

Romániában termesztett borszőlők íz- és aromaanyagainak a tanulmányozása

Study of the flavors and volatile compounds of wine grapes grown in Romania

STELCZNER Norbert

robert.stelczner@stud.ubbcluj.ro

Babes-Bolyai Tudományegyetem, Kémia és Vegyészmérnöki kar

Vezető tanára: Dr. GÁL Emese

Kivonat

Kutatómunkánk során különböző borszőlők folyadék-folyadék extrakcióját végeztük el, amely során a gyümölcs héjából és pépjéből sikeresen azonosítottuk és kvantifikáltuk azon szerves vegyületeket, amelyek a szőlők, valamint a belőle készülő borok ízéért felelősek. Laboratóriumi munkánk során standard vegyületek kalibrációs görbét vettük fel, amelyek alapján a kvantifikálást végeztük. Kidolgoztunk egy gázkromatográfiatömegspektrometriás analitikai módszert, amellyel a vizsgált szőlő mintákban átlagban mintegy 50 vegyületnek a mennyiségi meghatározását sikerült megvalósítani. Az általunk vizsgált szőlőfajták mindegyikében megtalálhatóak az aromát, illetve ízt biztosító vegyületek, úgy, mint az alkoholok, savak, aldehidek, terpének, meghatározó paraméter az a koncentráció béli különbség.

