

# Analiza osnovnih sastojaka kakvoće domaćeg bijelog vina vrgoračkog vinogorja

---

**Vuković, Matea**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2016**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:073705>

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

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



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Biotehnologija**

**Matea Vuković**

6799/BT

**Analiza osnovnih sastojaka kakvoće domaćeg bijelog  
vina vrgoračkog vinogorja**

**ZAVRŠNI RAD**

**Modul: Biotehnološki aspekti proizvodnje vina**

**Mentor: Dr. sc. Vesna Zechner - Krpan, red. prof.**

**Zagreb, 2016.**

## DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Biotehnologija

Zavod za biokemijsko inženjerstvo

Laboratorij za biokemijsko inženjerstvo, industrijsku mikrobiologiju i tehnologiju slada i piva

### **Analiza osnovnih sastojaka kakvoće domaćeg bijelog vina vrgoračkog vinogorja**

**Matea Vuković, 6799/BT**

**Sažetak:** Cilj završnog rada bio je opisati proizvodnju, kemijski sastav grožđa i bijelog vina te analizirati osnovne parametre kakvoće domaćeg bijelog vina iz vinogorja Vrgorac. Vino je proizvedeno u podregiji Dalmatinska zagora tradicionalnim postupkom u privatnoj vinariji od sorata Zlatarica, Medna i Kuč. Analiza vina je provedena kemijski i kromatografski. Analizirani su osnovni parametri kakvoće: ukupni šećer, alkohol, slobodni, vezani i ukupni sumpor te hlapive i ukupne kiseline. Papirnom kromatografijom dokazano je prisustvo mliječne, vinske i jabučne kiseline. Tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC) u vinu su detektirani etanol, glicerol i mliječna kiselina. Rezultati analiziranog domaćeg bijelog vina su u skladu s vrijednostima Pravilnika o vinu iz 1996. godine.

**Ključne riječi:** bijelo vino, HPLC, kemijska analiza, papirna kromatografija, vinogorje Vrgorac

**Rad sadrži:** 43 stranice, 10 slika, 3 tablice, 23 literaturna navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** Prof. dr. sc. Vesna Zechner-Krpan

**Rad predan:** lipanj, 2016.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Undergraduate studies Biotechnology

Department of Biochemical Engineering

Laboratory of Biochemical Engineering, Industrial Microbiology, Malting and Brewing Technology

### The analysis of basic quality parameters of domestic white wine from Vrgorac vineyards

Matea Vuković, 6799/BT

**Abstract:** The goal of my final work was to describe production, chemical composition of grape and white wine and additionally to analyse basic quality parameters of domestic white wine from Vrgorac vineyards. The wine is traditionally produced in a household of subregion Dalmatinska zagora from domestic grapes such as Zlatica, Medna and Kuč. Analysis of wine was done by chemical and chromatographical methods. The basic parameters were analysed such as: total sugars, alcohol, sulphur and volatile and total acids. Thin-layer chromatography revealed the presence of lactic, tartaric and malic acid. High performance liquid chromatography (HPLC) detected in analysed wine ethanol, glycerol and lactic acid. The results of analysed domestic white wine are in accordance with the values from the Croatian wine regulations from year 1996.

**Keyword:** white wine, chemical analysis, HPLC, thin-layer chromatography, Vrgorac vineyard

**Thesis contains:** 43 pages, 10 figure, 3 tables, 23 references

**Original in:** Croatian

**Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** PhD. Vesna Zechner-Krpan, Full Prof.

**Thesis delivered:** June, 2016.

# Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	2
2.1. Sorte vrgoračkog vinogorja.....	2
2.1.1. Vrgoračko vinogorje.....	2
2.1.2. Zlatica bijela.....	3
2.1.3. Trbljan bijeli.....	4
2.1.4. Medna.....	6
2.2. Proizvodnja bijelog vina.....	7
2.2.1. Berba.....	8
2.2.2. Prerada u mošt.....	8
2.2.2.1. Runjanje-muljanje.....	8
2.2.2.2. Maceracija.....	9
2.2.2.3. Prešanje.....	10
2.2.3. Hlađenje mošta .....	11
2.2.4. Čišćenje mošta.....	12
2.2.4.1. Sumporenje.....	12
2.2.5. Fermentacija.....	13
2.2.5.1. Alkoholna fermentacija.....	13
2.2.5.2. Burno i tiho vrenje.....	14
2.2.5.3. Spontana i kontrolirana fermentacija.....	14
2.2.5.4. Čimbenici koji utječu na fermentaciju.....	15
2.2.5.5. Sekundarni proizvodi alkoholne fermentacije.....	16
2.2.5.6. Malolaktična fermentacija.....	17
2.2.6. Dozrijevanje.....	18
2.2.6.1. Pretakanje vina.....	18
2.2.6.2. Stabilizacija i bistrenje.....	18
2.2.6.3. Filtriranje.....	19
2.2.6.4. Punjenje u boce.....	19
2.3. Kemijski sastav grožđa.....	20
2.3.1. Peteljka.....	20
2.3.2. Bobica.....	20

2.4. Kemijski sastav mošta i vina.....	21
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO.....</b>	<b>24</b>
3.1. Materijali.....	24
3.2. Aparature.....	24
3.3. Metode.....	25
3.3.1. Određivanje koncentracije šećera RS-metodom.....	25
3.3.2. Određivanje alkohola i ekstrakta denzitometrijski.....	26
3.3.3. Određivanje alkohola kemijskom metodom.....	27
3.3.4. Određivanje sumpora.....	28
3.3.5. Određivanje ukupnih kiselina u vinu.....	29
3.3.6. Određivanje hlapivih kiselina po polumikro postupku.....	30
3.3.7. Određivanje jabučne, vinske, mliječne i limunske kiseline papirnom kromatografijom.....	30
3.3.8. Određivanje glukoze, glicerola, etanola, mliječne i octene kiseline HPLC metodom.....	31
<b>4. REZULTATI.....</b>	<b>33</b>
4.1. Rezultati analize parametara kemijskim metodama.....	33
4.2. Rezultati analize parametara HPLC metodom.....	34
4.3. Rezultati analize kiselina papirnom kromatografijom.....	35
<b>5. RASPRAVA.....</b>	<b>36</b>
<b>6. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>41</b>
<b>7. LITERATURA.....</b>	<b>42</b>

# 1. UVOD

„Vino je poljoprivredni prehrambeni proizvod, dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta od svježeg i za preradu u vino pogodnog grožđa. Sorte vinove loze za proizvodnju vina moraju pripadati vrsti *Vitis vinifera* ili križancima *Vitis vinifera* s drugim vrstama roda *Vitis*“ (Zakon o vinu, 2003.). Da bi se proizvelo dobro vino nije dovoljno imati dobru sirovinu već i odgovarajuću opremu i dovoljno podrumarskog iskustva. Dobrim podrumarskim znanjem i umijećem mogu se uspješno kompenzirati nedostaci sirovina i opreme. U Dalmaciji se vinova loza počela uzgajati još prije Kristova rođenja i od tada pa do danas, vinogradarstvo i vinarstvo je jedno do glavnih zanimanja pučanstva. Dalmatinska vina su zbog posebnosti tla i klime posebna i organoleptički različita od vina iz drugih krajeva. Proizvodnja vina je postala tradicija, stoga u Dalmaciji nailazimo na velik broj malih obiteljskih proizvođača.

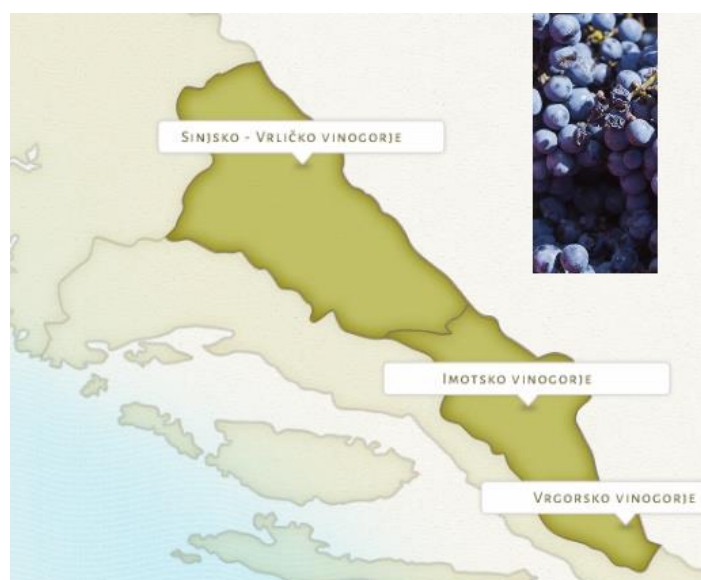
Domaće bijelo vino koje je analizirano u ovom radu proizvedeno je tradicionalnim postupkom u domaćinstvu za osobne potrebe. U pripremi vina mošt je vrio zajedno s kominom što nije ispravno za proizvodnju bijelih vina, stoga se takav proizvod zbog povišenog udjela ekstrahiranih tvari naziva „Žutina“. Za proizvodnju vina korištene su tri sorte: Zlatica, Kuč i Medna vrgoračkog vinogorja, berba 2015.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. SORTE VRGORAČKOG VINOGRORJA

#### 2.1.1. Vrgoračko vinogorje

Hrvatska vinogradarska područja međusobno su dosta različita. Razlike u klimi, sastavu tla, sortama, ekološkim uvjetima rezultiraju velikim brojem različitih vina. Prema Zakonu i Pravilniku o vinu Hrvatska se dijeli u dvije vinogradarske regije: Kontinentalnu Hrvatsku i Primorsku Hrvatsku. Vrgoračko vinogorje pripada poregiji Dalmatinske zagore (Primorska Hrvatska). Uz vrgoračko vinogorje, podregiji Dalmatinska zagora pripadaju i imotsko te sinjsko-vrličko vinogorje (Slika 1.).



