i rasprava 24
   4.2 Aromatski sastav mošta 24
   4.3 Polifenolni sastav mošta 26
   4.4 Organske kiseline 32
   4.5 Osnovni pokazatelji kvalitete 33
5 Zaključak 34
6 Popis literature 35

Sažetak

Diplomskog rada studenta **Fran Zvonimir Petković**, naslova

Utjecaj oplodnje na kemijski sastav grožđa sorte 'Grk bijeli'

Grk bijeli je sorta vinove loze usko vezana za mjesto Lumbarda na otoku Korčuli. Ime je dobila po gorkastom okusu, odnosno po riječi 'gark' koja na staroslavenskom ima značenje 'gorak'. Grk je jedna od rijetkih sorata koja posjeduje funkcionalno ženski tip cvijeta. Zbog nepravilnosti u građi cvijeta te često sterilnog polena dolazi do lošije oplodnje. U grozdu se formiraju velike, sjemene bobice te male, besjemene bobice - 'pasoline'. Uslijed lošije oplodnje dolazi do većeg udjela pasolina u grozdu te na posljetku nižeg priroda. Pretpostavlja se kako ove dvije vrste bobica imaju različita kemijska svojstva te se samim time izravno povezuje razina oplodnje i kvaliteta vina Grk. U ovom istraživanju utvrđen je kemijski sastav sjemenih bobica i pasolina. Od polifenolnih spojeva pasoline su sadržale značajno više koncentracije gotovo svih flavonoidnih spojeva, kumarne kiseline, ferulične kiseline te resveratrola. S druge strane sjemene bobice bile su bogatije kaftarnom, fertatričnom te kavnom kiselinom. Pasoline su također bile bogatije aromatskim spojevima *E*-2-heksanal te linalol, no značajnih razlika u ukupnoj koncentraciji aromatskih spojeva nije bilo. U osnovnim pokazateljima kakvoće značajnih razlika, također, nije bilo.

Ključne riječi: Grk bijeli, oplodnja, polifenoli

Summary

Of the master's thesis – student **Fran Zvonimir Petković ,** entitled

The influence of fertilization on chemical composition of 'Grk bijeli' grapes

Grk bijeli is grapevine variety important for viticulture of Lumbarda area on the island of Korčula. Variety name is associated with slavonic synonym 'gark' or 'bitter', after the slightly bitter aftertaste of the Grk wine. Grk is one of the rare grape varieties with functionally female flower. Becouse of the structural irregularities and sterile pollen, fertilization is often poor. Two types of berries are developed in the cluster, large, seeded berries and small, seedless berries – 'pasoline'. Due to the poor fertilization, a great share of cluster are seedless berries, which consequently leads to lower yield. It is believed that these two types of berries have different chemical properties which directly connects fertilization rate with the Grk wine quality. This research determined the chemical content of seeded and seedless berries. Seedless berries had higher concentrations of almost all flavonoid compounds, coumaric acid, ferulic acid and resveratrol. On the other hand, seeded berries had higher content of caftaric, fertaric and caffeic acid. Seedless berries 'pasoline' were also richer in aromatic compounds: *E*-2-hexanal and linalol, although significant difference was not determined in total aromatic compounds. Also, there were not significant differences in basic quality indicators.

Keywords: Grk, fertiliziation, polyphenols

1. Uvod

Otok Korčula ima bogatu tradiciju proizvodnje vina. Uzgoj vinove loze datira još iz vremena grčke kolonizacije kada je Lumbarda bila središte vinogradarsko-vinarske proizvodnje otoka Korčule. Prije pojave filoksere početkom 19. stoljeća, vinogradi na Korčuli zauzimali su više od 4000 ha površine. Danas Korčula ima tek nešto više od 1000 ha vinograda, no površine pod vinovom lozom se povećavaju (Mirošević 2012.). 65% površina zasađeno je bijelim sortama od kojih su najzastupljenije Pošip bijeli, Grk bijeli i Maraština. Od crnih sorata najzastupljeniji je Plavac mali crni (Mirošević 2012.).

Grk bijeli je sorta vinove loze usko vezana za mjesto Lumbarda na otoku Korčuli. Iako trenutno ima samo lokalni značaj, sorta posjeduje visoki kvalitativni potencijal te samim time i preduvjete za povećanje proizvodnje. U ovom trenutku vino od sorte Grk bijeli proizvodi tek nekolicina obiteljskih vinarija. Najveći dio Grka uzgaja se na Lumbarajskom polju, koje je specifično po pjeskovitom dubokom tlu. Tradicionalno je vjerovanje da se samo na takvom tlu može proizvesti Grk najviše kvalitete. No, u zadnjih desetak godina novi nasadi Grka podignuti su i na južnim padinama otoka Korčule na melioriranom kršu gdje sorta također pokazuje izrazitu kvalitetu.

Iako prvi pisani zapis datira početkom 19. stoljeća (Heintl 1821.), pretpostavlja se da se Grk na području Lumbarde uzgajao i u antici. To potvrđuje i jedna od teza o podrijetlu imena Grk, koja govori kako su tu sortu u antičko doba Grci introducirali na područje Lumbarde. Međutim, do danas ova teorija odnosno srodnost sa grčkim sortama nije potvrđena (Šimon 2006.). Vjeruje se da se Grk uzgajao na području Lumbarde i prije dolaska Grka, no oni su unaprijedili i poboljšali proizvodnju. No, vjerojatnija je druga teza koja govori da je Grk ime dobio po gorkastom okusu, odnosno po riječi 'gark' koja na staroslavenskom ima značenje 'gorak'. Porijeklo sorte Grk nije u potpunosti potvrđeno, no zbog srodnosti sa sortom Crljenak kaštelanski (roditelj-potomak), kao i zbog srodnosti sa ostalim autohtonim dalmatinskim sortama, vjerojatnije je da potječe s ovih prostora (Pejić i sur. 2000; Maletić i sur. 2004.).

Grk je jedna od rijetkih sorata koja posjeduje funkcionalno ženski tip cvijeta. Takvi cvijetovi iako su morfološki dvospolni te sadrže prašnike, imaju nepravilnu građu. Prašnici su često povijeni prema cvijetnoj stapci te se nalaze ispod razine njuške tučka, a oplodnja je otežana. Osim nepravilne građe, polen je često sterilan te ne može doći do samooplodnje. Za razliku od prašnika, tučak je pravilne građe i sadrži funkcionalne sjemene zametke (Stupić 2016.).

Uslijed lošije oplodnje grozd sorata s funkcionalno ženskim tipom cvijeta ostaje rehuljav odnosno sa vrlo malim brojem bobica u grozdu, ili pak s velikim udjelom malih nerazvijenih, besjemenih bobica koje nastaju partenokarpijom ili stenospermokarpijom. Kako bi se osigurala kvalitetna oplodnja u proizvodnim nasadima potrebno je saditi sorte oprašivače, kod kojih se razvijaju fertilna peludna zrna. Sadnjom određenog broja jedinki sorata oprašivača unutar sklopa može se osigurati prihvatljiva oplodnja koja rezultira zametanjem dovoljnog broja oplođenih i normalno razvijenih bobica sa sjemenkom (Stupić 2016.). Upravo je Grk jedna od sorata sa visokim udijelom pojave malih besjemenih bobica- 'pasolina'. Iz tog se razloga u vinogradima na Korčuli najčešće se sadi Plavac mali kao oprašivač Grka, no ni to ne osigurava visok postotak oplodnje zbog razlike u vremenu cvatnje ovih dviju sorata. Povoljni vremenski uvjeti tijekom cvatnje, lagani povjetarac te umjerena vlažnost i temperatura, u najvećoj mjeri utječu na razinu oplodnje te samim time i omjer sjemenih i besjemenih bobica u grozdu. Omjer oplođenih i neoplođenih bobica utječe na karakteristike i kvalitetu grožđa a samim time i vina. Brojna istraživanja potvrđuju da zbog drugačijeg odnosa mesa i kožice kod besjemenih bobica postoje više koncentracije pojedinih spojeva, posebice šećera i organskih kiselina (Preiner i sur. 2012.), ali i polifenolnih spojeva (Ramchamadni 2010.).

1.1 Cilj rada

Cilj rada je utvrditi sadržaj najznačajnijih aromatskih i polifenolnih spojeva u kožici i bobici kod normalno razvijenih sjemenih, te malih besjemenih bobica (pasolina). Isto tako utvrdit će se razlike u osnovnim kemijskim pokazateljima kvalitete mošta između oplođenih i neoplođenih (pasolina) bobica.

2. Pregled literature

2.1.Polifenoli

Fenolni spojevi ili polifenoli u prirodi su prisutni u gotovo svim biljkama i namirnicama biljnog podrijetla. To su sekundarni biljni metaboliti građeni od aromatskih ugljikovodika na koje je vezana jedna ili više hidroksilnih skupina. U širem smislu, fenoli se nazivaju polifenolima, a uključuju spojeve različite kemijske strukture. Polifenoli su podijeljeni su neflavonoide, u koje spadaju fenolne kiseline i stilbeni, te flavonoide. Među fenolnim kiselinama razlikuju se hidroksibenzojeve i hidroksicimetne kiseline te njihovi derivati. Bezbojne su u alkoholnom mediju, no mogu posmeđiti prilikom oksidacije. Organoleptički nisu značajne, no mogu biti prekursori nekih hlapivih fenola, koji nastaju aktivnošću mikroorganizama. U bijelim vinima najčešće su utvrđene u koncentracijama 10-20 mg/L (Ribereau-Gayon i sur. 2006.). Stilbeni su polifenoli koji nemaju osnovnu strukturu flavonoida, a sadrže 1,2-difenileten kao funkcionalnu skupinu. Najveće istražene skupine flavonoida su: flavonoli, flavoni, flavan-3-oli, proantocijanidini te antocijanidini.

Uloga polifenola u biljkama je prvenstveno zaštita od nepovoljnih biotičkih i abiotičkih uvjeta, infekcija mikroorganizama te UV zračenja. U fenofazi dozrijevanja grožđa, u bobici se najprije počinju sintetizirati jednostavni monomeri, a kasnije polimeri. Smješteni su u kožici i sjemenci te u manjim koncentracijama u mesu i soku. U grožđu i vinu značajni flavonoidi su flavan-3-oli, flavonoli, antocijani te proantocijanidini. Od fenolnih kiselina najznačajnije su hidroksicimetne kiseline te njeni derivati, dok je najznačajniji stilben - resveratrol kojem se pripisuju mnogi pozitivni utjecaji na ljudsko zdravlje. Sastav i količina u vinu ovisi o sorti, klimatskim uvjetima, postupcima uzgoja te metodama vinifikacije (Ribereau-Gayon i sur. 2006.). Također, zaslužni su za većinu razlika između bijelih i crnih vina. Polifenolni spojevi su vrlo značajni čimbenici kakvoće vina budući na utječu na njegove senzorne karakteristike. Kod crnih vina polifenolni spojevi su odgovorni za boju vina i za specifičan okus (gorčina i astringentnost) (Jackson 2008.). U bijelom vinu polifenolni spojevi su odgovorni za boju vina a doprinose i kompleksnijem okusu vina. No, mogu imati i negativnu ulogu koja se očituje u jačoj sklonosti oksidativnom posmeđivanju (Lea 1979.). Također, polifenoli imaju veliku važnost u prehrani, što potvrđuju i najnovija istraživanja koja dokazuju njihova pozitivna djelovanja na ljudsko zdravlje.

2.1.1. Neflavonoidi

Neflavonoidi su sastavni dio lignina i tkiva biljaka, te su vezani na antocijane i šećere. U grožđu se nalaze u kožici bobice u koncentracijama do 30 mg/kg. U vinu se nalaze u slobodnom ili vezanom obliku. Pridonose aromi vina te imaju antibakterijsko djelovanje (Rentzsch 2009.).

Hidroksicimetne kiseline

Hidroksicimetne kiseline su glavne polifenolne komponente u bijelom vinu te imaju značajan utjecaj na njegovu boju (Kennedy J.A. 2005.). Najpoznatije hidroksicimetne kiseline u vinu su kafeinska, kutarinska, kaftarinska, *p*-kumarinska, ferulinska i sinapinska kiselina. Najčešće su vezane sa vinskom kiselinom u obliku estera, no u manjim količinama mogu se pojaviti i u slobodnom obliku. Mogu biti prisutne u *cis* i *trans* obliku, no zbog veće stabilnosti prevladava *trans* konfiguracija. U vinu je najviše zastupljena kafeinska kiselina koja čini i do 50% sveukupnih hidroksicimetnih kiselina (Rentzsch 2009.). Koncentracija hidroksicimetnih kiselina ovisi o mnogim faktorima poput sorte te klimatskih i pedoloških uvjeta u vinogradu. U bobici se počinju nakupljati tijekom i nakon cvatnje, a najviše koncentracije postižu netom prije šare (Andabaka 2015.). Nakon toga, njihova koncentracija opada i na toj se razini zadrži tijekom dozrijevanja bobice, sve do berbe (Romeyer 1983.). U moštu i mladom vinu koncentracija slobodne hidroksicimetne kiseline je vrlo niska, no tijekom starenja vina, koncentracije se povećavaju uslijed hidrolize tartaratnih estera (Rentzsch 2009.). U moštu nekih španjolskih bijelih sorata količina hidroksicimetnih kiselina bila je 46,76 mg/L, što je udio od 73% ukupnih polifenola. (Betes-Saura 1996.).