Kulcsszavak: folyadék-folyadék extrakció, GC-MS, aroma anyagok, szőlő

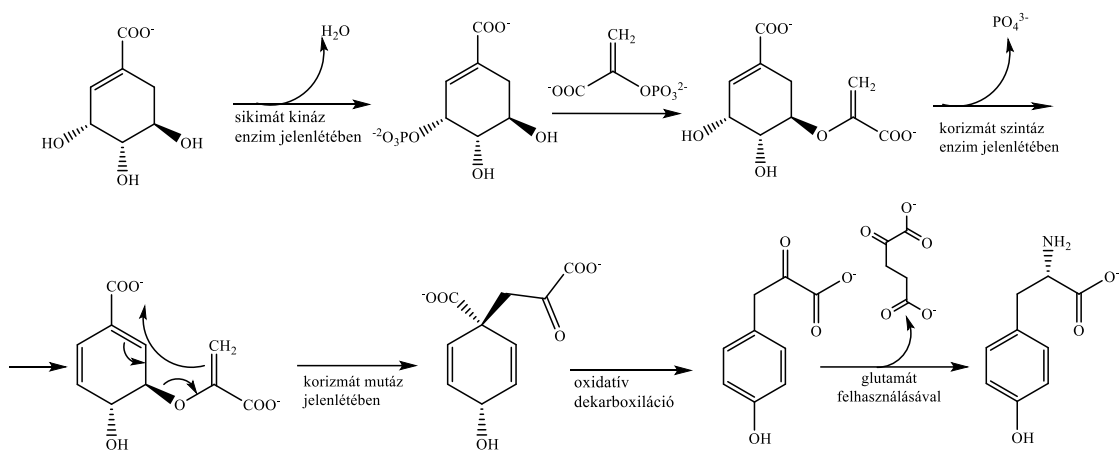
1. BEVEZETŐ

1.2. A szőlő felépítése kémiai szempontból

A szőlő az egyik legrégebb óta termesztett gyümölcs, két nagy csoportra osztható: csemegeszőlő és a bortermelő szőlő (*Vitis vinifera*). Legismertebb felhasználása a borkészítésben van, ezért ennek a csoportnak a tanulmányozása sokkal gyakoribb. A szőlő, és ez által a bor ízét is az aromavegyületek határozzák meg, éppen ezért több kutatást is végeztek és végeznek mai napig, annak érdekében, hogy ezeket a vegyületek elemezzék és meghatározzák szerepüket úgy a szőlő, mint a bor szempontjából. Számos vegyületcsaládot azonosítottak, amelyek felelősek a szőlők ízvilágáért. Az észterek és a terpének például a zamatos, virágos karakterhez járulnak hozzá, míg a hat szénatomos aldehidek és alkoholok a zöld leveles aromáért. Ezek mellett a 13 szénatomot tartalmazó aromás vegyületek általában hozzájárulnak a borok és szőlők bogyós, dohány, méz, balzsamos és ibolya aromáihoz [1]. A legfontosabb aromavegyületek a gyümölcs bogyópépben és a héjban találhatóak szabad vagy kötött glikozidok formájában, mint a szőlő másodlagos metabolitjai, melyeket kemo-taxonómiai célokból is tanulmányoznak, ugyanis profiljuk jellemző a szőlő különböző fajtáira. A kötött glikozidos aromavegyületek nem illékonyak, ezért közvetlen módon nem járulnak hozzá a szőlő ízéhez, viszont hidrolízissel, a borkészítés során illékony formává alakulnak, így növelve a bor aromás jellegét. A borkészítés során a szőlőben található szabad és kötött vegyületek a borba kerülnek, és a fermentáció során létrejött vegyületekkel együtt alkotják a termék ízvilágát [2]. A gyümölcsben megtalálható vegyületek érzékelhetősége függ a koncentrációtól, tehát nem minden vegyület járul hozzá a szőlő ízéhez, mivel csak néhány van elégségesen nagy koncentrációban. Annak érdekében, hogy meg tudjuk mérni azt, hogy melyik vegyület milyen mértékben vesz részt a szőlő eszenciájában, bevezették az úgy nevezett „szag-aktivitási értéket”, amely egy arány az adott anyag koncentrációja és szagküszöb-koncentrációja között. A szagküszöb-koncentráció az a minimális koncentráció egy vegyület esetében, amelyet az emberi orr már érezni képes. Egy anyag egyénileg akkor járul hozzá a bor aromájához, amikor ez az érték nagyobb, mint 1 [3], [4].

A szőlőbogyó másodlagos metabolitjaiból származó aromavegyületek, amelyek illékony szerves anyagok, többek között terpének (monoterpének, szeszkviterpének és különböző szénatomszámot tartalmazó aromás vegyületek), a sikiminsavból (1. ábra) nyert származékok (illékony fenolok vagy benzol származékok), 6

szénatomos alifás vegyületek (aldehidek és alkoholok), illékony tiolok, (merkaptánok) és metoxi-pirazinok. A lipoxigenáz enzimmel katalizált zsírsavakból hidroperoxid termékek keletkeznek, melyeket a hidroperoxi-liáz lebontja 6 szénatomos alkoholokká, aldehidekké és észterekké, ezen molekulák az egyik legfontosabb forrásai a szőlő és a bor aroma és íz anyagainak. Ezen vegyületek jelenléte sok külső hatástól függ, ilyen tényezők első sorban a szőlő fajtája, és érettsége, majd az időjárási körülmények, az öntözés, a talajtípus, a napsütés, a hőmérséklet és a földrajzi elhelyezkedés. Ezek mellett pedig nagy befolyással rendelkezik még a szőlőtermesztési tevékenység is, vagyis a levelek eltávolítása, a növekedésszabályozó szerek, az ültetvények elhelyezése, a szabályozott öntözéshiány stb. [5], [6], [7], [8].



1. ábra
| Sikiminsav reakció út

A növekedési periódusban a szőlőfürt klorofilltartalmú növényként viselkedik, vagyis szénhidrátok és ezekből származó szerves anyagok képzésére használja fel a levegő szén-dioxid-tartalmát, a napfény 600-630 nanométer hullámhosszúságú sugarai hatására, amely viszont zsendüléskor megváltozik. Ez a folyamat hirtelen történik és mind a kinézete, mind az összetétele megváltozik a bogyónak. Többek között elveszti klorofilltartalmát és a flavon és antocianin pigmentek hatására színesedni kezd. A szőlőbogyó a növénynek az a része, ahol a cukor felhalmozódik, ezért a cukrok már a virágzáskor elkezdenek beáramolni a bogyóba, bár ekkor még csak lassan, viszont zsendüléskor ez a folyamat jelentősen felgyorsul és a glükóz, illetve fruktóz tartalom akár húszszorosára is nőhet. A bogyó savtartalma az érés folyamán csökken ez a következő folyamatoknak köszönhető: a bogyóban a víztartalom nő, ez által csökkentve a savkoncentrációt, a növény a légzés során lebontja a savakat, illetve a gyökerekből érkező bázisok látszólag lekötik, a legfontosabb szerves savak a borkósav, az almasav és a citromsav.