**Slika 1.** Podregija Dalmatinska zagora (Anonimus 1, 2016)

Podregija Dalmatinska zagora smjestila se u jadranskom zaleđu, a od mora je odijeljena planinama Mosor, Kozjak i Biokovo. Klima je različita od one uz more, a razlikuje se ovisno od područja pa je ovo područje vinogradarski vrlo raznoliko. U ovoj podregiji, prema raspoloživim podacima, ima oko 2.500 ha vinograda. Prevladavaju crne sorte (Plavina i Vranac), a od bijelih najpoznatija je Kujundūša. Vrgoračko vinogorje je brdovito, ali postoji nizinski dio kojeg čini krško polje zvano „Vrgoračko jezero“ (Slika 2.). Brdski dio se smjestio



u zaleđu jugoistočnog dijela Biokova gdje se između niza grebena nalaze udoline s manjim poljima i docima. Od bijelih sorti tu prevladavaju Luča, Medna i Zlatarica, a od crnih Blatina i Trnjak. Glavnina vinogradarskih površina je u vrgoračkom polju kojim teče rijeka Matica. Nekada je polje bilo pod vodom, a danas većinom poplavi za vrijeme velikih kiša zbog čega se i naziva „Jezero“. Na polju prevladavaju crne sorte kao što su: Plavina, Vranac, Cabernet sauvignon i Merlot. Od bijelih sorata najviše ima: Trbljana, Zlatarica, Maraštine i Medne.



**Slika 2.** Vrgoračko-neretvansko polje (Anonimus 2, 2016)

### **2.1.2. Zlatarica bijela**

Zlatarica bijela je sorta nepoznatog podrijetla, a rasprostranjena je samo na području srednje i južne Dalmacije, Hercegovine i Crne Gore. Sinonimi za Zlataricu bijelu su: Bila loza, Dračkinja i Plavka.

Mladica loze je debela, prugasta i malo eliptična. Obično je zelenkaste boje s rijetkim pahuljama oko koljenaca te lagano broncirana sa sunčane strane. Vršci mladice su jaki, blago povinuti, zeleno žućkaste boje s nijansom ružičaste. Cvjetovi loze su dvospolni, a listovi su srednje veličine i mogu biti trodijelni ili petodijelni. Plojka lista je ravna, glatka, jasno zelenog lica i svjetlijeg naličja. Na vrhu listova su zupci koji su nejednaki i oštri. Debela, zelenkasto-rumenkasta peteljka lista ima sinus koji je otvoren (oblik slova „U“). Zreli grozdovi ove sorte su piramidalnog oblika, srednje veličine te su pričvršćeni kratkim čvrstim peteljčkama. Zrele bobice su srednje veličine, okrugle, zelenkasto-zlatnožute boje, a kožica je čvrsta i posuta

gustim smeđe-crvenkastim točkicama (Slika 3.). Rozgva loze je rebrasta i izlježljena s kratkim smeđe-crvenkastim člancima i sivkasto-ljubičastim koljencima. Ima bujan rast.

Ova sorta nije posebnih zahtjeva za uzgoj, ipak najbolje raste na propusnim i pjeskovitim tlima u uvjetima tople mediteranske klime. Otporna je na peronosporu, ali ne i na pepelnicu i sivu plijesan. Rodnost je dobra i redovita, a dobre rezultate daje pri niskim (visina stabla do 40 cm) ili povišenima (visina stabla od 120 do 150 cm) sustavima uzgoja s primjenom kratkog reza. Dozrijeva u drugom razdoblju. Najčešće se sadi pomiješana s drugim sortama pa se u vinogradima najčešće sadi kao začim dok su čisti sortni nasadi Zlatarice rijetki. Zlatarica nakuplja 18 - 22 % sladora i 5 - 7,5 g/L ukupne kiselosti, a prinosi iznose 70 do 120 dcl/hL. Na području dalmatinskih vinogradarskih podregija postoji više biotipova koji nose naziv „Zlatarica“, a morfološki se međusobno razlikuju (Mirošević i Turković, 2003).



**Slika 3.** Zlatarica bijela (Mirošević i Turković, 2003)

### **2.1.3. Trbljan bijeli**

Trbljan bijeli je vinska sorta nepoznatog podrijetla, ali se smatra domaćom dalmatinskom sortom. U Italiji postoje sorte naziva Trebbiano toscano, Trebbiano romagnolo, a u Istri Trebjan, međutim navedene sorte nisu morfološki slične Trbljanu bijelom. Uzgaja se u vinogorjima Primorske Hrvatske, ali je uvrštena među dopuštene sorte samo u dalmatinskim

podregijama Sjeverna Dalmacija, Dalmatinska zagora i Srednja i Južna Dalmacija te u podregiji Hrvatsko primorje. Ovaj se kultivar u pojedinim mjestima različito zove (Dobrogoština, Grban, Pljuskavac, Rukavina, Šampanjol), ali najpoznatiji je kao Trbljan bijeli i Kuč.

Mladica je srednje debljine, zelena s nenaglašenim rumenilom te malo rebrasta, dok su vršci mladica svijetlozeleni, tanki i malo povinuti. Listovi su veliki i okrugli ili malo izduženi. Mogu biti peterodijelni ili sedmerodijelni s vrlo dubokim postranim sinusima lirovidnog oblika. Lice lista je briljantno zeleno i golo, a naličje je svjetlije s vunastim dlačicama. Zupci su nejednaki, oštri i izduženi. Peteljka je tanka i dugačka sa svodastim sinusima. Zreo grozd je stožastog oblika i jako je velik. Gotovo uvijek ima dva krilca koji ga čine širokim, a može biti rastresit ili zbit. Peteljke su debele i odrvenjele do koljenaca. Bobe grozda su velike, okrugle i vrlo neujednačene, a boja im je žutozeleno i neprozirna. U tehnološkoj zrelosti su mekane, kožica je tanka, meso sočno, a boja na osunčanoj strani je svijetložuta do jantarna (Slika 4.). Rozgva loze je bujnog rasta, dosta snažna, izbrazdana s kratkim člancima. Smeđe je boje s tamnim koljencima.

Najbolje prinose ova vinska sorta postiže na dubokim, plodnim i umjereno vlažnim tlima u uvjetima tople klime. Dozrijeva u 4. razdoblju. Pri uzgoju sorte preporučeni su povišeni sustavi uzgoja iako uspijeva i pri korištenju niskog račvastog uzgoja. Trbljan bijeli je najprinosnija sorta po rodnosti u Dalmaciji. Na jednom trsu se može ubrati i do 10 kg grožđa. Uglavnom se koristi za proizvodnju stolnih vina osrednje kakvoće. Postiže 15 – 18 % sladora i 6 - 8 g/L ukupne kiselosti. Vino proizvedeno iz ove sorte je harmonično s nježnom sortnom aromom, a može se koristiti i za proizvodnju pjenušaca (Mirošević i Turković, 2003).



**Slika 4.** Trbljan bijeli (Anonimus 3, 2016)

#### **2.1.4. Medna**

Medna je manje poznata sorta bijelog grožđa. Nepoznatog je podrijetla i uzgaja se u području Dalmatinske zagore. Sinonimi za Mednu su: Buboju, Bumba, Rizavac, Zložder.