Od pojedinih spojeva iz grupe hidroksicimetnih kiselina najzastupljenija je kaftarinska kiselina sa gotovo 50 % od ukupnog broja utvrđenih spojeva iz ove grupe (Kumušta 2012.). Raspon koncentracija kaftarinske kiseline kod sorte Rizling rajnski u vinima iz Češke iznosio je od 5,11 mg/L do 21,46 mg/L (Kumušta 2012.). Koncentracije kaftarinske kiseline iznad 4 mg/L mogu doprinjeti gorkastom okusu bijelih kao i crnih vina (Fischer 2000., Singleton V.L. 1976.)

Visoke koncentracije (30 mg/kg) kaftarinske kiseline utvrđene su u sorti Rizling rajnski, prosječne koncentracije (10-20 mg/kg) u sortama Chardonnay i Traminac te niske koncentracije (0-10 mg/kg) u sorti Sauvignon blanc (Rodrigez 2006.).

Stupić i Ivetac (2016.) istraživali su polifenolni sastav kožice i mesa sorte Grk u oplođenim i neoplođenih bobicama. Od hidroksicimetnih kiselina određene su kaftarinska, kafeinska, kutarinska, kumarinska, sinapinska kiselina. Od navedenih kiselina samo je kaftarinska bila prisutna u obje godine istraživanja. Veće koncentracije hidroksicimetne kiseline utvrđene su u mesu bobica (5,01 mg/kg) u odnosu na kožicu (2,35 mg/kg). Također, veće koncentracije promatranih kiselina utvrđene su kod besjemenih bobica (2,35 mg/kg) u odnosu na sjemene bobice (1,09 mg/kg) (Ivetac, 2016.). Kožica besjemenih bobica (4,76 mg/kg) također je sadržala signifikantno veće koncentracije kutarinske kiseline u odnosu na sjemene bobice (1,49 mg/kg). U mesu bobica kutarinska kiselina nije utvrđena no veća koncentracija kaftarinske i kafeinske kiseline bila je utvrđena kod pasolina. (Stupić 2016.).

Hidroksibenzojeve kiseline

Hidroksibenzojeve kiseline derivati su benzenske kiseline, koja ima C6-C1 građu. U vinu se najčešće javljaju galna, gentizinska, *p*-hidroksibenzojeva, protokatehinska, salicilna, siriginska te vanilinska kiselina (Rentzsch 2009.). Navedene kiseline najčešće se javljaju u slobodnom obliku. Galna je jedna od hidroksibenzojevih kiselina sa najvećom koncentracijom u vinu. Zastupljena je u grožđu ali se također stvara i u vinu, hidrolizom tanina. Količina hidroksibenzojevih kiselina u najvećoj mjeri ovisi o sorti te uvjetima uzgoja (Rentzsch 2009.). U istraživanju Kumušte i sur. (2012.) kod sorte Rajnski rizling, na području Češke utvrđena je najveća koncentracija protokatehuinske kiseline (srednja vrijednost 2,54 mg/L) a nakon nje i galne kiseline (2,39 mg/L)

Stupić (2016.) je na sorti Grk utvrdio pojedinačne spojeve fenolnih kiselina u kožici i mesu pasolina i sjemenih bobica. Od hidroksibenzojevih kiselina utvrđene su galna i siringinska kiselina. Kod kožice besjemenih bobica utvrđeno je 3,39 mg/kg siringinske kiseline, dok je koncentracija u sjemenim bobicama bila signifikantno niža 1,52 mg/kg. Koncentracija galne kiseline u mesu bobica bila je veća (21,99 i 22,23 mg/kg) u odnosu na sve ostale spojeve iz ove grupe spojeva (Stupić 2016.).

Većina hidroksicimetnih i hidroksibenzojevih kiselina smatraju se astringentnima i gorkima (Singelton i Noble 1976.). Boselli i sur. (2006.) su utvrdili da su kod sorata Verdiccio i Passerina koncentracije galne i kafeinske kiseline korelirane sa opaženom gorčinom u vinu.

Stilbeni

Stilbeni su građeni od dva benzenska prstena povezana etanom ili etilenom. Sintetiziraju se kao obrambeni mehanizam vinove loze na stres, poput mikrobioloških infekcija i UV radijacije, te se tijekom vinifikacije prenose u vino. Zbog njihove antioksidativne, antikancerogene i antimutagene sposobnosti, stilbeni imaju važnu ulogu u prehrani. Grožđe i vino su jedne od stilbenima najbogatijih prehrambenih namirinca (Rentzsch 2009.). Stilbeni nastaju iz cimetne kiseline, i nalaze se u monomernim te oligomernim i polimernim oblicima. Najviše proučavan stilben je *trans*-resveratrol, fitoaleksin koji loza sintetizira kao odgovor na gljivična oboljenja, odnosno *Botrytis cinereu*. Sinteza je uglavnom ograničena na stanice kožice, dok ostali djelovi bobice sadrže vrlo male do nikakve koncentracije (Rentzsch 2009.). Razina stilbena u vinu ovisi o klimi, sorti, gljivičnim infekcijama (Perrone 2007.), UV zračenju, ionima teških metala i enološkim tehnikama. Koncentracije u vinima najčešće se kreću od 1 do 3 mg/L (Ribereau-Gayon i sur. 2006.). Zbog duže maceracije crna vina obično sadrže više koncentracije stilbena od bijelih vina (Perrone 2007.).

Od stilbena, u sorti Grk utvrđen je jedino resveratrol. Koncentracije u kožici (2,06 mg/kg) bile su signifikantno veće u odnosu na meso bobice (0,45 mg/kg) (Stupić 2016.).

2.1.2. Flavonoidi

Flavonoidi predstavljaju najrašireniju grupu prirodnih složenih fenola. Karakteristični su za crna vina u kojima čine 85% ili više ukupnih polifenola. Nalaze se u sjemenkama, kožici i peteljkovini grožđa, a u soku ih ima vrlo malo. U grožđu su identificirane sljedeće skupine flavonoida : antocijani, flavan-3-oli, proantocijanidini, flavonoli i dihidroflavonoli. Broj poznatih flavonoida u prirodi je vrlo velik (oko 4000 od ukupno poznatih 10000 polifenola), a u njih se ubrajaju i ostale skupine flavonoida koje nisu identificirane u grožđu flavoni, flavanoni, halkoni i dihidrohalkoni.

Flavanoli

Flavan-3-oli su prisutni u monomernom, oligomernom ili polimernom obliku (Rentzsch 2009.). Najzastupljeniji monomerni flavan-3-oli su katehin, njegov izomer epikatehin, epikatehin-3-*O*-galat kao galatni ester epikatehina te galokatehin. Nakupljaju se do fenofaze

šara bobica, te se njihova razina mijenja tijekom dozrijevanja grožđa. Većina monomera flavanola nalazi se u sjemenci bobica a tek djelomično u kožici. Flavanoli kožice u najvećoj se mjeri nakupljaju nekoliko tjedana nakon cvatnje (Kennedy 2001.). Prilikom duže ekstrakcije, viših temperatura fermentacije i alkohola dolazi do viših koncentracija ovih spojeva u vinu. Tako bijela vina dobivena maceracijom sadrže i do 50 % više flavan-3-ola od samotoka (Ribereau-Gayon i sur. 2006.). Također ovi spojevi mogu biti odgovorni za gorčinu te utjecati na astrigentnost vina. Molekule manje molekulske mase iz ove skupine spojeva posjeduju gorčinu dok one veće molekulske mase posjeduju astrigenciju. Shodno tome su flavan-3-oli podrijetlom iz sjemenke odgovorni su za gorčinu dok su oni iz kožice odgovorni za astrigenciju (Kennedy 2005.).

Katehin (10-20 mg/kg) te epikatehin (0-10 mg/kg) su najzastupljeniji flavanoli u grožđu bijelih sorata Chardonnay, Sauvignon blanc, Traminac te Rizling rajnski (Rodrigez Montealegre 2006.).

U istraživanju nekih bijelih sorata uzgajanih na području Dalmacije utvrđen je sastav flavonoida. Na sorti Maraština, koja se uzgaja u sličnim klimatskim uvjetima kao i Grk utvrđeni su katehin, epikatehin, epikatehingalat, procijanidin B1, procijanidin B2 te kvercitin 4-glukozid. Najzatupljeniji flavanolni spojevi bili su katehin (3,39 mg/kg) te epikatehin (1,42 mg/kg) (Katalinić i sur. 2010.).

Ivetac (2016.) utvrdila je veće koncentracije flavan-3-ola u kožici (21,44 mg/kg) u odnosu na meso (1,25 mg/kg), no signifikantne razlike između pasolina i sjemenih bobica nije bilo.

U istraživanju Stupića (2016.) u kožici bobica i pasolina utvrđeno je prisutstvo sljedećih spojeva: katehin, epikatehin-galat i galokatehin. U obje godine istraživanja utvrđen je jedino epikatehin-galat. Signifikantnih razlika nije bilo. S druge strane, u mesu bobica uz navedene spojeve utvrđen je i epikatehin. Kod katehina je utvrđena signifikantna razlika između pasolina (13,47 mg/kg) u odnosu na sjemene bobice (0,42 mg/kg).

Procijanidini

Osim monomernih oblika flavan-3-ola u moštu i vinu se mogu naći i njihovi polimeri. Monomeri flavanola, katehin i epikatehin međusobno se povezuju i daju tanine, dok se dimeri i trimeri katehina i epikatehina nazivaju procijanidini tj. proantocijanidini. Najviše su zastupljeni u sjemenci (80%), peteljkovini (12%), te kožici (8%) grožđa, dok ih meso ne sadrži.

Bijelo i crno grožđe sadrži podjednaku količinu proantocijanidina, no bijela vina su siromašnija ovim spojevima. Razlikujemo A i B tip proantocijanidina. Kod B tipa, monomerni flavonoli povezuju se s C4-C8 i/ili C4-C6 vezama, dok kod A proantocijanidina nalazimo i dvostruke C2-*O*-C7 ili C2-*O*-C5 veze (Rentzsch 2009.). Najzastupljeniji spojevi ovoga tipa su B procijanidini koji u osnovi predstavljaju dimere (+)- katehina i (-)- epikatehina. Najpoznatiji procijanidini su procijanidin B1, procijanidin B2, procijanidin B3 i procijanidin B4 a utvrđeni su i u bijelim vinima (Stupić 2016.). U sunčanim uvjetima količina proantocijanidina u kožici raste.

Kod sorte Seyval utvrđena je koncentracija od 6,6 mg/L procijanidina (diamerni, trimerni i polimerni obllici). Procijanidin B1 i B3 utvrđeni su u sortama Chardonnay, Sauvignon blanc, Traminac te Rizling. Najmanju koncentraciju sadržale su sorte Rizling (12 mg/kg) te Sauvignon blanc (16 mg/kg), dok je najveću koncentraciju imala sorta Traminac (48 mg/kg) (Rodrigez Montealegre 2006.).

Katalinić i sur. (2010.) utvrdili su koncentracije procijanidina B1 kod sedam dalmatinskih sorata u koncentracijama od 1,70 mg/kg (Kuč) do 10,65 mg/kg (Zlatarica) te procijanidina B2 od 0,44 mg/kg (Kuč) do 7,13 mg/kg (Medna). Na sorti Maraština utvrđeni su procijanidin B1 (6,36 mg/kg), procijanidin B2 (2,80 mg/kg).

Andabaka (2015.) je istraživao polifenolni sastav dalmatinskih sorata, a kod Grka i Žilavke je utvrdio najveću koncentraciju epikatehina, galokatehina i procijanidina B2 od svih istraživanih bijelih sorata.

Na sorti Grk, u kožicama i mesu bobica utvrđeni se procijanidin B1, procijanidin B2 te procijanidin B4. Kod kožica pasolina procijanidin B1 nije utvrđen. Statističkih razlika između sjemenih bobica i pasolina nije bilo (Stupić 2016.).

Flavonoli

Na vinovoj lozi flavonole nalazimo u lišću te kožici i mesu bobica. Koncentracija flavonola u kožici raste s pojačanim izlaganjem suncu, što sugerira da oni imaju ulogu zaštite tkiva bobice od štetnog utjecaja sunčevih zraka (Smith 2012.). Osim o osunčanosti, koncentracija falvonola ovisi o sorti i fenofazi. Biosinteza flavonola odvija se u cvatnji te nakon fenofaze šare tijekom koje njihova koncentracija raste. Flavonole u grožđu nalazimo kao 3-glukozide. S obzirom na funkcionalnu skupinu koja se veže na osnovnu strukturu flavonola razlikujemo 4-hidroksi, 3,4-

dihidroksi, 3,4,5-trihidroksi flavonole, odnosno kemferol, kvercetin i mircetin (Andabaka 2015.). Prisutni su kod crnih i bijelih sorata, no s obzirom na tehnologiju proizvodnje, u većim koncentracijama se nalaze u crnim vinima. Budući da su flavonoli žuti pigmenti, oni direktno utječu na boju bijelih vina, dok ih u crnim vinima nadvladavaju antocijani (Andabaka 2015.).

Koncentracija kvercitin-3-*O*-glukozida u kožici grožđa može se kretati i do 70 mg/kg kod sorte Viognier (Rodrigez Montealegre 2006.) te do 28 mg/kg u moštu nekoliko španjolskih kultivara (Vilanova i sur. 2009.). Također je utvrđen jedan od metiliranih flavonola, izoramnetin glukozid, za koje se vjerovalo da ih nema u bijelim sortama. Navedeni spoj također je utvrđen u dalmatinskim sortama, a najvišu koncentraciju imala je Vlaška (15,33 mg/kg) (Andabaka 2015.).