A szőlő héj kémiai összetételét nézve, legjelentősebb alkotó részei a sárga és vörös pigmentek, azaz a flavonok, amelyek a sárga színért felelős pigmentek, és az antociánok, a vörös pigmentek, ezek általában csak a héjban találhatók meg, bár ritka esetben a bogyóhús is lehet színes, mint például festőszőlők esetében, valamint az elsődleges aroma anyagok.

A szőlőmag összetételére jellemző: 25-45 % víz, 34-36 % szénhidrát, 10-20 % olaj, 4-6 % cserzőanyag, 4-7 % nitrogén tartalmú vegyület, 2-4 % ásványi anyag, 1% zsírsav, viszont a szőlőmagok legfontosabb fenolos alkotórészei a leukoantocianinok [9].

2. AZ ILLÓANYAGOK EXTRAKCIÓS MÓDSZEREI ÉS HASZNÁLT KROMATOGRÁFIÁS MÓDSZEREK

A szőlő igen nagyszámú és nagyon sokféle szerves származékot tartalmaz, ezért több előkészítési módot is lehet alkalmazni, annak függvényében, hogy milyen célvegyület kimutatása a cél. A minta-előkészítés során a mátrix zavaró hatását a minimálisra kell csökkenteni, a célvegyületeket felszabadítjuk és szeparáljuk. A tiszta minta elkészítése azért hasznos lépés, mert így a szennyeződések nem terhelik feleslegesen az elválasztástechnikai berendezéseket, illetve így biztosítva van a műszerek védelme. A szerves anyagokat a mintából

extrakciós módszerekkel lehet kinyerni. Az extrakció lehet folyadék-folyadék extrakció, szilárd fázison történő extrakció, vagy szilárd fázisú mikroextrakció, stb [10].

A folyadék-folyadék extrakciós módszer előnye, hogy a szerves kivonat egyenesen alávethető kvantitatív analitikai eljárásoknak, mint például gáz- vagy folyadék kromatográfiának. A másik előnye abból fakad, hogy mivel régóta használatos módszer, ezért nagyon nagy irodalom áll rendelkezésre, így könnyebb kiválasztani a szerves oldószert, a megfelelő pH-t és a reagensek koncentrációját. Információt ad arról, hogy ezek hogyan befolyásolják a szelektivitást, illetve a kivonat mennyiségét. Hátránya, hogy főképp a természetes eredetű minták, mint például a szőlő, esetében az elválasztás lassú, és sok a szerves oldószer hulladék termelése során nyerhető analízisra használható minta [11], [12], [13].