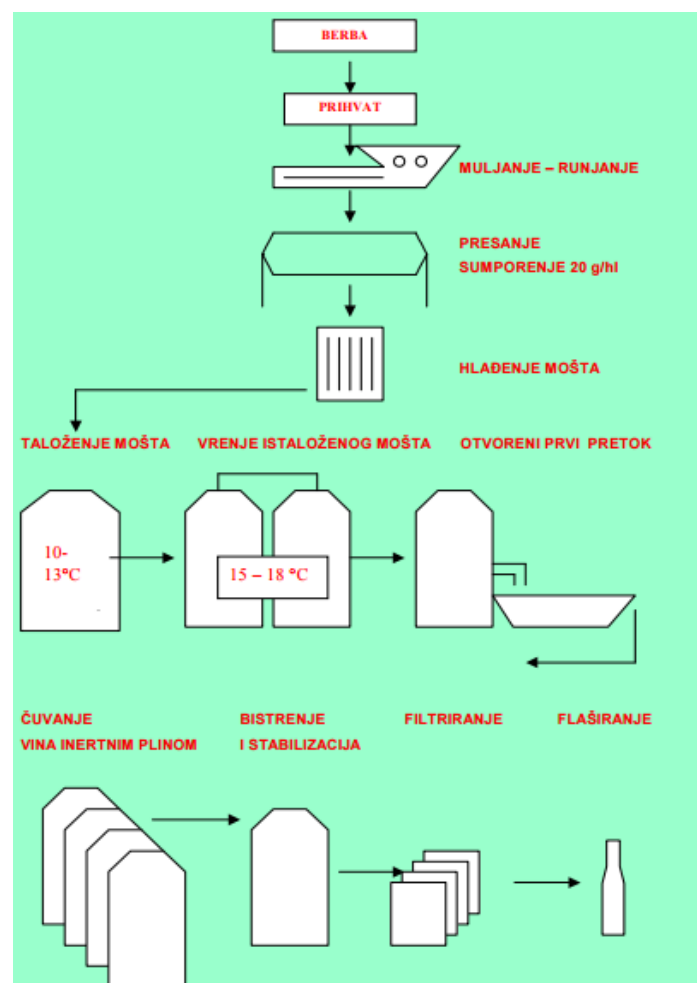
Godišnja mladica je horizontalnog rasta crvenkasto obojana i s izraženijim crvenkastim čvorovima, slabo prekrivena vunastim dlačicama. Vršci mladica su dobro razvijeni sa zatvorenim vrhom, srednji intezitet obojenja antocijanom, srednja debljina dlačica na vrhu. Mladi listovi su zelenkasti s bronziranim rubovima i vrlo slabim obojenjem antocijanom. Debljina vunastih dlačica između vena je srednja kao i kod glavne vene. Odrasli list je kožast, zelen, srednje velik, srcolik, trodijelni. Glavna žila je slabo obojena ili uopće nije. Gornja strana lista je gola dok je donja slabo prekrivena vunastim dlačicama. Sinus stabljike je dubok i ne sasvim otvoren dok su bočni sinusi plitki i otvoreni. Stabljika lista je gola i srednje duljine. Cvat je piramidalan i velik s jednim ili dva krilca. Grozd je srednje veličine, visina u prosjeku iznosi 15,6 cm, a širina 11,87 cm, kompaktan je, cilindrično raskriljen na jedno ili dva krila. Zrno je srednje veliko i okruglo. Boja kože je zeleno-žuta s izrazito jantarnom bojom na osunčanoj strani. Koža je debela i tvrda, a sok je bezbojan. Meso je sočno i tvrdo s posebnim mirisom ove sorte. Peteljka je kratka pa se teško odvaja od bobica.

Medna je otporna prema bolestima te ima dobru rodnost i kvalitetu grožđa i vina. To je sorta s 16 - 17 % šećera i 6 - 7 g/L ukupnih kiselina. Prinos po trsu je 2,5 - 3,5 kg. Dozrijeva u 3. razdoblju. Može se svrstati u skupinu tipičnih vinskih kultivara s prilično visokim

iskorištenjem. Vino je svijetlo, kiselkasto sa specifičnom finom aromom meda po čemu je i dobila ime (Pezo i sur., 2006).

## 2.2. PROIZVODNJA BIJELOG VINA

Bijela vina zahtijevaju posebne uvjete prerade. Vinifikacija kvalitetnih bijelih vina u današnje vrijeme podrazumijeva modernu opremu i ne dopušta pogreške. Na Slici 5. je prikaz osnovnih tehnoloških zahvata u proizvodnji bijelih vina.



**Slika 5.** Shema vinifikacije bijelih vina (Anonimus 4, 2016)

### **2.2.1. Berba**

Berba obuhvaća niz važnih zadataka, počevši od pripreme pa sve do prijevoza grožđa do mjesta prerade. Osnovno pravilo prilikom berbe grožđa je da se svo grožđe koje je ubrano, preradi isti dan. Prema tome, osim same berbe grožđa, potrebno je pripremiti i podrum.

Prije same berbe potrebno je pripremiti posude, alat te provjeriti zdravstveno stanje bačvi, podrumskih prostorija i strojeva koji se koriste u primarnoj obradi grožđa. Kako bi se održalo vino kvalitetnim i zdravim potrebno je održavati čistoću podruma. Podrumske prostorije je potrebno očistiti i dezinficirati, jer je to prostor u kojem se obavljaju svi koraci proizvodnje vina. Zidovi podruma se kreće vapnenim mlijekom i nakon toga se prskaju 5 % otopinom modre galice koja sprječava rast plijesni. Dezinfekcija se obavlja sumpornim dioksidom jedan dan prije berbe grožđa. Vrlo je važno paziti na ispravnost posuda u kojima vino fermentira. Posude je potrebno očistiti i oprati hladnom vodom nekoliko puta, zatim je osušiti i sumporiti.

Grožđe se bere kada postigne tehnološku zrelost, jer je tad odnos kiselina i šećera najpovoljniji za određenu sortu. Odnos šećera ( $Oe^\circ$ ) i kiselina (g/L) nazivamo faktorom zrenja. Što je faktor zrenja veći to je tehnološka zrelost grožđa veća. Za određivanje faktora zrenja potrebno je petnaestak dana prije glavne berbe pratiti sadržaj šećera i sadržaj ukupnih kiselina u grožđu. Nakon što se utvrdi da je grožđe tehnološki zrelo, kreće berba. Grožđe osim što mora biti zrelo mora biti i zdravo. Bobica treba imati intenzivnu boju s izraženim voštanim sivkasto-bijelim slojem na površini te treba biti mekana i lako se odvajati od peteljke. Bolesno i trulo grožđe se mora odstraniti jer može znatno utjecati na kvalitetu vina. Berbu grožđa najbolje je obavljati tijekom suhog i toplog vremena, jer time dobivamo kvalitetniji mošt u kojem brzo započinje fermentacija. Preporučeno je brati rano ujutro kad temperatura nije previsoka, jer će grožđe ostati hladno i time temperatura vrenja neće biti visoka što značajno utječe na mirisne komponente vina. Također se mora paziti na način berbe. Treba izbjegavati plastične vreće, a što više koristiti posude od drveta ili plastike, koje smanjuju mogućnost gnječenja i oštećenja.

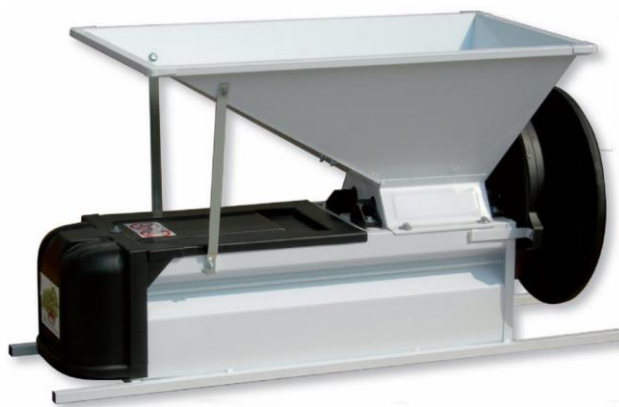
### **2.2.2. Prerada u mošt**

#### 2.2.2.1. Runjanje-muljanje

Kako bi se oslobodio sok iz bobica grožđa, u kojemu su hranjive tvari kao i šećeri potrebni za dobivanje alkohola, potrebno je odvojiti bobice od peteljke i zgnječiti ih. Odvajanje peteljke

od bobica naziva se runjanje, a gnječenje grožđa se naziva muljanje. Nekada su ta dva procesa bila odvojena, a danas se koriste strojevi koji navedena dva postupka obavljaju istovremeno (runjače-muljače). Krajnji proizvod runjanja i muljanja je masulj, čvrsti (kožica i sjemenke) i tekući (groždani sok) dio grožđa zajedno. Tijekom runjanja-muljanja peteljke padaju u posebnu posudu i iznose se izvan radnog prostora. To je važno, jer odvajanjem peteljke od grožđa sprječavamo ekstrakciju taninskih i drugih tvari iz peteljke u mošt.