Flavonoli su najzastupljenija grupa spojeva u kožici Grka, koji su u utvrđeni u pasolinama u koncentraciji od 34,16 mg/kg (Ivetac 2016.).

Od pojedinih spojeva iz skupine flavonola, u kožici su utvrđeni: kvercitin-3-*O*-glukozid, kemferol te kemferol-3-*O*-glukozid. Signifikantna razlika utvrđena je samo kod spoja kvercitin-3-*O*-glukozid u korist pasolina (25,68 mg/kg i 13,23 mg/kg) (Stupić 2016.).

Andabaka (2015.) također navodi da se Grk, Bogdanuša, Silbijanac i Žilavka razlikuju od ostalih sorata prema višem sadržaju hyperoksida, kemferol-3-*O*-glukozida, izoramnetin-3-*O*-glukozida, kemferol-3-*O*-glukuronida, te prema nižem sadržaju kvercetin-3-*O*-glukozida.

2.2. Aroma grožđa

Aroma vina je kompleksno svojstvo koje je rezultat međudjelovanja mnogo kemijskih spojeva sintetiziranih u grožđu ili formiranih tijekom i nakon alkoholne fermentacije. Spojevi arome vina mogu biti alkoholi, aldehidi, esteri, ketoni, terpeni, ugljikovodici, norizoprenoidi i dr. (Ribereau-Gayon i sur. 2006.). S obzirom na podrijetlo, aroma može biti primarna ili sortna, sekundarna ili fermentacijska, te tercijarna. Primarnu sortnu aromu čine spojevi koji potječu izravno iz grožđa. To su najčešće monoterpeni, norizoprenoidi, metoksipirazini te hlapivi sumporni spojevi (González-Barreiro i sur. 2013.). Ovi spojevi nastaju tijekom faze dozrijevanja grožđa kao sekundarni metaboliti. Aromatske tvari najviše su locirane u kožici bobice te neposredno ispod kožice, a manje u mesu bobice. Kako bobice grožđa ne posjeduju strukture za pohranu ovih hlapivih spojeva-aglikona, oni su najčešće vezani za šećere u

nehlapivu formu glikozida (Robinson i sur. 2014.). Glikozidi se sastoje od aglikona koji je vezan za jedan ili više šećernih djelova. Aromatski sastav grožđa prije svega ovisi o sorti, čiji se spojevi ekstrahiraju tijekom predfermentativnih zahvata prerade grožđa i mošta u vino. Također sadržaj aromatskih spojeva ovisi o ekološkim uvjetima, stupnju zrelosti i zdravstvenom stanju grožđa. Primarne arome mogu biti voćnih nota kao npr. limun, naranča, jabuka, jagoda, također mogu biti cvjetnih nota kao npr. ljubičica, bagrem, lipa, ili biljne i začinske note kao npr. zeleni papar, pokošeno sijeno, bor (Sun i sur. 2011.). Cvjetne spojeve karakteriziraju oksidirani terpenski spojevi, npr. kod muškatnih sorata. Voćnu aromu karakteriziraju esteri i laktoni, a travnu aromu aldehidi, viši alkoholi i dr.

2.2.1 Terpeni

Terpeni su metaboliti karakterističnog mirisa i okusa vrlo značajni za primarnu ili sortnu aromu grožđa i vina (Puhelek 2016.). Njihova osnovna kemijska struktura je izoprenska jedinica od 5 ugljikovih atoma. Terpeni su podijeljeni u podgrupe na temelju broja izoprenskih jedinica u molekuli. Najznačajnija grupa - monoterpeni, građena je od dvije izoprenske jedinice, te je odgovorna za voćne i cvjetne arome u vinu. Najvažniji predstavnici su linalol, nerol, geraniol, citronelol i α-terpeniol (González-Barreiro i sur. 2013.). U grožđu se monoterpeni mogu javiti u obliku ugljikovodika, alkohola, kiselina, ketona, aldehida i estera (Ribereau-Gayon i sur. 2006.). S obzirom na koncentraciju monoterpena, sorte grožđa se mogu podijeliti na tri skupine: muškatne sorte (1-3 mg/L), sorte slične muškatnim (0,1- 0,3 mg/L) i nemuškatne sorte koji imaju vrlo nisku koncentraciju monoterpena (Puhelek 2016.). Mirisni pragovi monoterpena vrlo su niski i kreću se na razini od najviše nekoliko stotina μg/L. Najmirisniji su citronelol i linalol, no sveukupno aromatično djelovanje monoterpena je sinergističko (Ribereau-Gayon i sur. 2006.). Senzorni pragovi detekcije za nerol (400 μg/L) i α- terpineol (400 μg/L) su mnogo veći nego za geraniol (30 μg/L), linalol (25 μg/L,) citronelol (18 μg/L). Oksidi linalola imaju prag detekcije pri 3000-5000 μg/L (Puhelek 2016.). Koncentracija monoterpena u grožđu ovisi o kultivaru, zdravstvenom stanju grožđa, stupnju zrelosti, klimatskim uvjetima, tlu te ampelotehničkim zahvatima (Wilson i sur. 1984.). Sadržaj terpena, slobodnih i vezanih, povećava se tijekom razvoja bobice. Neki nisu prisutni u zelenoj bobici i javljaju se u zamjetnim količinama tak nakon faze šare. (Sun i sur. 2011.)

U istraživanju Paladin (2016.) utvrđeni su aromatski spojevi u klonovima nekih bijelih dalmatinskih sorata. Na sorti Maraština, koja se uzgaja u sličnim uvjetima kao i Grk, utvrđeni su određeni monoterpenski i norizoprenoidni spojevi. Najzastupljeniji monoterpenski spojevi bili su α terpineol (5,98 μg/kg) te geranijska kiselina (2,92 μg/kg).

Na grožđu klonskih kandidata sorte Grk, Preiner i sur. (2012.) utvrdili su sadržaj slobodnih hlapivih terpena. Koncentracije su varirale od 0,26 do 0,57 mg/L ovisno o klonu te godini. Također, utvrđen je signifikantan stupanj korelacije (0,462) između udjela pasolina i slobodnih hlapivih terpena.

Batistić (2017.) je istraživao aromatski sastav vina Grk, te je utvrdio sljedeće spojeve: trans ruža oksid, cis ruža oksid, linalol, α-terpineol, citronelol te nerol. Najzastupljeniji spoj bio je citronelol (67,85 μg/L).

2.2.2 Norizoprenoidi

Tijekom dozrijevanja grožđa dolazi do oksidativne razgradnje kloroplasta samim time i klorofila te dolazi do promjene boje grožđa. Tijekom tog perioda, također dolazi do razgradnje karotenoida iz kojih nastaju spojevi s 9, 10, 11 ili 13 ugljikovih atoma. Od ovih spojeva norizoprenoidi s 13 ugljikovih spojeva (C13-norizoprenoidi) imaju zanimljiva olfaktorna svojstva (Ribereau-Gayon i sur. 2006.). Norizoprenoidi su sveprisutni među sortama vinove loze. Iako su najzastupljeniji u aromatskim sortama, smatra se da igraju važnu ulogu u aromi mnogih vinskih sorata uključujući Semillon, Sauvignon blanc, Chardonnay, Merlot, Syrah i Cabernet Sauvignon (Robinson i sur. 2014.). Najveća količina ovih spojeva nalazi se u kožici bobice o kojih je većina u vezanom glikozidnom obliku te se u vino otpuštaju tijekom fermentacije i dozrijevanja. Iako su u grožđu prisutni u vrlo malim koncentracijama, norizoprenoidi doprinose sortnoj aromi zbog vrlo niskog senzornog praga detekcije (González-Barreiro i sur. 2013.). Najznačajniji spojevi su β ionon (sladak miris, miris na ljubičice) te β – damaskenon (voćno-cvjetni miris) (Puhelek 2016.). U vinu sorte Grk utvrđeni su spojevi β-damaskenon i α-ionon. Koncentracije β-damaskenona varirale su od 2,32 μg/L do 3,25 μg/L ovisno o tehnologiji proizvodnje. Koncentracija α-ionona bila je niža, te je varirala od 0,70 do 0,76 μg/L (Batistić, 2017.). Na klonovima dalmatinskih sorata Maraština, Pošip, Debit i Vugava utvrđeni su β damaskenon, α ionon, β ionon te γ nonlakton (Paladin 2016.).

2.2.3 Metoksipirazini

Metoksipirazini su dušični heterociklični spojevi nastali kao produkt metabolizma aminokiselina u grožđu. Povezani su sa vegetalnim aromama. U grožđu su identificirani: 3-izobutil-2-metoksipirazin (IBMP), 2-sec-butil-3-metoksipirazin (SBMP), i 3-izopropil-2-metoksipirazin (IPMP) (González-Barreiro i sur. 2013.). Aroma IBMP-a podsjeća na papriku ili zeleni ogrozd, IPMP-a na šparoge ili zeleni grah te SBMP-a na grašak ili papriku (Sala i sur. 2004.). Metkosipirazini također imaju vrlo nizak senzorni prag detekcije (1 ng/L), te se karakteristične vegetalne arome obično nalaze u nezrelom grožđu iz ranije berbe (Ribereau-Gayon i sur. 2006.). Najveće koncentracije IBMP-a nalaze se u kožici (67%) i sjemenci bobice (oko 30 %) dok se u mesu nalazi u koncentracijama manjim od 1%. Aroma paprike često se povezuje s vinima sorata Cabernet Sauvignon te Sauvignon Blanc zbog prisutnosti IBMPa koji se u ovim sortama nalazi u rasponu od 0,5-50 ng/L. U višim koncentracijama IBMP može imati negativan utjecaj na aromu. Na njegovu koncentraciju uvelike utječe sorta, stupanj zrelosti te temperatura i osvjetljenje tijekom dozrijevanja grožđa (Antić 2012.).

2.2.4 Mirisni hlapivi tioli

Iako se sumporni spojevi u vinu obično smatraju zaslužnima za mane vina, postoje određeni spojevi-tioli koji su uključeni u primarnu aromu te pridonose specifičnim mirisima u vinu. Hlapivi tioli odgovorni su za miris vina po tropskom voću (grejp, citrusi, marakuja). U grožđu se nalaze vezani oblici prekursora koji postaju hlapivi tioli tijekom prerade grožđa, najvećim dijelom tijekom alkoholne fermentacije djelovanjem enzima kvasaca (Darriet i sur. 1995.). 4-merkapto-4-metilpentan-2-on je pronađen u vinu sorte Sauvignon Blanc (Darriet i sur. 1993.), a daje miris na šimšir. Prag osjetljivosti mu je 0,8 ng/L. Osim njega, još su neki mirisni tioli pronađeni u vino od sorte Sauvignon Blanc a to su: 3-merkaptoheksil acetat, 3-merkaptoheksanol, 4-merkapto-4-metilpebtan-2-ol, 3-merkapto-3-butanol i benzenmetantiol (Ribereau-Gayon i sur. 2006.). S obzirom na to da imaju vrlo niske pragove detekcije, značajno doprinose aromatskom profilu vina čak i kada su prisutni u vrlo malim masenim koncentracijama (Jeromel 2014.).

2.2.5 C6 alkoholi

Značajan dio spojeva prisutnih u vinu ima šest ugljikovih atoma (C6-spojevi) nastalih u grožđu iz polinezasićenih masnih kiselina, podrijetlom iz lipidnih membrana. Najprije nastaje linolna i α-linolna kiselina aktivnošću acil-hidroksilaze. Nakon toga se odgovarajući 13-hidroperoksidi formiraju lipoksigenazom u prisustvu kisika. Tada, djelovanjem hidroperoksid-liaze dolazi do formiranja 1-heksanala iz hidroperoksida linolne kiseline i formiranja *cis*-3-heksenala i *trans*-2-heksenala iz hidroperoksida α-linolne kiseline, a izomeraza može izomerizirati dva heksenala. Na kraju, alkohol dehidrogenaza reducira aldehid u odgovarajući alkohol: 1-heksanol, *cis*-3-heksenol i *trans*-2-heksenol (Hatanaka 1993.).

C6-alkoholi pripadaju takozvanim C6-spojevima koji se prirodno nalaze u grožđu te lišću tijekom dozrijevanja (Ribereau-Gayon i sur. 2006.). Također se formiraju tijekom primarne obrade grožđa koja uključuje branje, transport, muljanje i runjenje (Ramey i sur. 1986.)

Mirisne karakteristike međusobno razlikuju C6-alkohole nađene u vinu; tako je 1-heksanol nositelj svježeg/zelenog, mirisa cvijeća ili pokošene trave, dok su primjerice *cis*-3-heksenol i *trans*-2-heksenol nositelji svježeg i mirisa po pokošenoj travi (Jouanneau 2011.).

U sorti Maraština utvrđeni su C6 spojevi: 1-heksanol (19,58 μg/kg), 2-heksen-1-ol (5,74 μg/kg) i 2-heksanal (5,73 μg/kg) (Paladin 2016.).