A szilárd fázison történő extrakció (Solid Phase Extraction, SPE) a folyadék-folyadék extrakciós módszer helyettesítésére fejlesztették ki. Ez a módszer egyszerre tisztítja és bekonzentrálja a mintát, megfelelő oldószer használata esetén. A célvegyületeket szilárd fázison választjuk el. Megfelelő körülmények között a feloldott minta kölcsönhatásba kerül a szilárd fázissal, melyhez a mintha részecskéi különböző erősséggel kötődnek. Fontos, hogy a szilárd fázis megfelelően legyen megválasztva és egyensúlyban legyen a minta oldószereivel. Ez után a mozgó fázissal (oldószer, eluens) a minta összetevői elválaszthatók egymástól. Ennek a módszernek, SPE-nek, két változata ismeretes. Ez egyik módszer alapjául szolgál, a célvegyületek megkötődése a szilárd fázison, majd a szennyeződések lemosódása az oldószer folyamatos áramoltatása során. Ez után, megváltoztatva az oldószert, egy második lépésbe a célvegyületeket lemosuk a szilárd fázisról. A másik változatban úgy választjuk meg a szilárd fázist, hogy ahhoz a célvegyületek ne kötődjenek, hanem az oldószerral távozzanak, míg a szennyeződések visszamaradnak. Az első módszer előnye, hogy a minta térfogata elég nagy lehet, hátránya viszont, hogy több lépésből áll. A második módszer előnye az, hogy mivel csak egy lépésből áll, ezért csak egy oldószere van szükség, viszont hátrány, hogy a célvegyületek felhígulva lehet csak visszanyerni. Annak ellenére, hogy a módszer egyszerű, a jól kivitelezhetőség érdekében több szempontot is figyelembe kell venni, mint például a megfelelően kiválasztott állófázis fontossága, ennek kapacitása és alkalmazhatósága a minta mennyiségével és koncentrációjával szemben.

A szilárd fázisú mikroextrakció (Solid Phase MicroExtraction, SPME) a szilárd fázison történő extrakció egy határesetének tekinthető. A szilárd fázison történő elválasztása különböző anyagkeverékeknek, oldatok és szilárd anyagok gözterének elemzésére is alkalmazható. Az SPME legfontosabb eleme az ömlesztett kvarcszál, melynek felületére polimer folyadékfilmet rögzítenek, ez a rögzített állófázis. Ezt bemerítik a mintába állandó kevertetés mellett, majd erre abszorbeálódnak a szerves komponensek. Ezt követően a kvarcszálat a gázkromatográf injektorába helyezik, ahol a szerves komponensek deszorbeálódnak. Ha az oldathoz só adunk és beállítjuk a megfelelő pH-t, azzal felgyorsíthatjuk a komponensek abszorpcióját a kvarcszára.

A módszer előnye, hogy gyorsan előkészíthető vele a minta, nincs szükség oldószere, nagyon szelektív, illetve kevés mintára van szükség. Mivel a szőlők illóanyagainak vizsgálatára általában gázkromatográfiát használnak, ezért az SPME módszer alkalmazása a minta-előkészítés során széles körben alkalmazott, mivel gyors és pontos kvantitatív analízis végezhető vele.

Az ily módon nyert mintákat kétféle képen lehet analízálni, annak függvényében, hogy milyen vegyületcsalád a célvegyület. A szőlő illóanyagainak elemzésére ajánlott a gázkromatográfiás eljárás, amely estében, ha a detektor szerepét tömegspektrométer tölti be, akkor GC-MS-ről beszélünk. A polifenolok, illetve az antociánok esetében a nagyhatékonyságú fordított fázisú folyadékkromatográfia (RP-HPLC) ajánlott, mivel ezek a vegyületek csökkent illékonysággal rendelkeznek, amely a gázkromatográfia alkalmazásánál alapfeltétel.

3. GYAKORLATI RÉSZ. A SZŐLŐ MINTÁK ELŐKÉSZÍTÉSE ÉS ANALÍZISE

A szüretet követően a mintákat -20°C tároltuk a feldolgozásig. A szőlőbogyók héját és magját elválasztottuk a péptől, majd ezeket külön tárolva. Laboratóriumi analízisnek 4 féle szőlőt használtunk, szeptember második felében a szőlőfürtök teljes érettségi állapotában, a kolozsvári USAMV Mezőgazdasági kar jóvoltából. Miután a minták kiolvadtak, a szőlők héját 48 órán keresztül a következő oldatban kevertettük, Erlenmeyer-lombikokban lezárva, az oldat tartalmazott 5 g/L borkósavat, 2 g/L nátrium-azidot és 10 g/L PVPP-t (polivinil-pilipirrolidon), pH-ja pedig 3,2 volt. Két nap elteltével az oldatokat leszűrtem gravitációs szűrést alkalmazva, majd a szűrleteket extraháltam diklórmétánnal és a szerves fázisokat argon gáz alatt elpárologtattam, így megkapva a szabad formában jelen levő illóanyagokat. A mintákhoz végül mindkét esetben 200 µL diklórmétánt adtunk és ezek lettek elemezve GC-MS segítségével. A bogyópépeket kiolvadás után egy órán keresztül kevertettük mágneses keverőn egy 2 g/L-es nátrium-azid oldatban, Erlenmeyer-lombikokban. Ez után 15 percig centrifugáltattuk minden oldatot 6000 fordulat/percen, majd 10-10 mL diklórmétánnal extraháltuk