Runjača-muljača (Slika 6.) sastoji se od lijevka koji služi za prihvatanje grožđa zatim od perforiranog cilindra za razdvajanje bobica i peteljki te jednog ili dva para valjaka koji gnječe grožđe. U lijevak se ubacuje grožđe koje zatim ulazi u perforirani cilindar. Cilindar se lagano okreće i odvaja bobice od peteljke. Okretanje mora biti polagano kako bi maksimalno smanjili razbijanje kožice, time se smanjuje količina taloga i fenolnih sastojaka koji se lako oksidiraju. Bobice zatim padaju na valjke gdje se gnječe. Razmak među valjcima je podesiv što je važno s obzirom na različita morfološka obilježja sorti. Suvremena oprema za preradu grožđa podrazumijeva hlađenje bobica uz pomoć CO<sub>2</sub>, posebno kod proizvodnje mladih, svježih i aromatičnih vina. To je pogodno za južna područja i visoke temperature tj. kada je temperatura ubranog grožđa iznad 22 °C. Uz runjače-muljače u današnje vrijeme, posebno kod proizvodnje bijelog vina, koriste se pneumatske preše koje prešaju cijelo grožđe bez oštećivanja krutih dijelova.



**Slika 6.** Ručna runjača-muljača (Anonimus 5, 2016)

#### 2.2.2.2. Maceracija

Maceracija je postupak ekstrakcije tvari iz pokožice, mesa i sjemenki u groždani sok.

Taj postupak je uobičajen za proizvodnju crnih vina radi ekstrakcije boje i tanina, a nekada se koristio i kod proizvodnje bijelih vina (tradicionalan postupak). Zbog negativnih učinaka na

boju, oksidaciju i gruboću okusa vina, maceracija bijelih vina se više ne provodi. U posljednje vrijeme, novim saznanjima, maceracija se vraća kao postupak u proizvodnji vina. Međutim, ne provodi se tradicionalna maceracija već tzv. hladna maceracija. To je postupak ekstrakcije koji se provodi na temperaturi od 5 – 8 °C te na taj način dolazi do ekstrakcije polifenolnih spojeva već aromatskih spojeva iz kožice grožđa. Trajanje maceracije mora biti kratko, od 10 do 30 h, ovisno o sorti.

#### 2.2.2.3. Prešanje

Prešanje je nužan korak za izdvajanje mošta iz masulja. Prethodnom obradom grožđa oslobodi se do 40 % mošta, a ostatak dobijemo prešanjem. Prešanje je vrlo bitan korak u obradi grožđa jer utječe na kakvoću vina. Poželjno je da masulj što prije i kraće prešamo kako bi se izbjegla oksidacija mošta te nije preporučljivo koristiti visoke tlakove jer dovode do smanjenja kvalitete mošta i vina. Pri izboru preše, ovisno o tipu i kakvoći vina, mora se voditi računa o sustavu prerade. Prema tome preše se dijele na kontinuirane i diskontinuirane.

Kontinuirane preše najviše su se koristile u drugoj polovici prošlog stoljeća. Međutim, zbog velikih pritisaka koji se koriste i koji snižavaju kvalitetu mošta i vina, napuštene su i zamijenjene diskontinuiranim prešama. Danas postoje moderne izvedbe kontinuiranih preša koje imaju bolje karakteristike te smanjuju oštećenja i ekstrakciju nepoželjnih sastojaka u mošt.

Diskontinuirane preše imaju glavni nedostatak duže vrijeme prešanja. Taj problem se rješava uporabom više preša koje nadopunjavaju prekide u radu drugih preša. Najpoznatije diskontinuirane preše su mehaničke (Slika 7.). Preše tog tipa rade na princip da potisna ploča mehanički, preko poluge i vijka pritišće masulj. Mehaničke preše, osim što daju bolju kvalitetu mošta u odnosu na kontinuirane preše, omogućavaju razdvajanje frakcija preševina što dodatno doprinosi kvaliteti mošta. Glavni nedostatak ovakvih preša je oštećenje krutih dijelova grožđa i ekstrakcija veće količine polifenola.





**Slika 7.** Mehanička preša (Anonimus 6, 2016)

Slične mehaničkim prešama su i hidrauličke preše. Glavna razlika je u tome što hidrauličke preše pritisak postižu hidrauličnim pogonom. Veliki tehnološki napredak u obradi grožđa predstavljaju pneumatske preše. Glavne prednosti tog tipa preše su platno (membrana) koje ne oštećuje krute dijelove masulja i niski tlak što omogućava proizvodnju kvalitetnog vina. Pneumatskim prešama, osim muljanih i runjanih grozdova, mogu se prešati cijeli grozdovi. Najnovije tehnološko rješenje su vakuum preše koje rade na principu stvaranja podtlaka. Vakuum preše omogućuju najbolje odvajanje mošta bez negativnih učinaka na njegovu kvalitetu.

### **2.2.3. Hlađenje mošta**

Nakon prešanja mošt je potrebno ohladiti na temperaturu pri kojoj će doći do taloženja ili na temperaturu optimalnu za vrenje. U oba slučaja mošt treba hladiti na temperaturu manju od 18 °C. Hlađenje se može vršiti pomoću rashladnih uređaja i izmjenjivača topline. Rashladni uređaji kao rashladno sredstvo koriste glikol, a mogu biti izvedeni u obliku spirala ili ploča. Moguće je koristiti bačve s duplim plaštovima između kojih cirkulira rashladno sredstvo, a za hlađenje većih volumena koriste se izmjenjivači topline. Hlađenje je bitan korak jer ubrzava postupak spontanog taloženja (čišćenje mošta), smanjuje aktivnost oksidacijskih enzima i sprječava rad spontanijih kvasaca.

#### **2.2.4. Čišćenje mošta**

Ovaj korak je vrlo bitan za proizvodnju kvalitetnih vina. Upravo su krute tvari iz mošta idealne za vezanje oksidacijskih enzima pa vino dobiveno iz mošta, koje je prethodno očišćeno od krutih frakcija, pokazuje bolje karakteristike u finoći. Postoje različite mogućnosti čišćenja mošta, a najčešće se provodi spontano taloženje. Nakon prešanja mošt se sumpori što sprječava rad bakterija i nepoželjnih kvasaca te pospješuje taloženje nečistoća (zemlja, plijesan, sredstva za zaštitu vinove loze i dr.). Kod većih volumena taloženje se provodi odgovarajućim uređajima poput centrifuga, vakuum filtera i filter preša. Također, postoji mogućnost čišćenja mošta flotacijom te betonitom koji se kao sredstvo za bistrenje sve više koristi u suvremenoj proizvodnji vina.

##### 2.2.4.2. Sumporenje

Sumporenje je najstariji oblik čuvanja vina. Taj korak pri proizvodnji vina je vrlo važan i ima niz pozitivnih efekata. Sumporov dioksid omogućava stvaranje antiseptičnih uvjeta, djeluje kao antioksidans, ubrzava taloženje te snižava redoks potencijal. Najčešće se dodaje u mošt u obliku kalij metabisulfita (vinobrana) ili sumporne kiseline, a količina koju treba dodati ovisi o zdravstvenom stanju grožđa, temperaturi te o vremenskim prilikama tijekom berbe. U moštu i vinu se SO<sub>2</sub> može nalaziti u slobodnom i vezanom obliku. Količina slobodnog je manja nego vezanog, a njihov odnos ovisi o temperaturi i kemijskom sastavu mošta odnosno vina. Dodatkom SO<sub>2</sub> aktivnost svih mikroorganizama se smanjuje, a kod primjene većih doza mikroorganizmi ugibaju, no njihova otpornost se razlikuje. Prisutnost SO<sub>2</sub> najmanje podnose bakterije i plijesni, dok kvasci ugibaju tek kod većih količina slobodnog SO<sub>2</sub>. Na taj način se štiti mošt od nepoželjnih mikroorganizama i vrši se selekcija kvasaca tako da otporniji kvasci ostaju i provedu vrenje do kraja. Sumporni dioksid ima sposobnost vezanja fenolnih tvari, na taj način sprječava oksidaciju mošta (antioksidans). Isto tako ima i negativne učinke na mošt i vino ukoliko se koristi u velikim količinama. Može negativno djelovati na okus i miris, negativno se odražava na ljudski organizam te pri određenim pH vrijednostima onemogućava transformaciju jabučne u mliječnu kiselinu.

#### **2.2.5. Fermentacija**

Fermentacija i proizvodnja kvalitetnih vina je složen biokemijski proces u kojem sudjeluju različiti mikroorganizmi. Neki mikroorganizmi imaju pozitivan dok neki imaju negativan

učinak na tijek fermentacije, stoga je nužno poznavati mikroorganizme i njihove metabolizme za proizvodnju vrhunskih vina. U procesu fermentacije najviše sudjeluju kvasci, zatim mliječne i octene bakterije, a ponekad i bakterije iz rodova *Bacillus*, *Clostridium* i *Streptomyces*.