2.3 Utjecaj oplodnje na osnovne kemijske parametre u moštu Grka

Osnovna kemijska analiza mošta obuhvaća određivanje šećera, ukupnih kiselina te pH vrijednosti u moštu. Budući da je Grk sorta koja posjeduje hermafroditan no funkcionalno ženski cvijet, dolazi do reducirane oplodnje te kao posljedica toga na grozdu su u različitom omjeru razvijene velike oplođene bobice te male neoplođene bobice. Zbog različitog procesa nastajanja pretpostavlja se da postoji razlika u kemijskom sastavu ovih bobica, što na posljetku utječe i na kvalitetu vina. Upravo zbog tog razloga istraživanja na sorti Grk uglavnom se temelje na utvrđivanju kemijskih razlika između neoplođenih i oplođenih bobica u grozdu.

Kako bi se poboljšala oplodnja, Grk se na području Lumbarde najčešće sadi uz oprašivač Plavac mali. Šestanović (1982.) je istraživao razlike u kakvoći mošta Grka u čistom (bez oprašivača) i mješovitom (s oprašivačem) nasadu. U čistom nasadu utvrđeno je 22,82% šećera u moštu, dok je u mješovitom bilo 20,15% šećera. Iako je mošt iz čistog nasada bogatiji šećerom, i mješoviti nasad zadovoljava kvalitetom te ima veću ukupnu kiselost mošta u odnosu na čisti nasad (8,36 g/L i 6,49 g/L). To potvrđuju i novija istraživanja Lešić (2011.) te Preiner i sur. (2012.) u kojima su analizirane pasoline i oplođene bobice te utvrđen njihov sadržaj šećera i ukupna kiselost mošta. Sadržaj šećera u pasolinama iznosio je 21,02 brix, te 20,51 brix u oplođenim bobicama (Preiner i sur. 2012.). Lešić (2011.) je analizirala sadržaj šećera i kiselina u različitim klonskim kandidatima Grka. Prosječni sadržaj šećera u moštu pasolina bio je nešto veći od onoga u moštu oplođenih bobica. Utvrđene su razlike između klonova, no samo se jedan kandidat isticao većim sadržajem šećera u oplođenim bobicama u odnosu na pasoline. U oplođenim bobicama sadržaj kiselina bio je veći od onoga u pasolinama, te je utvrđena negativna korelacija sadržaja pasolina i kiselina u moštu što je sukladno s istraživanjem Šestanovića (1982.).

U svojim istraživanjima Stupić (2016.) i Frec (2014.) također su analizirali sadržaj šećera, kiselina i pH vrijednost u oplođenim bobicama i pasolinama. Za razliku od prije navedenih istraživanja sadržaj šećera u oplođenim bobicama kretao se od 90 do 95 °Oe, dok je kod besjemenih bobica izmjereno između 84 i 88 °Oe. Nasuprot tome, niža ukupna kiselost izmjerena je u bobicama nastalim oplodnjom (od 5,36 do 5,89 g/L) u odnosu na besjemene (od 6,33 do 7,15 g/L) (Frec 2014.). Slični rezultati dobiveni su i u Stupićevom istraživanju 2016. godine. Signifikantno veći sadržaj šećera utvrđen je kod oplođenih bobica (88,80 °Oe) u odnosu na pasoline (82,03 °Oe). To je slučaj i za ukupnu kiselost i pH vrijednost. Ukupna kiselost oplođenih bobica iznosila je 5,90 g/L te 9,10 g/L kod pasolina, te sukladno s time pH vrijednost pasolina (3,28) bila je niža u odnosu na oplođene bobice (3,69). Također, Stupić (2016.) je utvrdio da je najbolji oprašivač Grka sorta Pošip, a ne Plavac mali koji se trenutno sadi kao oprašivač. Nakon oplodnje sortom Pošip, u prosjeku je formirano 27,68 sjemenih bobica dok je nakon oplodnje Plavcem malim formirano 26,95 sjemenih bobica.

2.4 Utjecaj oplodnje na organske kiseline

Organske kiseline su važan parametar kvalitete vina i značajno doprinose sastavu, stabilnosti i senzornim svojstvima vina, posebice bijelih (Ribereau-Gayon i sur. 2006.). Količina ukupnih kiselina u moštu varira u relativno širokim granicama što je prvenstveno pod utjecajem kultivara i vremenskih prilika u periodu njegovog sazrijevanja. Najzastupljenije organske kiseline u vinu su: vinska, jabučna, limunska, mliječna i jantarna kiselina. No samo se vinska, jabučna i limunska sintetiziraju u grožđu. Količina ukupnih kiselina može varirati od 4,5 do 15 g/L (kao vinska), a zavisi od sorte, klimatskih uvjeta i stupnja zrelosti (Ribereau-Gayon i sur. 2006.). Vinska kiselina je glavna kiselina grožđa te najzastupljenija kiselina mošta i vina koja u znatnoj mjeri utječe na formiranje kiselog okusa. U moštu se kreće između 1 do 8 g/L a u vinima između 1 do 5 g/L. Nastaje kao sekundarni proizvod metabolizma šećera. Vinska kiselina je relativno jaka kiselina, a njena pH vrijednost kreće se u rasponu od 3,0 - 3,5 (Ribereau-Gayon i sur. 2006.). Količina vinske kiseline u grožđu ne mijenja se tijekom dozrijevanja, a njena koncentracija opada zbog povećavanja volumena bobice. U vinu teži spajanju s kalijem te kalcijem čime nastaju tartarati- soli vinske kiseline. Preiner i sur. su tijekom 2009. i 2010. godine istraživali unutarsortnu varijabilnost na klonovima sorte Grk. U obe godine utvrđene su koncentracije organskih kiselina. Najzastupljenija kiselina bila je vinska, i to u rasponu od 5,9 g/L do 7,4 g/L. Također je utvrđena jaka povezanost tj. stupanj korelacije vinske kiseline i udjela pasolina u grozdu (0,524).

Koncentracija jabučne kiseline u zrelom grožđu iznosi od 1 do 10 g/L. Nakon vinske, najzastupljenija je organska kiselina u sorti Grk. Ovisno o klonu, koncentracije iznose od 2,5 g/L do 4,3 g/L (Preiner i sur. 2012.). Jaka negativna korelacija (-0,656) utvrđena je za udio malih neoplođenih bobica i sadržaja jabučne kiseline na sorti Grk.

U procesu rasta i razvoja bobice, najveća se količina jabučne kiseline nakupi netom prije šare, nakon čega dolazi do smanjivanja uslijed razgradnje i oksidacije. Visoka temperatura također utječe na povećanu razgradnju uslijed povećane aktivnosti jabučnog enzima (Ribereau-Gayon i sur. 2006). Jabučnu kiselinu mogu koristiti mikroorganizmi kao hranu i tako uzrokovati nestabilnosti u vinu. Također, jabučna kiselina ima najjači utjecaj na percepciju kiselosti. Iz navedenih razloga u vinima se često provodi malolaktična fermentacija, pretvorba jabučne u

mliječnu kiselinu, s ciljem smanjenja percepcije kiselog okusa, te povećanja mikrobiološke stabilnosti vina.

Jedna od važnijih organskih kiselina vina je i limunska kiselina. Njen sadržaj značajno se ne mijenja tijekom razvoja bobice i dozrijevanja grožđa te se kreće u prosjeku od 0,3 do 0,8 g/L (Ribereau-Gayon i sur. 2006). Kod sorte Grk limunska kiselina kretala se u rasponu od 0,10 do 0,39 g/L bez velikih razlika između klonova (Preiner i sur. 2012).

Andabaka (2015.) je istraživao organske kiseline u dalmatinskim sortama u uvjetima sredozemne i kontinentalne klime. Utvrđeno je da se sorta Grk odlikuje visokim sadržajem vinske kiseline (7,96 g/L) u usporedbi s ostalim dalmatinskim sortama. Isto je utvrđeno za jabučnu kiselinu (3,12 g/L) u uvjetima sredozemne klime, dok je u kontinentalnim uvjetima sorta Grk imala prosječno najniže vrijednosti (1,05 g/L). Također, u kontinentalnim uvjetima kod sorte Grk je utvrđen prosječno najviši sadržaj limunske kiseline (1,41 g/L) u odnosu na ostale dalmatinske sorte, dok su u južnijim uvjetima u Grku utvrđeni značajno niži sadržaji (0,25 g/L).

3 Materijali i metode

Istraživanje je provedeno na sorti Grk bijeli. Grožđe je ubrano u punoj zrelosti u matičnom nasadu klonskih kandidata dalmatinskih sorata u Baštici, na području Ravnih kotara.

3.2 Sorta Grk bijeli

SINONIMI: Gark, Korčulanac, Korčulanski grk, Lumbarajski gark, Grk lumbarajski, Grk veli, Grk mali

PODRIJETLO SORTE I POVIJEST UZGOJA: Grk se smatra autohtonom sortom otoka Korčule. Ime ove sorte prema nekim teorijama sugerira da potječe iz Grčke. Međutim, do danas ova teorija odnosno srodnost s grčkim sortama nije potvrđena (Šimon i sur. 2006.). Zbog srodnosti sa sortom Crljenak kaštelanski (roditelj-potomak), kao i zbog srodnosti sa ostalim autohtonim dalmatinskim sortama, vjerojatnije je da potječe s ovih prostora (Pejić i sur. 2000; Maletić i sur. 2004.). Jedna od teorija navodi da je ime dobio prema svojstvima vina (lokalni naziv „gark" znači gorak). Ritter von Heintl (1821.) navodi Grk kao sortu koja se uzgaja na dubrovačkom području, a Petter (1857.) ga povezuje s Korčulom. Anonimus 1 (1857.) navodi da se Grk uzgaja i na Lokrumu. Dudan (1898.) ubraja vino Grk u desertna i medicinalna vina. Anonimus 2 (1890.) spominje ga u kontekstu vina koja su bila izložena na izložbi u Beču citatom „*ali ima i priličan broj sladkokusnih staklenica, medju kojimi se ističe omiški ružić-muškat, bračka vugava, šibenska maraština, hvarski prošek, korčulanski grk i dubrovačka malvasija*". Anonimus 3 (1857.) izvještava o ocjenjivanju vina iz jugoslavenskih pokrajna u Beču citatom „*Pečeno po gospodarskom društvu iz Orebića poslano, istom tako i Malvasija po gospodars. društvu Dubrovačkom izloženo zadobi podpuno priznanje. Do ovih dviuh vrstih staše ponajbliže vino pod imenom Grk*".

RASPROSTRANJENOST: Lokalnog je značenja pa je osim na Korčuli rasprostranjen vrlo slabo na Mljetu, Šipanu, Pelješcu i dubrovačkom priobalju. U 2017. godini na području Republike Hrvatske nalazi se 17,85 ha vinograda zasađenih Grkom (Vinogradarski registar, APPRR).

Botanička obilježja: vršci mladica su uspravni, neznatno povinuti, svjetlozeleni i vunasto bjeličasti. Mladi list je žute boje.

Mladica je uspravno rastuća, jaka, s kratkim člancima, zelena s nježnim ljubičastim nahukom na sunčanoj strani.

Cvijet je morfološki dvospolan, a funkcionalno ženski.

Odrasli list je trodjelan ili peterodjelan s pravilnim sinusima, a sinus peteljke ima oblik „U“. List je pentagonalan, s uvrnutim rubovima prema naličju. Srednje je veličine, lice lista je golo, svijetlozelene boje, a naličje pustenasto, s rijetkim čekinjastim dlakama na nervaturi. Zupci na rubovima lista su tupi i uvrnuti prema dolje.

Zreo grozd je srednje velik do velik (Slika 1). Masa grozda varira ovisno o postotku zastupljenosti velikih sjemenih bobica odnosno malih besjemenih bobica. Piramidalnog je oblika, dug, zbijen, može sadržavati jedno a rijetko dva krilca. Zrele bobice su okrugle. Velike bobice sadrže 1-3 sjemenke i 3-4 puta su veće od malih besjemenih bobica. Kožica je debela i tvrda, a u tehnološkoj zrelosti zlatnožute do jantarne boje i prozirna. Površina kožica posuta je tamnim, gustim, sitnim točkicama, a pupčana točka je izražena. Meso je sočno i slatko.

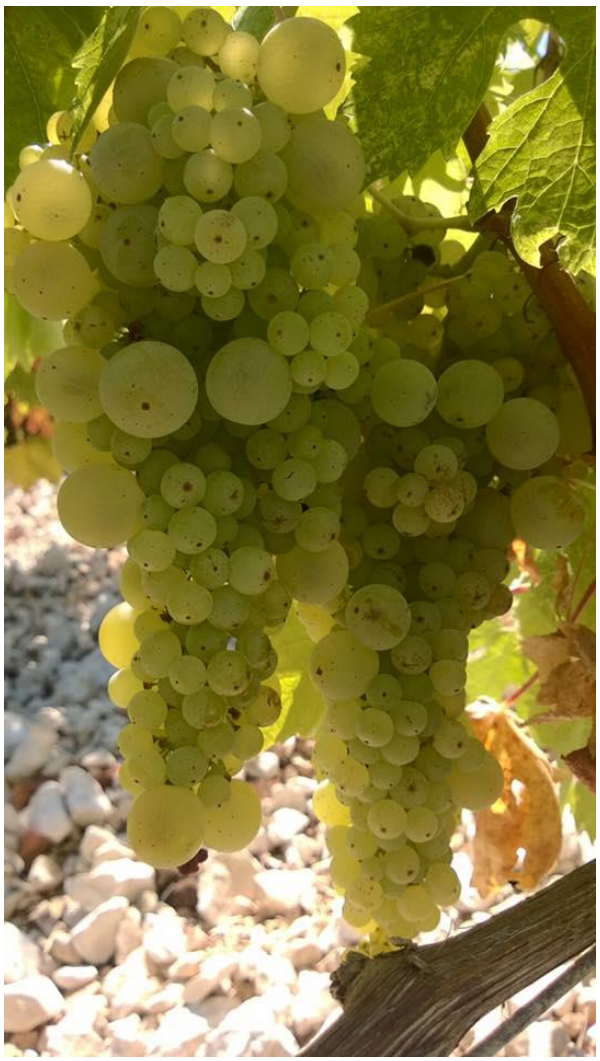
Rozgva je debela, kratkih žućkastih do svjetlokestenjastih, na sunčanoj strani tamnih članaka i zadebljalih koljenaca s crvenkasto sivkastom nijanskom. Pup je izražen.