őket és a szerves fázisokat ebben az esetben is elpárologtattuk argon gáz alatt, végül 200 µL diklórmetánt hozzájuk adva lettek elemezve GC-MS használatával.

Az analízis (GC-MS) során a következő paramétereket alkalmaztuk: oszlop a Carbowax típusú (DB WAX) Agilent, 30 m x 0,32 mm ID és 0,50 µm film vastagsága. A hordozó gáz 6,0 He 1.7 mL/min áramlási sebességgel volt használva. A minta injektálási paraméterek: 250°C injektor hőmérséklete, az ion forrás hőmérséklete 220°C, az interface hőmérséklete 250°C. Az oszlop hőmérsékleti programja a következő volt: 40°C (5 min), majd 4°C/min felfűtési sebességgel 220°C (15min). Injektált mennyiség: 1 µl (a fecskendő térfogata 10 µl) Injektálás módja: splitless.

A tömegspektrométer (MS Kvadrupól) analizátor T=230°C, MS ionforrás T=230°C (EI 70 eV), 35–500 m/z scan/s (TIC, MIC).

A következő táblázat összefoglalja, a felhasznált mennyiségeket az adott szőlőfajtából:

1. táblázat A felhasznált minták tömege

A szőlő fajtája	A héj tömege (g)	A pép tömege (g)
<i>Merlot</i>	18,810	17,111
<i>Pinot Noir</i>	18,982	18,219
<i>Shiraz</i>	13,083	59,614
<i>Kadarka (Cadarcă)</i>	19,836	46,488

A GC-MS analízis során a detektor által kapott spektrumokat úgynevezett GC-MS Postrun Analysis program segítségével dolgoztuk fel. A program lehetőséget nyújtott a detektor által kapott jelek integrálására és a kiintegrált jelek azonosítására a NIST147, és 27 adatbázisok alapján.

A szerves anyagok mennyiségi meghatározásának az érdekében kalibrációs görbe elkészítésére volt szükség, ami a külső standard módszerével történt. Külső standardként a következő vegyületeket alkalmaztuk: 2-feniletanol, etil-dekanoátot, és butirolaktont, és belső standardnak 1-oktanolt használtunk. A kalibrációs görbét 5 pontban vettük fel, öt ismert koncentrációjú standard oldatnak határoztuk meg a területét. A kalibrációs görbe a terület- koncentráció függvénye. A kalibrációs görbék egyenletét 2. táblázat foglalja össze, melyet felhasználva meghatároztuk az azonosított vegyületek koncentrációját.

2. táblázat. A lineáris regresszió adatai.

Standard anyag	Intercept	Slope	R ²	Koncentráció tartomány (µg/L)
<i>Butirolakton</i>	-0,8469	-0,0152	0,9991	30-62000
<i>2-fenil etanol</i>	-0,2280	-0,0320	0,9972	64-12900
<i>Etil dekanoat</i>	-0,2282	-0,0015	0,9954	48-15000
<i>Isoamil alkohol</i>	0,0388	0,00038	0,9971	31-63000

A KAPOTT EREDMÉNYEK KIÉRTÉKELÉSE

Az első minta a Merlot volt, amely a nagy kékszőlő-fajták csoportjába tartozik, a vörösborszőlő-fajták egyike, bogyója nagy, vékony héjú. Ebből a fajtából készült bor sötét vörös, közepesen testes gyümölcsös kissé vaníliás tónusú. A fent leírt minta előkészítés alapján lett feldolgozva, az eredmények a 3-as táblázatban vannak összefoglalva.