#### 2.2.5.1. Alkoholna fermentacija

Alkoholna fermentacija je biokemijski proces kojeg u vinu provode kvasci. Kvasci su jednostanični organizmi koji se dijele na rodove, vrste i sojeve, a za proizvodnju vina najznačajniji su kvasci iz roda *Saccharomyces*. U anaerobnim uvjetima, zahvaljujući enzimima koje posjeduju, kvasci imaju mogućnost pretvorbe monosaharida (glukoza, fruktoza, manoza) i disaharida (saharoza, laktoza, maltoza) te trisaharida trehaloze u etilni alkohol i CO<sub>2</sub>. Uz etanol i CO<sub>2</sub> nastaje i energija koja se oslobađa u obliku topline te nastaju sekundarni proizvodi koji formiraju aromu vina. Reakcija:



Mošt je dobar medij za rast kvasaca kao i za provođenje alkoholne fermentacije. Fermentacijom mošta dobije se 8 - 15 vol. % alkohola u vinu. Kvasci koji su odgovorni za fermentaciju mogu doći s površine grožđa, s površine opreme ili se u mošt mogu dodati selekcionirani kvasci. Prednost selekcioniranih kvasaca pred autohtonim (s površine bobice) je ta što su im svojstva poznata (dobro provode vrenje, vina su zdrava i bistra).

Od autohtonih vrsta na površini grožđa najbrojniji su tzv. vrškasti kvasci (*Kloeckera apiculata* i *Hanseniaspora*), u manjem broju pojavljuju se kvasci iz rodova *Candida*, *Rhodotorula*, *Pichia*, *Kluyveromyces* i *Hansenula*, a u vrlo malom broju nalaze se fermentativne vrste iz roda *Saccharomyces*. Vrškasti kvasci (*Candida*, *Pichia*, *Hansenula*) započinju fermentaciju (aerobni kvasci) te stvaraju octenu kiselinu i etil acetat. Kada koncentracija alkohola dosegne 4 - 6 vol. %, vrškasti kvasci se prestaju razmnožavati, a prerastaju ih kvasci iz roda *Saccharomyces* (*S.cerevisiae* i *S.bayanus*) koji provode fermentaciju do kraja. Takvu fermentaciju nazivamo spontanom fermentacijom. Spontana fermentacija se zbog nekontroliranih uvjeta odvija sporije što često mijenja organoleptička i kemijska svojstva vina (neželjeni spojevi, manjak ili višak kiseline) te je veća mogućnost kvarenja vina.

Selekcionirani kvasci su u proizvodnji vina omogućili korištenje svih pozitivnih karakteristika kvasca. Takvi kvasci provode fermentaciju na nižim temperaturama, stvaraju aromatske spojeve, podnose veće količine SO<sub>2</sub> i dr. Mogu se naći u više oblika: u razblaženom stanju, u

koncentriranom stanju, na čvrstoj podlozi ili u liofiliziranom stanju. Prije dodavanja u mošt kvasac je potrebno pripremiti tj. aktivirati ga (ukoliko nije već aktivan) i razmnožiti. Preporuča se dodati kvasac u manji volumen mošta, gdje će se tijekom 12 - 24 sata kvasac prilagoditi. Nakon adaptacije kvasac se dodaje ostatku mošta u bačvi. Ako je mošt siromašan dušičnim tvarima i vitaminima, moštu je prije dodavanja kvasca dobro dodati hranu za kvasce.

#### 2.2.5.2. Burno i tiho vrenje

Prva dva do tri dana nakon dobivanja mošta kvasac se razmnožava tj. formira se veća količina biomase koja je potrebna za provođenje fermentacije. Nakon što je nastala dovoljna količina biomase započinje pretvorba šećera iz mošta u alkohol. U moštu je na početku vrenja najveća količina šećera što rezultira intenzivnim vrenjem. Dolazi do naglog i velikog pada koncentracije šećera te oslobađanja velike količine topline i CO<sub>2</sub> što izaziva pjenušanje. Burna fermentacija traje obično oko 5 dana ovisno o količini šećera u moštu, temperaturi i sl. Nakon burne fermentacije veliki dio šećera iz mošta je pretvoren u alkohol te dolazi do stišavanja procesa. Temperatura osjetno pada i oslobađa se manje CO<sub>2</sub>. Taj period nakon burnog vrenja nazivamo tihim vrenjem ili doviranjem. To je vrlo bitan period jer omogućava sedimentiranje grubih čestica i stanica kvasca te se vino počinje bistriti. Isto tako mala količina šećera, zaostala nakon burnog vrenja, previre se u alkohol i fermentacija se privodi kraju. Vrijeme trajanja tihe fermentacije je različito, a ovisi o količini neprevrelog šećera i ostalim uvjetima za završetak fermentacije. Ako mošt sadrži veću količinu šećera, tiha fermentacija može trajati više mjeseci, ali kod uobičajenog sadržaja šećera obično traje 10 - 30 dana nakon burne fermentacije.

#### 2.2.5.3. Spontana i kontrolirana fermentacija

Alkoholna fermentacija može se provoditi spontano (klasično) ili kontrolirano (suvremeno). Optimalna temperatura mošta treba biti između 15 – 18 °C, međutim temperatura se razlikuje u različitim krajevima. Isto tako ovisi o vanjskim uvjetima i položaju prostora u kojem mošt vrije. U južnim krajevima fermentacija se odvija često na nešto višim temperaturama što znatno utječe na sadržaj alkohola i aroma u vinu, dok u hladnijim krajevima temperatura može pasti ispod 15 °C i prekinuti fermentaciju. Spontana fermentacija daje manji postotak alkohola, a dio se alkohola gubi zbog topline nastale tijekom fermentacije. Uz to gubi se boja, sortna aroma i svježina. Razvojem tehnologije omogućeno je kontrolirano vođenje fermentacije gdje nema većih temperaturnih oscilacija. Takav način vođenja fermentacije je

vrlo važan za proizvodnju kvalitetnih vina gdje je bitna svježina i aroma vina. Postoji više načina kontrole fermentacije, ali se uglavnom kontrolira temperatura ili nastali CO<sub>2</sub> ili oboje.

#### 2.2.5.4. Čimbenici koji utječu na fermentaciju

##### 1. Temperatura

Temperatura ima velik utjecaj na tijek, dinamiku i kemijske procese fermentacije. O njoj ovisi da li će fermentacija započeti odmah ili nakon nekoliko dana, da li će završiti ranije ili kasnije ili će se prekinuti. Optimalna temperatura fermentacije je od 15 – 18 °C. Ukoliko se fermentacija provodi na višim temperaturama koje su pogodne za kvasce (28 – 30 °C) stvarat će se više CO<sub>2</sub> koji za sobom povlači aromatične tvari i djelomično alkohol. Stoga se fermentacija nastoji provoditi na nižim temperaturama kako bi se zadržale aromatične tvari i kako bi se stvorila veća količina masnih kiselina i hlapivih estera. Vrlo visoka i vrlo niska temperatura negativno djeluju na fermentaciju tako što dovode do njenog prekida, a kod visokih temperatura i do stvaranja neželjenih sastojaka (povećani sadržaj mliječne i octene kiseline).

##### 2. SO<sub>2</sub>

Djelovanje SO<sub>2</sub> na kvasce ovisi o stanju u kojem se kvasac nalazi. Za vrijeme burnog vrenja kvasci su najotporniji jer se tad razmnožavaju i ima ih u velikoj količini. Također fermentacijom se stvara acetaldehid koji veže SO<sub>2</sub> pa je njegova koncentracija manja. U moštu kvasci podnose veće koncentracije SO<sub>2</sub> nego u vinu, jer u moštu ima manje alkohola, a više hranjivih sastojaka.

##### 3. Dušične tvari

Dušikovi spojevi dolaze iz grožđa pa tako njihova količina ovisi o: zdravstvenom stanju grožđa, bogatstvu tla dušičnim spojevima, gnojidbi, prešanju itd. Dušik je kao hrana potreban za rast kvasaca i za odvijanje alkoholne fermentacije. Ukoliko je mošt siromašan dušikovim spojevima dolazi do zaustavljanja sinteze proteina te usporene fermentacije. U takvim slučajevima je poželjno dodati hranu za kvasce.