Rast je snažan, bujan, uspravnog trsa i rozgve.

FENOLOŠKI PODACI: Odgovaraju mu lakša, propusna i pjeskovita tla i toplija klima. Sa vegetacijom kreće rano do srednje kasno. Oplodnja neredovita, zbog funkcionalno ženskog cvijeta. Najbolji oprašivači su Pošip, Plavac mali te Maraština. Dozrijeva krajem drugoga i početkom trećega razdoblja.

TEHNOLOGIJA UZGOJA: Sorti odgovara povišeni sustav uzgoja s kratkim rezom rodnog drva. Rodnost varira ovisno o stupnju oplodnje a prinosi variraju od 4- 8 t/ha. Sadržaj sladora kreće se od 18- 27% a sadržaj ukupne kiselosti od 5-8 g/L.

KVALITETA VINA: Vino je cijenjeno a posebice ono sa škrtih položaja. Tako je osobito cijenjeno vino sa pjeskovitih položaja iz Lumbardskog polja na Korčuli. Vino ima izražen sortni miris te okus koji podsjeća na vino „marsala“ (Mirošević 2003). Dužim dozrijevanjem vino dobiva okus na „xeres“ vina (Mirošević 2003).



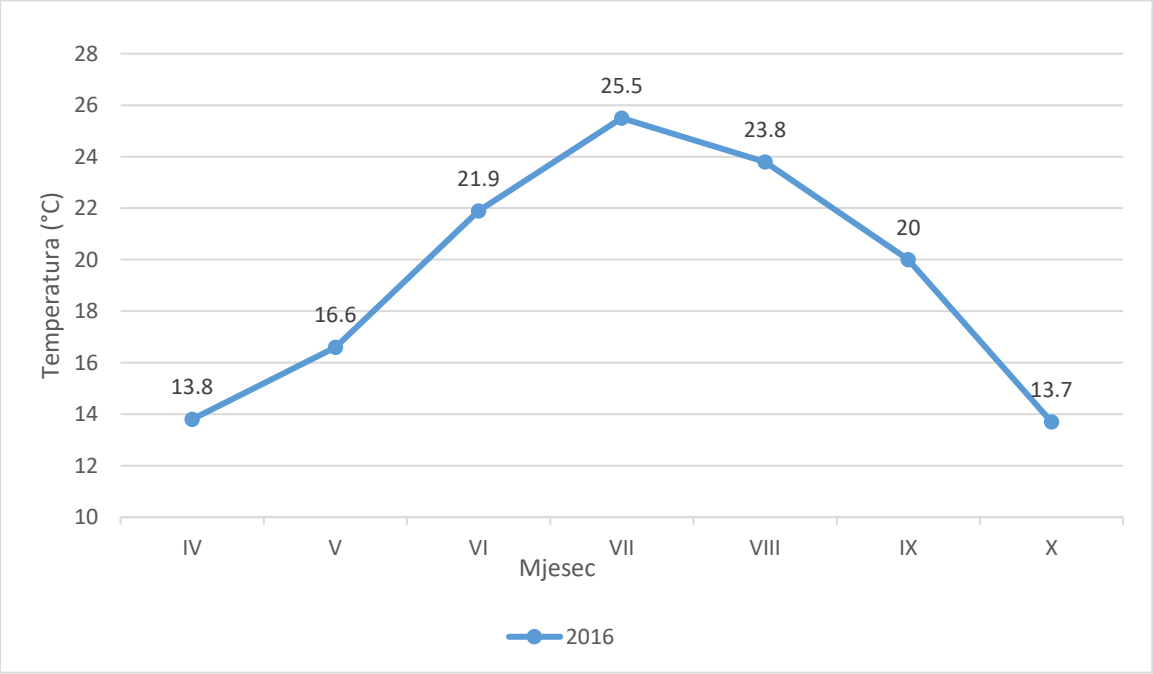
Slika 1. Grozd sorte ‘Grk bijeli’ (Autor: Ivan Batistić)

3.3 Klimatske prilike

Podaci o vremenskim prilikama na pokusnom nasadu Baštica dobiveni su od Državnog hidrometeorološkog zavoda, s meteorološke postaje Zemunik udaljene 10 km od pokusnog nasada (Graf 1 i 2). Srednja godišnja temperatura 2016. godine iznosila je 14,7 °C. Najviša prosječna mjesečna temperatura izmjerena je u srpnju te je iznosila 25,5 °C. Najhladniji mjesec u vegetacijskom razdoblju bio je listopad s prosječnom temperaturom 13,8 °C. Srednja vegetacijska temperatura iznosila je 19,3 °C.

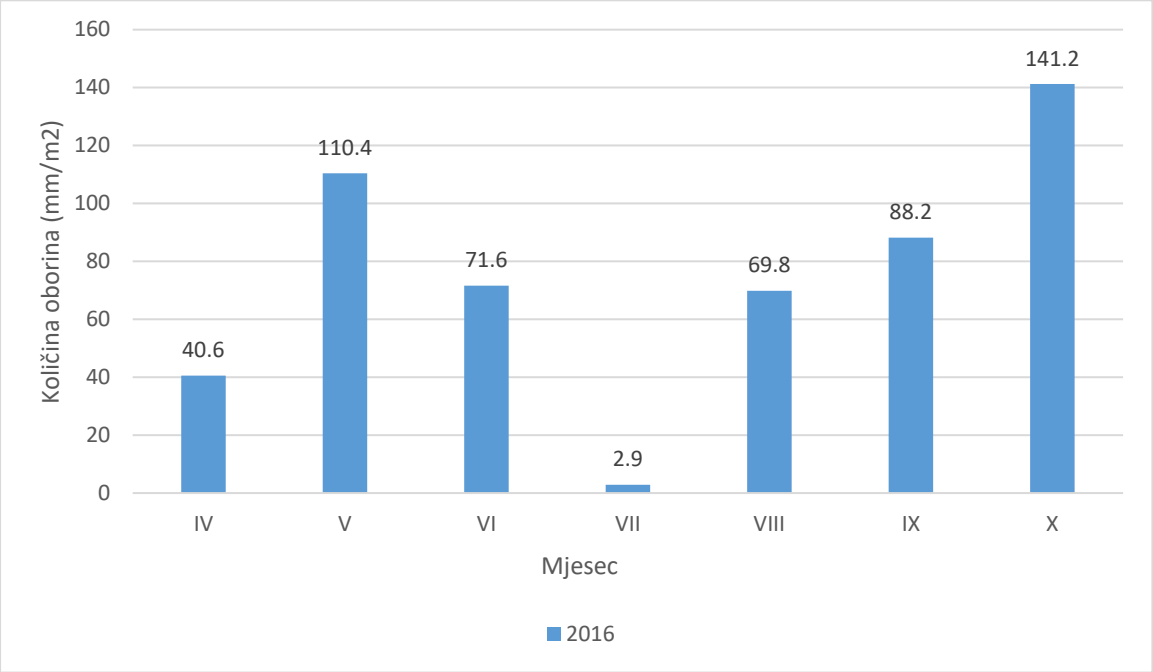
Uspoređujući ove vrijednosti s dosadašnjim temperaturnim prosjekom (1961. – 2016. godine) s najbliže postaje Zadar gdje je prosječna godišnja temperatura iznosila 15,1 °C, a prosječna vegetacijska temperatura 19,5 °C, možemo zaključiti kako je područje pokusnog nasada u 2016. godini imalo umjerenu godišnju i vegetacijsku temperaturu, bez značajnih oscilacija pogotovo s dosadašnjim vegetacijskim prosjekom.

Graf 1. Srednje mjesečne temperature tijekom vegetacijskog razdoblja, postaja Zemunik (2016.)



Ukupna godišnja količina oborina 2016. godine iznosila je 979 mm, dok je ukupna količina oborina u vegetaciji (graf 2) iznosila 525 mm. Ove vrijednosti približno su jednake dosadašnjim prosjecima oborina na postaji Zadar koji su iznosili 906,8 mm godišnje te 481,8 mm tijekom vegetacijskog razdoblja.

Graf 2. Prosječna količina oborina tijekom vegetacijskog razdoblja, postaja Zemunik (2016.)



Temeljem navedenog može se zaključiti kako su klimatske prilike u 2016. godini bile u skladu s dosadašnjim prosjecima za ovo područje te samim time i povoljne za uzgoj vinove loze. No određeni nepovoljni vremenski uvjeti, iznimno sušan mjesec srpanj (2,9 mm oborina) te obilna kiša (34 mm) neposredno prije berbe, mogli su nepovoljno utjecati na kvalitetu grožđa.

3.4 Kemijske analize

3.4.3 Osnovne kemijske analize mošta

Osnovne kemijske analize provedene su na svježim uzorcima grožđa i obuhvaćaju: određivanje sadržaja šećera refraktometrom i moštnom vagom, određivanje ukupnih kiselina u moštu (g/L) titracijom s 0,1 M NaOH do točke neutralizacije određene indikatorom bromtimol plavim, pH vrijednost pomoću pH metra. Tijekom analize nije bilo ponavljanja, tj. mjereno je na jednom

uzorku po sorti/lokaciji/godini. Sadržaj pojedinačnih organskih kiselina (vinske, jabučne i limunske) u moštu određen je pomoću HPLC-a (high-performance liquid chromatography), iz prosječnog uzorka svježe iscijeđenog, centrifugiranog i pročišćenog mošta (Zoecklein i sur. 1995.). Analiza je provedena uz izokratno eluiranje pri protoku od 0,6 mL/ min, temperaturu kolone od 65 °C i detekciju pri 210 nm. Korištena kolona bila je kationski izmjenjivač Aminex 70 HPX-87H 300 x 7,8 mm i.d. (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) dok je kao mobilna faza korištena 0,0065 %-tna vodena otopina fosforne kiseline.

3.4.4 Analiza sadržaja aromatskih spojeva u bobicama grožđa

Masa grožđa od 250 g se usitni i homogenizira u prisutnosti 0,5 g natrijevog fluorida i 5 mg askorbinske kiseline. Triturat se centrifugira na 4500 rpm 15 minuta kako bi se odvojio mošt od kožice. Suha masa dobivenih kožica (oko 40 g) suspenizira se u 150 mL fosfatnog pufera pri pH=7,00 i 19,5 mL 96 %-tnog etanola te se ostavi da macerira u mraku 36 sati. Dobivena otopina se centrifugira 15 minuta. Supernatant se filtrira preko filtar papira. Etanol se ukloni pomoću rotacionog uparivača na sobnoj temperaturi. Dobivena otopina (otprilike 130 mL) je macerat.

Aromatski spojevi iz macerata i mošta ekstrahiraju se na čvrstoj fazi pomoću sorbensa kopolimer etilvinilbenzen-divinilbenzena. Postupak ekstrakcije slobodnih aromatskih spojeva iz macerata i mošta obuhvaća: kondicioniranje kolonice ispiranjem s 3 mL diklormetana i 3 mL metanola, nanošenje uzorka te ispiranje eluata s 1 mL diklormetana. Eluat se potom injektra u plinskokromatografski sustav.

Vezani aromatski spojevi određuju se kiselom hidrolizom aromatskih prekursora koji se prethodno ekstrahiraju na čvrstoj fazi pomoću sorbensa kopolimer etilvinilbenzen-divinilbenzena. Postupak ekstrakcije aromatskih prekursora iz macerata i mošta obuhvaća: kondicioniranje kolonice ispiranjem s 3 mL diklormetana i 3 mL metanola, nanošenje uzorka, ispiranje kolonice vodom te smjesom pentana i diklormetana (2:1, v/v) , a potom eluiranjem aromatskih prekursora smjesom etil.-acetata i metanola (9:1, v/v). Etil-acetat se ukloni pomoću rotacionog uparivača na sobnoj temperaturi, a suhi ekstrakt se otopi u 10 mL citratnog pufera. Kisela hidroliza provodi se citratnim puferom u vodenoj kupelji na 100 °C u trajanju od 1h. Oslobođeni vezani aromatski spojevi se ekstrahiraju iz hidrolizata na čvrstoj fazi istim postupkom kao i slobodni aromatski spojevi.

Kvalitativna i kvantitativna analiza aromatskih spojeva provedi se plinskom kromatografijom uz spektrometar masa kao detektor. Aromatski spojevi separiraju se na kapilarnoj koloni od taljenog silicijevog dioksida uz polietilen-glikol kao nepokretnu fazu.