3. táblázat. A Merlot szőlő szabad és kötött íz- aroma anyagainak a mennyiségi analízise

Merlot Alkoholok	A héjában, c (µg/L)		A pépben, c (µg/L)
	Szabad formában	Kötött formában	
1-hexanol	13,58±1,35	3,82±0,81	1,25±0,12
3-hexén-1-ol	6,21±0,03	1,40±0,10	-
(E)-2-hexén-1-ol	26,29±0,73	7,54±1,29	1,85±0,01
(Z)-2-hexén-1-ol	0,79±0,16	-	-
2-etil-1-hexanol	6,88±0,14	3,13±0,88	-
terpineol	2,69±0,41	0,50±0,07	-
2-fenil-2-propanol	17,85±0,15	3,77±1,22	-
benzil-alkohol	36,32±0,74	19,94±6,35	4,49±0,07
1-dodekanol	2,23±0,34	-	-
1-hexadekanol	5,84±0,60	-	-
1-eikozanol	4,05±0,57	-	-
2-hexil-1-dekanol	118,39±1,47	-	-
fenil-etil-alkohol	-	1,61±0,80	-
2-butil-1-oktanol	-	2,54±0,72	-
Savak			
propánsav	-	4,07±0,77	-
hexánsav	12,86±0,005	5,56±2,07	-
2-hexénsav	61,04±0,35	3,30±1,01	-
oktánsav	6,63±0,11	0,91±0,04	-
nonánsav	8,36±0,30	0,93±0,26	-
benzoesav	7,49±0,47	24,73±5,58	-
4-(dodeciloxi)-benzoesav	15,97±1,16	-	-
transz-fahéjsav	136,34±3,36	15,64±7,59	-
tetradekánsav	90,84±5,65	-	-

Az alkoholok, a szerves savak és szénhidrogének nagy része már szabad formában is kimutathatóak, nagy mennyiségben van jelen a 2-hexén-1-ol (Z és E), a benzil alkohol, valamint a 2-hexil-dekanol. A 2-hexén-1-ol (E) jelenléte az irodalmi adatok alapján az α -linolénsav enzimatis, illetve levegő oxigénjének a hatására történő oxidáció terméke. Az 1-hexanol a zöld leveles aromáért felelős alkohol. A C6-os alkoholok, savak, valamint a 2-hexénal úgy szabad, mint kötött formában megtalálhatóak és nagyrészt csak a szőlő héjában.

Sikimin sav származékai is megtalálhatóak úgy kötött, mint szabad formában (benzil-alkohol, vanillin, fahéjsav stb.).

Az előző mintához, Merlot szőlő, képest a Pinot Noir a szerves sav készlete sokkal kifejtettebb, nagyobb mennyiségben és számban vannak jelen úgy kötött, mint szabad állapotban. Az alkoholok esetében megjelenik fenil-etil alkohol, amely egy enyhe rózsás illatot eredményez a szőlőnek, illetve a benzil alkohol, amely egy aromás jelleggel bővíti az aromavilágát. A kötött aldehidek mennyisége számottevően magasabb, mint a Merlot szőlő esetén, amely a must enzimatis erjesztésénél kap nagy szerepet, a bor ízvilágát gazdagítva.

4. táblázat. *A Pinot Noir szőlő szabad és kötött szerves sav anyagainak a mennyiségi analízise*

Pinot Noir Savak	A héjában, c (µg/L)		A pépben, c (µg/L)
	Szabad formában	Kötött formában	
hangyasav	1,96±0,31	-	-
ecetsav	-	5,55±0,12	-
propánsav	-	5,71±0,07	-
hexánsav	35,85±3,47	13,59±1,78	-
heptánsav	5,99±2,04	-	-
2-hexénsav	26,21±1,86	10,64±1,31	-
oktánsav	9,20±2,17	1,09±0,12	-
nonánsav	15,96±1,08	1,85±0,25	-
benzoesav	15,11±0,93	4,30±0,98	-
tetradekánsav	23,71±0,48	54,43±34,43	11,77±4,63
n-hexadekánsav	410,75±41,45	-	-
2-hepétnsav	-	0,81±0,21	-
fenil-glioxilsav	-	1,24±0,33	-
4-metil-benzoesav	-	2,99±0,45	-