##### 4. Kisik

Kisik je potreban za pravilan razvoj kvasca i održavanje životnih funkcija stanice. Stanična membrana kvasca osigurava otpornost prema alkoholu, a za njezinu funkciju važni su lipidi,

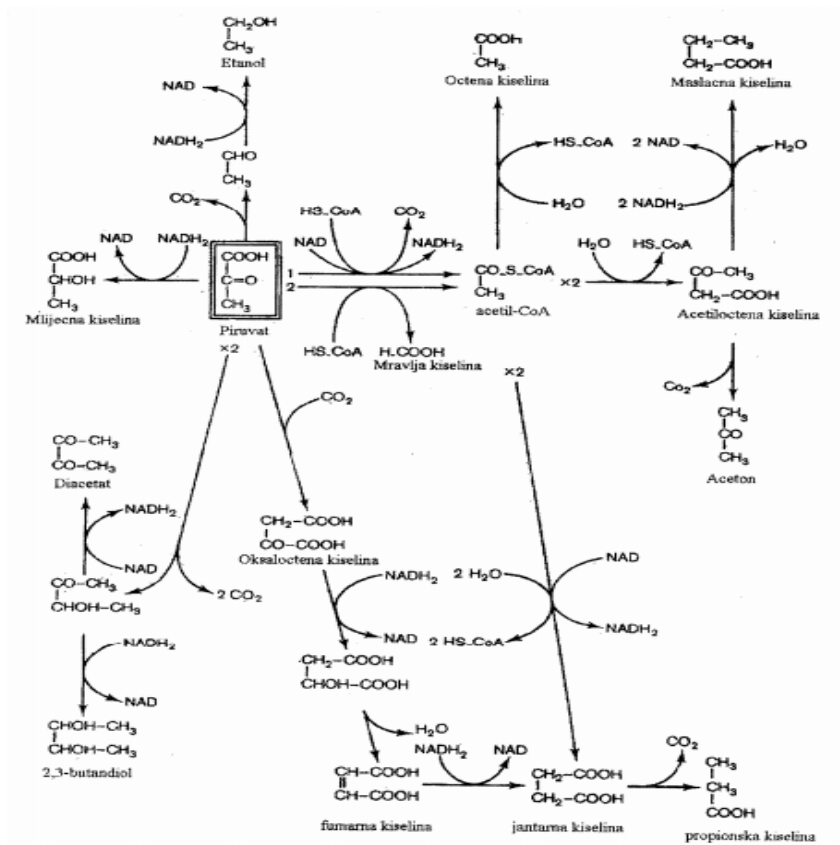
steroli i nezasićene masne kiseline. Kako bi kvasac sintetizirao navedene spojeve, potreban je kisik. Potreba za kisikom najveća je na početku fermentacije, jer tada dolazi do razmnožavanja stanica kvasca i enzimskih reakcija. Nakon što se kvasac razmnoži u dovoljnoj količini započinje vrenje. Kako bi se spriječilo hlapljenje alkohola, na otvor posude postavlja se vrelnjača. Vrelnjača onemogućava ulaz kisika (anaeroban proces), a omogućava izlaz CO<sub>2</sub>. Ako dođe da zastoja fermentacije dobro je prozračiti mošt kako bi se ponovo potaklo razmnožavanje kvasaca.

## 5. Mikrohranjiva

Mikrohranjiva su tvari koje koriste mikroorganizmi iz mošta, a u moštu se nalaze u malim količinama. To su mineralne tvari i vitamini. Njihova uloga je važna, jer sudjeluju u prijenosu tvari kroz membranu i djeluju kao koenzimi. Neki vitamini poput biotina, pantotenoata i tiamina su posebno važni, jer potiču stvaranje estera, sudjeluju u metabolizmu lipida, imaju pozitivan učinak na organoleptička svojstva, poboljšavaju živahnost stanica i smanjuju rizik od zaustavljanja fermentacije. Magnezij, cink i kalij također su važni, jer djeluju kao koenzimi, djeluju na rast stanice, daju kvascima bolju otpornost na temperaturu i alkohol itd.

### 2.2.5.5. Sekundarni proizvodi alkoholne fermentacije

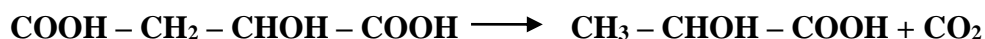
Alkoholnom fermentacijom uz etanol, kao glavni produkt fermentacije, nastaje i glicerol koji je glavni sekundarni produkt. Odgovoran je za punoću, harmoničnost, pitkost, slatkost i viskozitet vina. Količina glicerola koja nastaje odgovara količini svih drugih sekundarnih sastojaka (jantarna kiselina, acetaldehid, aceton, butilenglikol, octena kiselina). Sekundarni spojevi služe kao ishodište za nastanak drugih brojnih sastojaka (Slika 8.).



**Slika 8.** Shema formiranja sekundarnih sastojaka (Anonimus 7, 2016)

### 2.2.5.6. Malolaktična fermentacija

Osim kvasaca u moštu se nalaze bakterije mliječnog vrenja, stoga se nakon alkoholne provodi malolaktična fermentacija. To je proces u kojem mliječne bakterije razgrađuju jabučnu kiselinu. Iz jedne molekule jabučne kiseline nastaje jedna molekula mliječne kiseline i molekula CO<sub>2</sub>. Reakcija:



Mliječne bakterije (*Oenococcus oeni*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus brevis*) otporne su na visoke koncentracije etanola i kiseline te mogu metabolizirati velik broj spojeva u vinu. Malolaktička fermentacija je sekundarni proces koji je moguć samo u nekim vinima. Neophodna je za većinu crnih vina dok za bijela ovisi o kultivaru. Posljedica malolaktične fermentacije je smanjena ukupna kiselost, a pojavljuju se i ostali sastojci poput octene kiseline, diacetila, acetona, estera itd.

## **2.2.6. Dozrijevanje vina**

Dozrijevanje vina može se podijeliti u dvije faze. Prvu fazu čini period od završetka fermentacije do punjenja vina u boce. U tom periodu dolazi do fizikalno-kemijskih promjena uzrokovanih enološkim postupcima poput pretakanja, stabilizacije i filtracije vina, malolaktične fermentacije i dr. Ta faza može trajati od 4 mjeseca pa do preko godinu dana. Druga faza započinje punjenjem vina u boce. U tom periodu dolazi do povećanja kakvoće vina. Bijela vina dozrijevaju u bačvama od nekoliko mjeseci pa do 3 godine.

### 2.2.6.1. Pretakanje vina

Nakon završetka tihog vrenja, vino je potrebno pretočiti i odvojiti od taloga. Odvajanje vina od mikroorganizama, proteina i kristala vinskog kamena pridonosi stabilnosti vina. Pretakanje se vrši dekantiranjem ili uz pomoć pumpe. Prije svakog pretakanja potrebno je očistiti i dezinficirati podrum zatim provjetriti pa tek onda pretakati vino. Prvo pretakanje ovisi o samom vinu pa tako slabo kisela vina i vina s manjim sadržajem alkohola i ekstrakta se pretače ranije. Pretakanje može biti otvoreno ili zatvoreno. Otvoreno pretakanje vrši se kada se žele ukloniti neugodni mirisi, osvježiti vino ili kvasac ukoliko je došlo do zastoja vrenja te ako postoji naznaka kvarenja vina. Zatvoreni pretok se vrši kada je vino sklono oksidaciji i posmeđivanju te kod vina s formiranim bukeom. Prvo pretakanje obično je otvorenog tipa (s provjetranjem), a druga i ostala pretakanja se vrše zatvoreno, osim ako je vino mutno ili ima neugodan miris. Drugo pretakanje obično se vrši 6 - 8 tjedana nakon prvog pretakanja.

### 2.2.6.2. Stabilizacija i bistrenje

Voda, alkohol, kiseline i njihove soli, šećer i drugi sastojci vina nalaze se u molekulskom stanju, međutim ako dođe do poremećaja ravnoteže u otopini (vinu) navedene tvari prelaze iz topivog u netopivi oblik. Zbog toga dolazi do nastanka taloga i zamućenja. U vinu se nalaze i spojevi koloidne prirode (proteini, fenolni spojevi, smolaste tvari i dr.) koji se zbog svog električnog naboja se odbijaju ili privlače te mogu tvoriti veće koloide koji će sedimentirati.

Spontano bistrenje je prirodan proces koji se odvija nakon fermentacije, međutim kako bi se ubrzao prirodan proces i uklonilo nestabilne sastojke vina primjenjuju se kemijske i fizičko-kemijske reakcije bistrenja vina. Proces bistrenja uglavnom se odvija na principu elektrostatskih odnosa. Osim toga na efikasnost bistrenja utječe i pH, temperatura, priprema i način unošenja sredstva za bistrenje. Sredstva za bistrenje mogu se podijeliti na organska i mineralna. Od organskih najpoznatija su: želatina, riblji mjehur, bjelance jajeta, kazein i



mlijeko i agar-agar. Od mineralnih najpoznatija su: betonit, keramička kiselina (silicijev dioksid), kalijfenocijanid, limunska kiselina, španjolska zemlja itd.

#### 2.2.6.3. Filtriranje

Tržište zahtijeva bistra i stabilna vina, stoga je u modernoj proizvodnji vina filtriranje sastavni dio tehnoloških procesa, međutim u posljednje vrijeme postoji određena tolerancija na određeni talog u boci. Postoje različiti tipovi filtera u tehnologiji vina koji su prilagođeni različitim tehnološkim zahvatima i fazama proizvodnje vina. Većinom se koriste pločasti filteri (zbog jednostavnosti i svestranosti), a rjeđe su u upotrebi naplavni i membranski.