3.4.5 Analiza sadržaja polifenolnih spojeva iz kožice grožđa

Ekstrakcija (kožice)

Prije početka same ekstrakcije kožica je odvojena od mesa dok je bobica bila u smrznutom stanju te se tako odvojene kožice ponovno zamrznu i liofiliziraju. U slučaju kada su kožice odvojene sa svježih bobica i zamrznute vade se iz zamrzivača i odmah liofiliziraju. Liofilizirane kožice se usitnjavaju. Na uzorak mase od 1,0 g doda se 10 mL ekstrakcijskog otapala (20% acetonitril, 1% mravlja kiselina, 79% voda). Ekstrakcijska se smjesa ostavi na magnetskoj miješalici pri temperaturi 50 ^{o}C u trajanju od 1 sata. Ona se potom centrifugira, a dobiveni supernatant se prije HPLC analize filtrira preko membranskog filtra.

HPLC metoda

Sadržaj pojedinačnih polifenola u dobivenim ekstraktima iz kožica određen je RP-HPLC metodom (Tomaz i Maslov 2015.) pomoću HPLC instrumenta Agilent 1100 Series (Agilent, SAD). Odvajanje polifenola provedeno je na Phenomenex Luna Phenyl-hexyl koloni (250 x 4,6 mm, Phenomenex, SAD) uz gradijentno eluiranje korištenjem 0,5 % (v/v) vodene otopine fosforne kiseline (otapalo A) dok se kao otapalo B koristila otopina koja je sadržavala acetonitril:vodu:fosfornu kiselinu (50:49,5:0,5; v/v/v) s brzinom protoka od 0,9 mL/min. Tijekom analize su korišteni slijedeći uvjeti: volumen ubrizganog uzorka 20 μL, temperatura kolone 50°C. Flavonoli su određeni pri valnoj duljini od 360 nm te antocijani pri 518 nm. Flavan-3-oli su određeni primjenom fluorescencijskog detektora pri λex = 225 nm i λem = 320 nm. Identifikacija pikova temeljila se na usporedbi vremena zadržavanja komponenti iz uzorka sa vremenima zadržavanja kao i usporedbom s UV spektrima standarada, dok je za kvantifikaciju korištena metoda vanjskog standarda.

4 Rezultati i rasprava

4.2 Aromatski sastav mošta

Analizom aromatskog sastava Grka utvrđeni su monoterpenski spojevi od kojih su tri alkohola te jedan aldehid i kiselina. Prosječne vrijednosti prikazane su u tablici 1.

Tablica 1. Rezultati usporedbe srednjih vrijednosti aromatskih spojeva pasolina i oplođenih bobica (μg/kg)

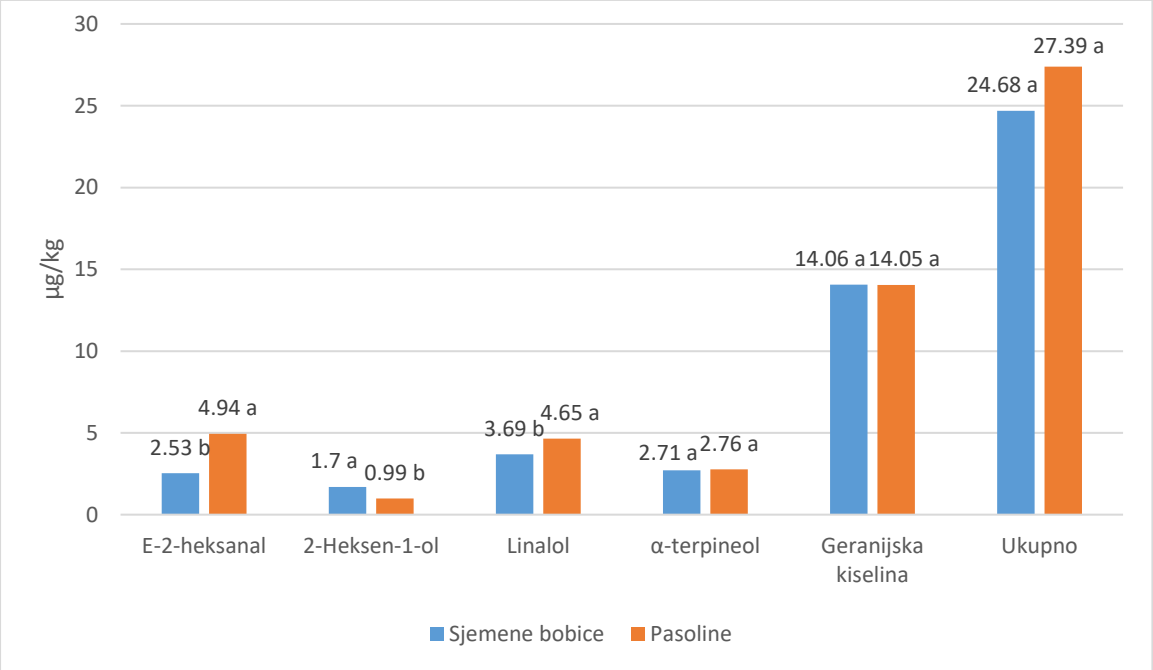
	***E*-2-heksanal**	**2-heksen-1-ol**	**Linalol**	**α-terpineol**	**Geranijska kiselina**	**Ukupno**
Sjemene bobice	2,53 b	1,70 a	3,69 b	2,71 a	14,06 a	24,68 a
Pasoline	4,94 a	0,99 b	4,65 a	2,76 a	14,05 a	27,39 a

*Prosječne vrijednosti označene različitim slovima ukazuju na značajne statističke razlike između klonskih kandidata (uz p > 0,05), korištenjem Duncan's multiple range testa

Od spojeva sa šest ugljikovih atoma to su *E*-2-heksanal te 2-heksen-1-ol. Za oba spoja utvrđena je signifikantna razlika između sjemenih bobica te pasolina. Pasoline su sadržale dvostruko višu koncentraciju *E*-2-heksanala (4,94 μg/kg) u odnosu na sjemene bobice (2,53 μg/kg). S druge strane sjemene bobice sadržale su signifikantno višu koncentraciju 2-heksen-1-ola (1,70 μg/kg) od pasolina (0,99 μg/kg). Navedene koncentracije *E*-2-heksanala i 2-heksen-1-ola niže su od onih u Maraštini, sorti koja se uzgaja u sličnim klimatskim uvjetima kao i Grk (Paladin 2016.).

Ostali spojevi utvrđeni u Grku su monoterpeni: linalol, α-terpineol te geranijska kiselina. Signifikantna razlika utvrđena je samo za spoj linalol. Pasoline su sadržale 4,65 μg/kg a sjemene bobice 3,69 μg/kg linalola. Za ostala dva monoterpenska spoja nije utvrđena signifikantna razlika između pasolina i sjemenih bobica. Koncentracije α-terpineola bile su oko 2,70 μg/kg, a geranijske kiseline 14,05 μg/kg. Navedene koncentracije linalola i geranijske kiseline značajno su veće od onih u klonovima dalmatinskih sorata, kada je najveća koncentracija linalola iznosila 1,45 μg/kg za sortu Vugava, te 2,92 μg/kg za geranijsku kiselinu u sorti Maraština (Paladin 2016.). No za razliku od navedenih sorata, u grožđu Grka nisu utvrđeni norizoprenoidni spojevi.

Graf 1. Razlike u koncentraciji aromatskih spojeva u sjemenim bobicama i pasolinama (µg/kg).



*Prosječne vrijednosti označene različitim slovima ukazuju na značajne statističke razlike između klonskih kandidata (uz p > 0,05), korištenjem Duncan's multiple range testa

Iako su utvrđene statistički značajne razlike između pojedinačnih aromatskih spojeva, u ukupnoj koncentraciji aromatskih spojeva nema signifikantnih razlika između oplođenih i neoplođenih bobica Grka. Oplođene bobice sadržale su 24,68 µg/kg a neoplođene 27,39 µg/kg ukupnih aromatskih spojeva.

4.3 Polifenolni sastav mošta

Polifenolni sastav sjemenih bobica i pasolina prikazan je u tablici 2. Utvrđene su razlike u sadržaju polifenolnih spojeva između sjemenih bobica i pasolina. Svi spojevi osim kvercetin-3-*O*-galaktozida te kumarne kiseline utvrđene su i u sjemenim i besjemenim bobicama.

Utvrđeni su sljedeći neflavonidni spojevi iz skupina hidroksicimetnih i hidroksibenzojevih kiselina: kaftarinska, kavna, kutarna, kumarna, fertarična, ferulična i galna kiselina. Prosječne vrijednosti pojedinih kiselina te razlike između sjemenih bobica i pasolina prikazane su u grafu 2. Signifikantne razlike utvrđene su kod svih spojeva osim galne i kutarne kiseline.

Iz skupine hidroksicimetnih kiselina najviši sadržaj imala je kaftarna kiselina, što potvrđuje činjenicu kako je ova kiselina najzastupljeniji neflavonoidni spoj u kožici Grka (Stupić 2016; Ivetac 2016.). Utvrđena je signifikantno viša koncentracija u sjemenim bobicama (17,88 mg/kg) u odnosu na pasoline (8,35 mg/kg) što nije u skladu sa istraživanjima Ivetac i Stupić (2016.). Također, ove vrijednosti značajno su više od onih u navedenim istraživanjima, kad je najveća koncentracija kaftarne kiseline bila 3,99 mg/kg u pasolinama. Utvrđene koncentracije kaftarne kiseline potencijalno mogu doprinijeti specifičnom gorkastom okusu Grka (Fischer 2000.).

Osim kaftarne, značajno veće koncentracije kavne i fertarične kiseline utvrđene su u sjemenim bobicama u odnosu na pasoline. Sadržaj kavne kiseline iznosio je 3,12 mg/kg u sjemenim te 1,23 mg/kg u pasolinama, dok su koncentracije fertarične kiseline u sjemenim bobicama bile 10,07 mg/kg te 5,86 mg/kg u pasolinama.

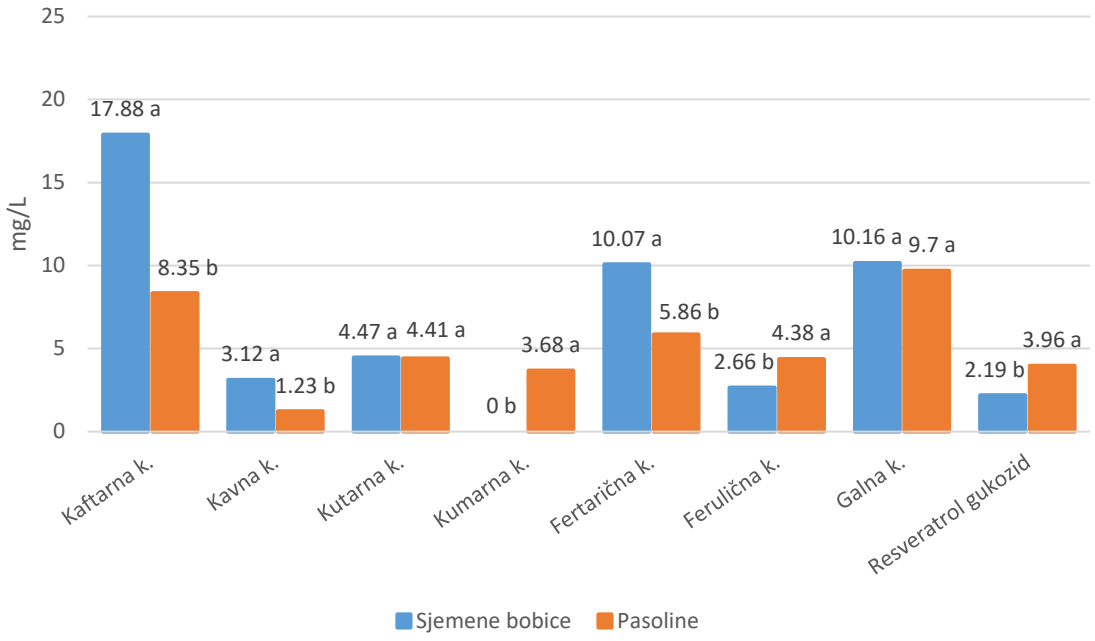
S druge strane, pasoline su sadržale signifikantno veće koncentracije ferulične (4,38 mg/kg i 2,66 mg/kg) i kumarne kiseline koja je pak utvrđena samo u pasolinama, u koncentraciji 3,68 mg/kg, dok je u sjemenim bobicama nije bilo. U istraživanjima Stupić i Ivetac (2016.) fertarična i ferulična kiselina nije utvrđena.

Od hidroksibenzojevih kiselina utvrđena je samo galna, bez značajne razlike između sjemenih bobica (10,16 mg/kg) i pasolina (9,70 mg/kg). Za razliku od prijašnjih istraživanja (Stupić 2016; Ivetac 2016.) u kojima su u kožici utvrđene sinapinska i siringinska kiselina no ne i galna.

Od stilbenskih spojeva utvrđen je samo resveratrol glukozid. Značajno veće koncentracije sadržale su pasoline, 3,96 mg/kg. U sjemenim bobicama utvrđeno je 2,19 mg/kg. Ove

koncentracije resveratrola nešto su više od onih u prijašnjim istraživanjima na Grku (Stupić 2016; Ivetac 2016.)

Graf 2. Razlike u koncentraciji neflavonoidnih spojeva u sjemenim bobicama i pasolinama (mg/kg).