A Shiraz szőlő esetében a C6-os vegyületek (alkohol, sav, aldehid) úgy a héjban, mint a pépben jelentős mennyiségben megtalálhatóak. Az összes mintához viszonyítva az azonosított alkoholok úgy számban, mint mennyiségben ebben a mintában érik el a legmagasabb értéket. A monoterpének családjához tartozó borneol, fenkol és a nerol a citrusos, üde aromát kölcsönöznek a szőlőnek.

5. táblázat *A Shiraz szőlő szabad és kötött íz- aroma anyagainak a mennyiségi analízise*

Shiraz, Alkoholok	A héjában, c (µg/L)		A pépbenc (µg/L)
	Szabad formában	Kötött formában	
2-heptin-1-ol	2,19±0,16	-	-
(Z)-2-pentén-1-ol	1,58±0,23	0,90±0,64	0,49±0,10
1-hexanol	36,04±1,87	13,16±9,18	73,11±16,48
(Z)-3-hexén-1-ol	184,30±10,11	108,09±69,14	0,50±0,15
(E)-2-hexén-1-ol	10,03±0,16	7,41±5,57	72,85±17,12
2-etil-1-hexanol	13,72±0,67	2,29±2,06	-
3-metil-1-butanol	17,49±0,74	-	-
fenkol	2,41±0,06	-	-
2-fenil-2-propanol	16,63±0,87	3,99±2,96	2,74±1,12
benzil-alkohol	55,24±2,85	55,12±38,28	4,73±1,86
2-hexil-1-dekanol	153,73±3,40	-	-
fenil-etil-alkohol	-	5,97±3,71	-
2-fenoxi-etanol	4,32±0,24	3,02±2,46	2,33±0,43
3-metoxi-benzil-alkohol	-	1,63±1,33	-
2,4-hexadién-1-ol	-	-	0,92±0,26
2-etil-4-metil-pentanol	-	-	2,19±0,68

A kadarka szőlő esetén a C6-os vegyületek (alkoholok, savak, aldehidek) mind megtalálhatóak a szőlő héjában kötött és szabad formában. A monoterpének fűszeres üde aromát kölcsönöznek a szőlőnek. A szőlő pépében a többi mintához hasonlítva a legkevesebb íz és aromaanyagot sikerült kimutatni (2. Ábra).

- [9] Ju, Y-l., Liu, M., Tu, T-y., Zhao, X-f., Yue, X-f., Zhang, J-x, Fang, Y-l., Meng, J-f., *Effect of regulated deficit irrigation on fatty acids and their derived volatiles in 'Cabernet Sauvignon' grapes and wines of Ningxia, China*, Food Chemistry, **2017**, 4
- [10] Ivana Tomaz, Nera Huzanic, Darko Preiner, Domagoj Stupic, Zlejkó Andabaka, Edi Maletic, Jasminka Karoglan Kontic and Danijela Asperger, *Extraction Methods of Polyphenol From Grapes: Extractions of Grape Polyphenols*, Polyphenols in Plants (Second Edition), **2019**, 152
- [11] Wang Wu, Khalil Úr Rehman Muhammad, Feng Jiao, Tao Jianmin, *RNA-seq based transcriptomic analysis of CPPU treated grape berries and emission of volatile compounds*, Journal of Plant Physiology, **2017**, 155-166
- [12] Frederick F. Cantwell, Manon Losier, *Comprehensive Analytical Chemistry XXXVII*, Elsevier Science B. V., **2002**, 297-301
- [13] Hui-Hsien Yang, Ewelina P. Dutkiewicz, Pawel L. Urban, *Kinetic study of continuous liquid-liquid extraction of wine with real-time detection*, Analytica Chimica Acta, **2018**, 1-7