#### 2.2.6.4. Punjenje u boce

Nakon stabilizacije i filtracije slijedi punjenje u boce. Vino u boci mora dugo vremena ostati isto ili dobivati na kvaliteti. Također je važno da se vino tijekom punjenja ne degradira te da se u boci osiguraju uvjeti za kvalitetno čuvanje vina. Vrijeme punjenja u boce je posebno važno za bijela mlada vina koja su „osjetljiva“ i „zahtjevna“. Pravo vrijeme za flaširanje je proljetno-ljetni period kada su izražene sortne arome. Punjenje vina može se podijeliti na toplo, normalno i sterilno. Najčešće korišteno je normalno gdje je prije punjenja boce potrebno oprati na temperaturi od 40 - 80 °C, a zatim završno ispirati i provesti kroz „kontrolu“ čistih boca. Vino preko filtra dolazi u punilicu koja ima rezervoar s plovkom za regulaciju nivoa vina u rezervoaru. Nakon punjenja boca slijedi čepljenje boca. Sterilno punjenje koristi se za kvalitetna vina. Ovaj način punjenja obuhvaća tzv. monoblokove koji su zatvoreni i sprječavaju kontaminaciju. Koriste se isključivo nove boce koje se prije punjenja mogu još ispirati i sterilizirati. Boce se pune vinom koje je obavezno filtrirano. Danas je sve češće u uporabi sterilno punjenje u atmosferi inertnog plina kako bi se spriječila oksidacija.

## 2.3. KEMIJSKI SASTAV GROŽĐA

### 2.3.1. Peteljka

Peteljka je skelet grožđa. Osnovni dio peteljke se grana sve do peteljčica koje nose cvijet odnosno bobicu. Peteljčica u bobici završava snopom zvanim metlica preko kojeg dolaze asimilati. Udio peteljke u grozdu ima utjecaj na randman vina i mošta. Kod vinskih sorti je između 2 - 8 %, dok kod stolnih sorti može biti i 1,5 %.

Kemijskim sastavom je slična listu i vitici vinove loze te ima utjecaj na kemijski sastav vina. Peteljka sadrži vrlo malo šećera svega 10 g na kg peteljke, 5-6% suhe tvari peteljke otpada na mineralni dio, a najveći udio ima kalij. Maceracijom masulja s peteljkom dolazi do pada kiselosti jer peteljka sadrži malo kiselina, ali je bogata polifenolima pa se ukupna količina polifenola u vinu može povećati i za 25%. Također, preradom grožđa dolazi do lomljenja i gnječenja peteljke pa sastojci prelaze u mošt zbog čega je okus vina zelen, gorak. Najzastupljeniji polifenol peteljke bijelog grožđa je leukocijanidol koji je značajan za formiranje okusa. Tanini su također važan sastojak peteljke. Najznačajniji predstavnici zelenih tanina su procijanidini iz skupine leukoantocijana. Njihove molekule mogu biti polimerizirane, a stupanj polimerizacije veže se za gorčinu.

### 2.3.2. Bobica

Bobica se sastoji od sjemenke, kožice i mesa sa grožđanim sokom. Udio pojedinih dijelova u bobici ovisi o sorti.

#### Sjemenke

U sjemenci se nalaze rezervni sastojci za rast klice, a najveći dio čine ugljikohidrati (celuloza) i voda. U kemijskom sastavu sjemenke ima eteričnog ulja (prosječno 16 %) koji sadrži 65 – 70 % linoleinske kiseline i 0,1 % tokoferola. U sjemenci se nalazi najviše tanina od svih čvrstih dijelova grožđa, a nalaze se u vanjskom dijelu sjemenke tako da lako prelaze u vino tijekom maceracije. Ako se sjemenke oštete prilikom prerade grožđa, dolazi do ekstrakcije tanina pa se dobiju otporna i gorka vina.

## Kožica

Vanjski omotač bobice naziva se kožica. Kožica se sastoji od 6 - 10 slojeva stanica čija se veličina smanjuje prema vanjskom dijelu bobice. Stanične stjenke stanica su elastične što omogućava rast bobice. Po kemijskom sastavu kožica je siromašna šećerom, a bogata je celulozom, polifenolima, netopljivim pektinima i proteinima. Ispod epiderme 3 - 4 sloja stanica zauzimaju antocijani koji su slabo topivi u vodi. Stvaranjem alkohola i povišenjem temperature tijekom fermentacije, antocijani prelaze u vino i daju boju. Mineralne tvari bitan su sastojak kožice pa dužim kontaktom s vinom prelaze u vino.

## Meso

Meso je glavni dio bobice grožđa. Čine ga velike stanice čija je unutrašnjost ispunjena sokom tj. moštom. U punoj zrelosti meso čini 75 - 85 % težine bobice. Bijele sorte imaju žutozelen do zlatnožuti sok, a njegova gustoća ovisi o sadržaju šećera. Meso je bogato šećerima i kiselinama, a njihova količina znatno ovisi o sorti.

## **2.4. KEMIJSKI SASTAV MOŠTA I VINA**

Mošt je sok dobiven prešanjem grožđa. Sok sadrži sastojke unutrašnjeg, tekućeg dijela bobice (meso), ali u sastav mošta mogu ući i sastojci čvrstih dijelova grozda (Slika 9.).

Sastojak	količina (%)
Voda	75-85
Šećeri	17-25
Organske kiseline	0,40 - 1,2
Anorganske tvari	0,15 - 0,3
Ostale tvari	0,30 - 1,0

**Slika 9.** Kemijski sastav mošta (Grba, 2010)

Najveći udio u moštu ima voda. Njen sadržaj ovisi o sorti, što je sorta rodnija to sadrži više vode. Stupanj zrelosti i ekološki uvjeti u kojima je loza uzgajana također određuju sadržaj vode u moštu. Nakon vode, šećeri zauzimaju najveći dio mošta. To su osnovni sastojci mošta

nastali procesom fotosinteze. Njihov udio ovisi o sorti, stupnju zrelosti te faktorima ekološke prirode kao što su klima, agrotehničke mjere, bolesti, elementarne nepogode i dr. Od šećera najzastupljeniji su monosaharidi, najviše heksoze (glukoza i fruktoza), dok su u manjoj mjeri zastupljene pentoze (arabinoza, ksiloza i ramnoza) te disaharid saharoza. Mošt može sadržavati i trisaharid rafinozu te oligosaharide maltozu i melobiozu. Poslije šećera najvažniji sastojak mošta su kiseline. Kiselost mošta potječe upravo od kiselina i njihovih soli u vezanom ili slobodnom obliku. Njihova količina ovisi o sorti vinove loze i stupnju zrelosti grožđa te vremenskim uvjetima tijekom dozrijevanja grožđa. Kiselost grožđanog soka nije podjednako raspoređena u unutrašnjosti bobice grožđa već postepeno raste od periferne zone prema unutrašnjosti. To je važno znati kod prešanja grožđa jer što se duže preša, to će više kiselina biti u moštu. Ukupna kiselost se izražava kao vinska kiselina u g/L. Realna kiselost pokazuje koncentraciju slobodnih vodikovih ( $H^+$ ) iona koja se izražava kao pH-vrijednost. Kiseline su važne za niz biokemijskih reakcija u vinu te za okus vina. Osim toga utječu pozitivno na vrenje mošta jer sprječavaju rad štetnih bakterija. Mogu se podijeliti na organske i anorganske. Od organskih kiselina najčešće su vinska, jabučna, limunska, dok su u manjoj mjeri zastupljene jantarna, glikolna, oksalna, glukonska i glukuronska kiselina. U moštu se nalaze i ostale tvari poput fenola, pektinskih tvari, dušičnih spojeva, vitamina, enzima te aromatskih i mineralnih tvari. Fenoli su organski spojevi kod kojih je hidroksilna grupa neposredno vezana na ugljikov atom aromatske jezgre. Ti spojevi važni su za formiranje senzorskih svojstava vina, u reakcijama posmeđivanja i u oksidacijskim procesima uz djelovanje enzima polifenoloksidaze. Također su važni za fizikalno-kemijsku i biološku stabilizaciju vina. Djeluju antivirusno i baktericidno, a pomažu kod srčanih bolesti i smanjuju kolesterol. Najraširenija grupa prirodnih složenih fenola su tanini. Od dušičnih spojeva u moštu se nalaze proteini, polipeptidi, amini, amidi, aminokiseline i amonijak. Navedeni spojevi znatno utječu na život i rad mikroflore mošta te pridonose pravilnijem tijeku alkoholnog vrenja. Većinu oksidoredukcijskih procesa u moštu i vinu kataliziraju mineralne tvari. Osim toga djeluju na boju i bistroću vina, a važni su i za stabilizaciju vina. Mineralne tvari čine kationi i anioni. Od kationa najviše ima kalija, kalcija, magnezija, natrija i željeza. Od aniona najviše ima fosfata, sulfata i karbonata, a od mikroelemenata zastupljeni su bor, mangan, molibden, rubidij itd. Aromatske spojeve možemo podijeliti na: aromatske spojeve porijeklom iz grožđa, aromatske spojeve nastale tijekom alkoholne fermentacije, aromatske spojeve nastale tijekom dozrijevanja i starenja vina. Vrlo značajna skupina aromatskih spojeva u moštu su terpeni, norisoprenonidi i pirazini.