*Prosječne vrijednosti označene različitim slovima ukazuju na značajne statističke razlike između klonskih kandidata (uz p > 0,05), korištenjem Duncan's multiple range testa

Najzastupljenija skupina spojeva bili su flavonoli, te su utvrđeni sljedeći spojevi: rutin, kvercetin-*3*-*O*-glukonorid, kvercetin-*3*-*O*-glukozid, kvercetin-*3*-*O*-galaktozid, kemferol-*3*-*O*-glukozid, izoramentin-*3*-*O*-glukozid. Razlike u koncentraciji sjemenih bobica i pasolina prikazane su u grafu 3. Kvercetin-*3*-*O*-glukozid bio je općenito najzastupljeniji spoj u kožici Grka. Koncentracija u pasolinama iznosila je 197,38 mg/kg, dok je u sjemenim bobicama utvrđena signifikantno manja koncentracija 88,54 mg/kg. Ove koncentracije značajno su veće od onih u prijašnjim istraživanjima, u kojima je sadržaj ovog spoja u pasolinama iznosio 25,68 mg/kg, te 13,23 mg/kg u sjemenim bobicama (Stupić 2016.). Također, tada je utvrđen znatno manji broj flavonolnih spojeva i to: kvercetin-*3*-*O*-glukozid, kempferol, kempferol-*3*-*O*-glukozid.

Spoj kvercetin-*3*-*O*-galaktozid utvrđen je jedino u sjemenim bobicama u koncentraciji 2,73 mg/kg. S druge strane, pasoline su sadržale značajno veće koncentracije svih ostalih

flavonolnih spojeva u odnosu na sjemene bobice. Nakon kvercetin-*3*-*O*-glukozida najzatupljeniji utvrđeni spoj bio je izoramentin-*3*-*O*-glukozid, što potvrđuje prisutnost metiliranih flavonola u bijelim sortama (Rodrigez Montealegre 2006.). Koncentracija u pasolinama iznosila je 33,63 mg/kg te 25,08 mg/kg u sjemenim bobicama. Navedene koncentracije značajno su veće od one u sorti Vlaška (15,33 mg/kg) (Andabaka 2015.).

Također su utvrđene značajne koncentracije kvercetin-*3*-*O*-glukonorida, kemferol-*3*-*O*-glukozida. Za oba spoja pasoline su sadržale značajno veće koncetracije u odnosu na sjemene bobice. Sadržaj kvercetin-3-*O*-glukonorida u pasolinama iznosio je 18,71 mg/kg, dok je u sjemenim bobicama izmjereno 10,98 mg/kg. Vrijednosti kemferol-3-*O*-glukozida u pasolinama bile su 14,03 mg/kg, a u oplođenim bobicama 9,40 mg/kg. Pasoline su također sadržale značajno veće koncentracije rutina (9,91 mg/kg) u odnosu na sjemene bobice (5,81 mg/kg).

Spojevi iz skupine flavan-3-ola bili su: epigalokatehin, katehin te epikatehin. Također, utvrđene su signifikantne razlike u sadržaju ovih spojeva između sjemenih bobica i pasolina (graf 3.). Najzastupljeniji falavanol bio je epigalokatehin. Signifikantne razlike u sadržaju ovog spoja utvrđene su između sjemenih bobica i pasolina. Koncentracija u pasolinama iznosila je 16,77 mg/kg, dok je u sjemenim bobicama utvrđeno 12,63 mg/kg. U prijašnjim istraživanjima na sorti Grk (Ivetac 2016; Stupić 2016.) epigalokatehin nije utvrđen.

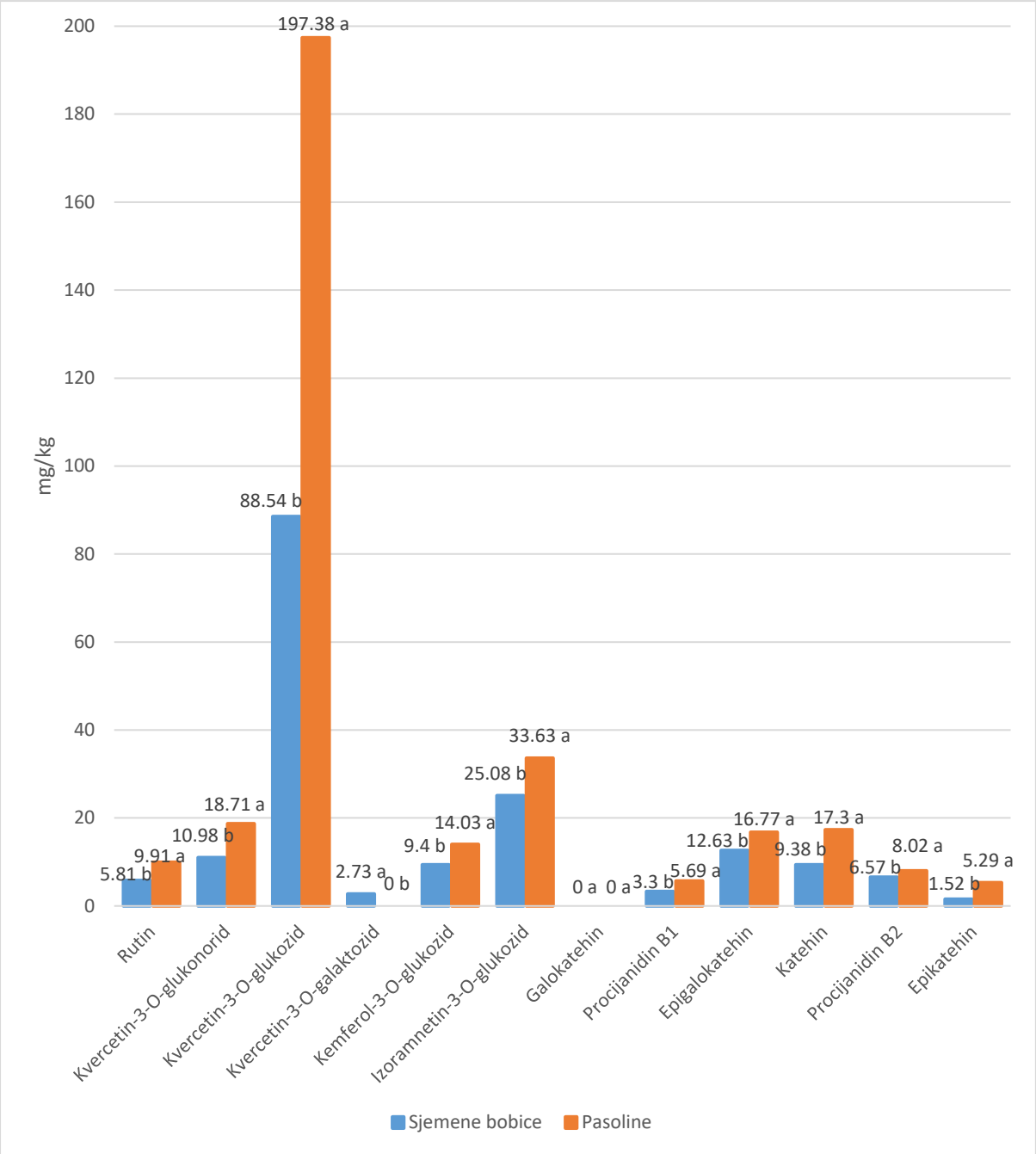
Najveća koncentracija u pasolinama utvrđena je za spoj katehin, te je iznosila 17,30 mg/kg. Sjemene bobice sadržale su signifikantno manju koncentraciju ovog spoja- 9,38 mg/kg. U Stupićevom istraživanju (2016.) katehin je bio najzastupljeniji flavanol, no signifikantnih razlika u koncentracijama nije bilo. Sjemene bobice sadržale su 20,19 mg/kg, a pasoline 18,03 mg/kg.

Epikatehin je bio najmanje zastupljen flavanol. Značajne razlike utvrđene su i za ovaj spoj. Koncentracija u pasolinama iznosila je 5,29 mg/kg dok je u sjemenim bobicama bilo 1,52 mg/kg.

Osim monomernih oblika flavan-3-ola, također su utvrđeni polimerni oblici, procijanidin B1 i procijanidin B2. Za oba spoja značajno veće koncentracije utvrđene su kod neoplođenih bobica u odnosu na oplođene. Sadržaj procijanidina B1 u sjemenim bobicama bio je 3,30 mg/kg dok je kod pasolina utvrđeno 5,69 mg/kg. Procijanidin B2 utvrđen je u većim koncentracijama, tako je u sjemenim bobicama utvrđeno 6,57 mg/kg, a u pasolinama 8,02 mg/kg. Navedeni rezultati razlikuju se od istraživanja Stupića (2016.) u kojem su značajno veće koncentracije

procijanidina B1 i B2 imale oplođene bobice. Također vrijednosti su bile nešto veće, 9,83 mg/kg procijanidina B1 te 21,57 mg/kg procijanidina B2 u sjemenim bobicama. Utvrđen je još i procijanidin B4 za koji su vrijednosti u pasolinama bile 9,24 mg/kg te 2,71 mg/kg u sjemenim bobicama.

Graf 3. Razlike u koncentraciji flavonoidnih spojeva u sjemenim bobicama i pasolinama (mg/kg).



*Prosječne vrijednosti označene različitim slovima ukazuju na značajne statističke razlike između klonskih kandidata (uz p > 0,05), korištenjem Duncan's multiple range testa

Navedene koncentracije flavan-3-ola više su od onih u istraživanju Katalinić i sur. (2010.) utvrđene na sedam bijelih dalmatinskih sorata, koje se uzgajaju u sličnim klimatskim uvjetima kao i Grk. Također, ovi spojevi su okarakterizirani kao potencijalni nosioci gorčine i astrigentnosti vina (Kennedy 2005.). Iz navedenog možemo zaključiti da sorta Grk ima više koncentracije flavan-3-ola: katehina, epigalokatehina i epikatehina od ostalih bijelih dalmatinskih sorata, te da su upravo ti spojevi uzročnici gorčine karakteristične za vino Grk. Budući da su koncentracije flavan-3-ola bile veće u neoplođenim bobicama (pasolinama), razvidno je da razina oplodnje, odnosno udio pasolina, utječe na gorčinu vina Grk.

Tablica 2. Polifenolni sastav i njihov sadržaj u sjemenim bobicama i pasolinama (mg/kg).

	Sjemene bobice	**Pasoline**
Rutin	5,81 b	9,91 a
Kvercetin-3-*O*-glukonorid	10,98 b	18,71 a
Kvercetin-3-*O*-glukozid	88,54 b	197,38 a
Kvercetin-3-*O*-galaktozid	2,73 a	0,00 b
Kemferol-3-*O*-glukozid	9,40 b	14,03 a
Izoramnetin-3-*O*-glukozid	25,08 b	33,63 a
Kaftarna kiselina	17,88 a	8,35 b
Kavna kiselina	3,12 a	1,23 b
Kutarna kiselina	4,47 a	4,41 a
Kumarna kiselina	0,00 b	3,68 a
Fertarična kiselina	10,07 a	5,86 b
Ferulična kiselina	2,66 b	4,38 a
Galna kiselina	10,16 a	9,70 a
Galokatehin	0,00 a	0,00 a
Procijanidin B1	3,30 b	5,69 a
Epigalokatehin	12,63 b	16,77 a
Katehin	9,38 b	17,30 a
Procijanidin B2	6,57 b	8,02 a
Epikatehin	1,52 b	5,29 a
Resveratrol glukozid	2,19 b	3,96 a

*Prosječne vrijednosti označene različitim slovima ukazuju na značajne statističke razlike između klonskih kandidata (uz $p > 0,05$), korištenjem Duncan's multiple range testa

4.4 Organske kiseline

Analizom organskih kiselina utvrđene su vinska, jabučna i limunska kiselina u oplođenim i neoplođenim bobicama (Tablica 3.).

Tablica 3. Organske kiseline sjemenih bobica i pasolina sorte Grk (g/L).

	Vinska	**Jabučna**	**Limunska**
Sjemene bobice	5,98 a	1,91 a	0,26 a
Pasoline	6,58 a	1,43 b	0,29 a

*Prosječne vrijednosti označene različitim slovima ukazuju na značajne statističke razlike između klonskih kandidata (uz p > 0,05), korištenjem Duncan's multiple range testa

Koncentracija vinske kiseline u neoplođenim bobicama bila je veća od one u oplođenim bobicama te iznosila je 6,58 g/L, te 5,98 g/L u oplođenim, no signifikantne razlike nije bilo. Ovi rezultati u skladu su s istraživanjem Preiner i sur. 2012. godine provedenom na istom području. Koncentracije vinske kiseline bile su u rasponu od 5,9 do 7,4 g/L, ovisno o klonu, te je potvrđen jaki stupanj korelacije između udjela pasolina u grozdu i vinske kiseline.

Signifikantne razlike između sjemenih bobica i pasolina utvrđene su kod jabučne kiseline. Koncentracija u sjemenim bobicama bila je 1,91 g/L, dok je u pasolinama utvrđeno 1,43 g/L. Ove koncentracije nešto su niže od onih u istraživanju Preinera i sur. (2012.) no potvrđen je negativan stupanj korelacije udjela pasolina u grozdu na sadržaj jabučne kiseline. Navedene koncentracije također su značajno niže od onih u istraživanju Andabake (2015.) kada je utvrđeno 3,12 g/L jabučne kiseline.

Budući da jabučna kiselina ima najjači utjecaj na percepciju kiselosti u vinu, signifikantno manje koncentracije jabučne kiseline u pasolinama mogu utjecati na smanjenu kiselost vina. Iz navedenog se može zaključiti kako veći udio pasolina u grozdu tj. lošija oplodnja, utječe na manju kiselost vina.

Limunska kiselina najmanje je zastupljena organska kiselina u moštu Grka. Značajnih razlika u koncentraciji između oplođenih i neoplođenih bobica nije bilo. Sjemene bobice sadržale su 0,26 g/L, a pasoline 0,29 g/L. Ove koncentracije limunske kiseline u skladu su s onima u istraživanju Andabake (2015.) kada je u Grku utvrđeno 0,25 g/L.

4.5 Osnovni pokazatelji kvalitete

U tablici 4 prikazani su osnovni pokazatelji kvalitete mošta te razlike između sjemenih bobica i pasolina. Sjemene bobice u prosjeku sadrže veće koncentracije šećera te veću ukupnu kiselost u odnosu na pasoline, no bez značajnih razlika u koncentraciji.

Ukupna kiselost sjemenih bobica iznosila je 7,77 g/L, dok je kod pasolina izmjereno 7,56 g/L. Iako razlika nije u koncentraciji nije signifikantna, ovi rezultati razlikuju se od onih Freca (2014.) i Stupića (2016.) kada ukupna kiselost pasolina bila značajno veća od one u sjemenim bobicama. U moštu je utvrđen relativno nizak sadržaj šećera, kod sjemenih bobica utvrđeno je 80.00 °Oe dok je u moštu od pasolina izmjereno 78,67 °Oe. Ove koncentracije značajno su niže od onih u prošlim istraživanjima (Frec 2014., Preiner 2012., Stupić 2016., Šestanović 1982.) kada su razine šećera u grožđu bile minimalno 20 brix. Ovako niske koncentracije šećera mogu se pripisati obilnim padalinama neposredno prije berbe.

Signifikanta razlika utvrđena je samo za pH vrijednost, koja je iznosila 3,12 kod pasolina te 3,25 kod sjemenih bobica. Iako imaju manju ukupnu kiselost od sjemenih bobica, pasoline imaju veću koncentraciju vinske kiseline koja je zaslužna za nižu pH vrijednost.

Tablica 4. Osnovni pokazatelji kvalitete mošta sjemenih bobica i pasolina sorte Grk

	Ukupna kiselost	**Šećeri**	**pH vrijednost**
Sjemene bobice	7,77 a	80,00 a	3,25 a
Pasoline	7,56 a	78,67 a	3,12 b

*Prosječne vrijednosti označene različitim slovima ukazuju na značajne statističke razlike između klonskih kandidata (uz $p > 0,05$), korištenjem Duncan's multiple range testa

5 Zaključak

U ovom radu utvrđene su razlike najznačajnijih polifenolnih i aromatskih spojeva kod normalno razvijenih sjemenih, te malih besjemenih bobica- pasolina. Također, utvrđene su razlike u osnovnim pokazateljima kakvoće te organskim kiselinama.

Rezultati analize aromatskih spojeva pokazuju značajno veće koncentracije *E*-2-heksanala i linalola u pasolinama dok oplođene bobice sadrže značajno veće koncentracije 2-heksen-1-ola. U ukupnoj koncentraciji aromatskih spojeva značajne razlike između pasolina i sjemenih bobica nije bilo.

Značajne razlike utvrđene su i kod neflavonoidnih spojeva. Pasoline su sadržale značajno veće koncentracije kumarne i ferulične kiseline. S druge strane značajno veće koncentracije kaftarne, kavne i fertarične kiseline utvrđene su u sjemenim bobicama. Jedini stilbenski spoj bio je resveratrol glukozid. Potvrđeno je kako se značajno veće koncentracije navedenog spoja sintetiziraju u pasolinama u odnosu na sjemene bobice.

U pasolinama su također utvrđene značajno veće koncentracije gotovo svih flavonoidnih spojeva osim kvercetin-3-*O*-galaktozida. Visoke koncentracije flavan-3-ola: katehina, epigalokatehina te epikatehina utvrđene su u pasolinama temeljem čega možemo zaključiti kako su flavan-3-oli, odnosno pasoline, nosioci gorčine u Grku.

Značajno veće koncentracije jabučne kiseline utvrđene su u sjemenim bobicama u odnosu na pasoline. Iako značajne razlike nije bilo, viša koncentracija vinske kiseline u pasolinama utjecala je na značajno nižu pH vrijednost pasolina u odnosu na sjemene bobice. U ostalim osnovnim pokazateljima kakvoće značajnih razlika nije bilo.

Temeljem sveukupnih rezultata, možemo zaključiti kako će vino u godinama sa slabijom oplodnjom, odnosno većim udjelom pasolina u grozdu, imati nešto niži alkohol, pH vrijednost te okus kiselosti dok će karakteristična gorčina ove sorte biti nešto izraženija.

6 Popis literature

1. Anonimus 1. (1875). Gospodarski list. Broj 22. Zagreb
2. Anonimus 2. (1897). Gospodarski list. Broj 2. Zagreb
3. Anonimus 3. (1870). Gospodarski list. Broj 32. Zagreb
4. Andabaka, Ž. (2015). *Ampelografska evaluacija autohtonih dalmatinskih sorata vinove loze (vitis vinifera l.).* Doktorska disertacija, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
5. Antić, P. (2012). *Aroma Pošipa. Dipomski rad.* Zagreb: Prehrambeno-Biotehnološki fakultet.
6. Batistić, I. (2017). *Utjecaj hladne maceracije na kakvoću vina Grk.* Zagreb.
7. Betes-Saura C., A.-L. C.-R. (1996). Phenolics in white free run juices and wines from Penedes by High-performance liquid chromatography: Changes during vinification . *J. Agric. Food Chem*, 44: 3040–3046.
8. Boselli E., M. M. (2006). Phenolic composition and quality of white d.o.c. wines from Marche (Italy). *Anal. Ch. Act.*, 563: 93-100.
9. Darriet, P. T. (1993). Mise en évidence dans le raisin de Vitis vinifera (var. Sauvignon) d'un précurseur de la 4-mercapto-4-méthyl pentan-2-one. *C. R. Acad. Sci. (Paris), s´erie 3, 316,*, 1332-1335.
10. Darriet, P., Tominaga, T., Lavigne, V., Boidron, J.-N., & Dubourdieu, D. (1995). Identification of a powerful aromatic component of Vitis vinifera L. var. sauvignon wines: 4-mercapto-4-methylpentan-2-one. *Flavour and Fragrance Journal*, 385-396.
11. Ferc, V. (2014). *Utjecaj izbora oprašivača na mehanički sastav i kakvoću grožđa sorte Grk bijeli u 2012. godini. Diplomski rad.* Zagreb: Agronomski fakultet sveučilišta u Zagrebu.
12. Fischer, U. S. (2000). Impact of fermentation technology on the phenolic and volatile composition of German red wines. *International Journal of Food Science and Technology*, 81-94.
13. González-Barreiro, C. R.-O.-G.-G. (2013). Wine aroma compounds in grapes: A critical review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 55:202-218.
14. Hatanaka, A. (1993). The biogeneration of green odour by green leaves. *Phytochem. 34*, 1201-1218.
15. Heintl, R. v. (1821). *Der Weinbau des österreichischen Keiserthums.*
16. Ivetac, V. (2016). *Utjecaj oplodnje na sadržaj polifenola u grožđu cv. Grk.* Zagreb.
17. Jeromel, A. (2014). *interna skripta, predavanja, modul:Kemija mošta i vina AFZ2013.*
18. Jouanneau, S. (2011). *Survey of aroma compounds in Marlborough Sauvignon Blanc Wines-Regionality and a small scale winemaking.* The University of Auckland.
19. Katalinić V., S. M. (2010). Polyphenolic profile antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 Vitis vinifera varietas grown in Dalmatia (Croatia). *Food chemistry 119*, 715- 723.

20. Kennedy J.A., S. C. (2005). Grape and wine phenolics: hystory and perspective. *Am. J. Enol. Vitic*, 57(3).

21. Kennedy, J. A. (2001). Composition of grape skin proanthocyanidins at different stages of berry development. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 4383-4389.

22. Kumušta M., P. P. (2012). Phenolic profile in Czech white wines from different terroirs. *Food Sci. Biotechnol.* , 21(6): 1593- 1601.

23. Lea A. G. H., B. P. (1979). The procyanidins of white grapes and wines. *Am. J. Enol. Vitic*.

24. Lešić, J. (2011). *Ampelografske karakteristike klonskih kandidata sorte Grk (V.Vinifera L.) u pokusnom nasadu 'Baštica' u 2010. godini. Diplomski rad.* Zagreb: Agrnomski fakultet sveučilišta u Zagrebu.

25. Lisičar, M. (2013). *Određivanje primarnih aroma u moštu bijelih sorti grožđa. Završni rad.* Zagreb: Prehrambeno-biotehnološki fakultet.

26. Maletić, E. P. (2004). Zinfandel, Dobričić, and Plavac Mali: The Genetic Relationship among Three Cultivars of the Dalmatian Coast of Croatia. Am. J. *Am. J. Enol. Vitic. 55*, 174-180.

27. Mirošević Nikola, K. K. (2008). *Vinogradarstvo.* Zagreb.

28. Mirošević, N. (2012). *Lumbarajski Grk- od psefizme do naših dana.* Zagreb.

29. Paladin, I. (2016). *Usporedba aromatskog profila klonskih kandidata najvažnijih bijelih autohtonih sorata vinove loze u Dalmaciji.* Zagreb.

30. Perrone G., N. I. (2007). Positive correlation between high levels of ochratoxin A and resveratrol-related compounds in red wines. *J. Agric. Food Chem.*, 55: 6807–6812.

31. Preiner D., K.-K. J. (2012). Intravarietal Agronomic Variability in Croatian Native Vitis vinifera L. Cultivar Grk with Female Flower and Seedless Berries. *Am. J. Enol. Vitic. 63(2),* 291-295.

32. Puhelek, I. (2016). *Sastav aromatskih spojeva, aminokiselina i organskih kiselina u vinima klonskih kandidata kultivara Kraljevina. Doktorski rad.* Zagreb: Agronomski fakultet sveučilišta u Zagrebu.

33. R.S., J. (2008). *Wine science – principles and applications.* Elsevier, Canada.

34. Ramchandani A.G., R. S. (2010). Evaluation of antioxidant and anti- initiating activities of crude polyphenolic extracts from seedless and seeded Indian grapes.. *Food chem 119*, 298-305.

35. Ramey, D. B. (1986). Effects of skin contact temperature on Chardonnay must and wine composition. *Am. J. Enol. Vitic.* , 37, 99-106.

36. Rentzsch M., W. A. (2009). *Wine Chemistry and Biochemistrys.*

37. Ribereau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Duboutdieu, D. (2006). *Handbook of Enology, the chemistry of wine stabilization and treatments, second edition.* Bordeaux: John Wiley & Sons.

38. Robinson, A. L., Boss, P. K., Solomon, P. S., Trengove, R. D., Heymann, H., & Ebeler, S. E. (2014). Origins of Grape and Wine Aroma. Part 1. Chemical Components and Viticultural Impacts. *Am. J. Enol. Vitic. 65:1*.

39. Rodrigez Montealegre R., R. P. (2006). Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape Vitis vinifera varieties grown in a warm climate . *J. Food Comp. An.*, 19: 6-7.

40. Romeyer, F. J. (1983). The browning capacity of grapes. 3. Changes andimportance of hydroxycinnamic acid-tartaric acid esters during development and maturation of the fruit. *J. Agric. Food Chem.* , 31:346-349.

41. Sala, C. B. (2004). *Factors affecting the presence of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in grapes and wines. A review.* Universitat Rovira i Virgili.

42. Šestanović, M. (1982). *Ampelografske i tehnološke karakterstike sorte Grk bijelu u uvjetima položaja polje-Lumbarda. Diplomski rad.* Zagreb: Agronomski fakultet svučilišta u Zagrebu.

43. Šimon, S. P. (2006). *Genetic similarity among Croatian and Greek grapevine cultivars assessed by SSRs.*

44. Singleton V.L., N. A. (1976). Wine flavor and phenolic substances. In: 'Phenolic Sulfur and Nitrogen Compounds in Food Flavors'. *ACS Washington: DC*, 47-70.

45. Smith, P. W. (2012). *Identification of the major drivers of „phenolic“ taste in white wines.* The Australian wine researck institute.

46. Stupić, D. (2016). *Reducirana oplodnja cv. Grk (V.vinifera L.) i njen utjecaj na kvalitetu grožđa i vina. Doktorska disertacija.* Agronomski fakultet sveučilišta u Zagrebu.

47. Sun Qun, M. J. (2011). Comparison of Odor-Active Compounds in Grapes and Wines from Vitis vinifera and Non-Foxy American Grape Species. *Journal of Agricultural Food Chemistry*.

48. Vilanova M., S. M. (2009). Environmental and genetic variation of phenolic compounds in grapes (Vitis vinifera) from northwest Spain. *J. Agric. Sci.* , 147: 683-697.

49. Wilson, B. S. (1984). Changes in free and glycosidically bound monoterpenes in developing muscat grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 32,4: 919-924.

50. Zoecklein, B. K. (1995). *Wine Analysis and Production.* New York: Chapman & Hall.

51. http://www.apprrr.hr/vinogradarski-registar.

52. Državni hidrometeorološki zavod- klimatski podaci.