Fermentacijom mošta nastaju spojevi kao što su etanol, viši alkoholi, neke organske kiseline, acetaldehid, esteri te aromatski spojevi. Etanol je glavni produkt alkoholne fermentacije, daje stabilnost vinu, utječe na senzorska i organoleptička svojstva. Alkoholi koji sadrže više od dva ugljikova atoma nazivaju se višim alkoholima, a nastaju tijekom alkoholne fermentacije, iako ih ima i u grožđu. Vrlo su važni pri dozrijevanju jer iz njih nastaju esteri koji imaju velik utjecaj na aromu vina. Ako se fermentacija vodi pri nižim temperaturama i s nižim koncentracijama  $SO_2$ , dolazi do sinteze voćnih estera kao što su izoamil acetat, izobutil acetat i heksil acetat. Fermentacijom nastaju alkoholi s više hidroksilnih skupina poput glicerola, manitola, eritriola itd. Osim kiselina iz mošta (vinska, jabučna) u vinu se nalaze i druge organske kiseline nastale fermentacijom, kao što su mliječna, octena i jantarna. Kiseline u vinu mogu se podijeliti na hlapive i nehlapive. Hlapive kiseline čine octena, koja je najzastupljenija, zatim mravlja, propionska i maslačna. Nehlapive kiseline čine vinska, jabučna i limunska. Od aldehida u vinu je najzastupljeniji acetaldehid, koji najvećim dijelom nastaje tijekom fermentacije te ima sposobnost vezanja  $SO_2$ . Aromatske spojeve nastale tijekom fermentacije čine alkoholi kao što su etanol te viši alkoholi, esteri (etil acetat, izoamil acetat, izobutil acetat, heksil acetat), kiseline i to prvenstveno masne kiseline (heksanonska, oktanonska, dekanonska), aldehidi, ketoni itd.

## 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. Materijali

- 0,1 M NaOH
- 0,01 M NaOH
- 25 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>
- 30 %-tni KI
- 26 %-tna H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- 1 %-tni škrob
- 0,1 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>
- 1 %-tna glukoza
- Standard za papirnu kromatografiju (po 3 g/L jabučne, vinske, mliječne)
- Octena kiselina
- n-butanol
- Fehling I (69,3 g/L CuSO<sub>4</sub>×5 H<sub>2</sub>O)
- Fehling II (346 g/L K,Na-tartarata)
- Destilirana voda
- Indikatori: -fenolftalein  
- bromfenol-plavi se otopi u etanolu uz dodatak 1 M NaOH
- 0,1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>
- 10% otopina ZnSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O ( Merck, Germany)

### 3.2. Aparature

- Laboratorijska aparatura za određivanje šećera
- Laboratorijska aparatura za određivanje alkohola
- Laboratorijska aparatura za određivanje sumpora
- Laboratorijska aparatura za određivanje hlapivih kiselina
- Laboratorijska aparatura za određivanje ukupnih kiselina
- Laboratorijska aparatura za određivanje jabučne, vinske, mliječne i limunske kiseline

- pH – metar 744 Metrohm (Metrohm, AG; Zofingen, Švicarska)
- HPLC uređaj, Shimadzu CLASS-VP LC-10A<sub>VP</sub> (Shimadzu, Kyoto, Japan)
  - kolona Supelcogel™ C-610H ,30 cm x 7,8 mm ID, 9 μm
  - predkolona Supelcogel™ H , 5 cm x 4,6 mm ID, 9 μm
  - detektor RID-10A
  - crpka LC-10A<sub>VP</sub>
  - otplinjač DGU-14A
  - injektor SIL-10AD<sub>VP</sub>
  - sustav za grijanje CTO-10A<sub>VP</sub>
- Centrifuga Harrier 18/80 (rotor No 43117-612)

### 3.3. Metode

- 3.3.1. Određivanje koncentracije šećera RS-metodom (Određivanje reducirajućih supstanci)

*Postupak:*

Vino: 5 mL vina uz dodatak 20 mL destilirane vode se uzme za uzorak. Doda se 10 mL otopine A (Fehling I) i 10 mL otopine (Fehling II). Kuha se točno 2 minute u tikvici s okruglim dnom od 250 mL uz povratno hladilo, zatim se ohladi pod vodom i doda 10 mL otopine C (30%-tni KI) i 10 mL otopine D (26%-tne H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Sve se dobro izmiješa i doda 2 mL škroba (1%-tna otopina) te titrira s 0,1 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> do prelaza tamno smeđe boje u boju puti koja se treba zadržati 1 minutu.

**GLUKOZA TEST (kontrola):** uzme se 5 mL 1%-tne glukoze i 20 mL destilirane vode (ukupan volumen 25 mL) i ponovi gore opisani postupak.

**SLIJEPA PROBA:** uzme se 25 mL destilirane vode i ponovi gore opisani postupak.

**IZRAČUNAVANJE KONCENTRACIJE ŠEĆERA:**

$$RS = \frac{50 \times (a - b)}{(a - c) \times d}$$

RS = reducirajuće supstance (g/L)

a = mL 0,1 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> utrošeni za slijepu probu  
b = mL 0,1 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> utrošeni za uzorak  
c = mL 0,1 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> utrošeni za kontrolu (glukoza test)  
d = mL uzorka uzeti za analizu

### ➤ 3.3.2. Određivanje alkohola i ekstrakta denzitometrijski

*Princip:*

Količina alkohola i ekstrakta u vinu odredi se pomoću piknometra - količina alkohola na osnovi specifične težine destilata, a količina ekstrakta na osnovi specifične težine ostatka od destilacije. To je tzv. denzitometrijska metoda.

#### *1. Određivanje specifične težine vina*

Piknometar se ispere 2-3 puta s malo vina koje se ispituje. Pomoću specijalnog lijevka napuni se tako da nivo bude iznad oznake na grliću. Temperira se u vodenoj kupelji pri 20 °C / 20 minuta, a zatim se višak vina iznad oznake odstrani pomoću filter papira. Piknometar se dobro obriše i važe da bi se dobila masa piknometra s vinom. Specifična težina vina odredi se na slijedeći način:

$$\gamma = \frac{A - B}{C}$$

A - masa piknometra s vinom (destilatom ili ostatkom od destilacije)

B - masa praznog piknometra

C - vodena vrijednost piknometra

Vrijednosti B i C potrebne za računanje određene su ranije za svaki pojedini piknometar.

#### *2. Određivanje količine alkohola u vinu*

Nakon određivanja specifične težine, vino se iz piknometra prenese u tikvicu za destilaciju od 250 mL. Važno je pritom isprati piknometar 2 - 3 puta s nekoliko mililitara hladne destilirane vode i to sve prelići u tikvicu za destilaciju. Prilikom destilacije, destilat se hvata u isti piknometar preko specijalnog lijevka, koji služi za punjenje piknometra. U piknometar se



ulije malo destilirane vode tako da je vrh lijevka uronjen u nju. Destilacija traje dok se piknometar ne napuni destilatom do 3/4 njegovog volumena. Tada se piknometar napuni destiliranom vodom do ispod oznake i stavi u vodenu kupelj na 20 °C / 20 minuta, a zatim nadopuni do oznake destiliranom vodom, obriše i važe. Specifična težina destilata izračunava se kao pod 1. Na osnovi specifične težine destilata iz tablice (po Windischu) očita se količina alkohola u g/L vina, a iz ove vrijednosti volumni postoci etanola.

### ➤ 3.3.3. Određivanje alkohola kemijskom metodom

#### *Postupak:*

Vino se razrijedi u odnosu 1:10, tako da se u odmjernu tikvicu od 50 mL stavi 5 mL vina i dopuni destiliranom vodom do oznake. U postupak se uzima 5 mL ovako razrijeđenog vina koje se stavi u tikvicu za destilaciju od 50 mL, doda još 5-6 mL destilirane vode i sadržaj neutralizira s 0,1 M NaOH uz univerzalni indikator. U Erlenmayerovu tikvicu od 100 mL, u koju će se hvatati destilat, stavi se točno 10 mL otopine kalijevog bikromata i 5 mL koncentrirane H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Destilat se preko hladila i lule uvodi u otopinu kalijevog bikromata u Erlenmayerovu tikvicu od 100 mL, koja mora biti u rashlađenoj vodi. Destilacija treba biti polagana i postepena i traje dok se sadržaj u tikvici za destilaciju ne smanji na približno 3 mL (za to vrijeme je alkohol predestilirao). Po završetku destilacije lula se ispere iznutra s nekoliko mlazova destilirane vode u istu Erlenmayerovu tikvicu u koju se hvatao destilat. Sadržaj Erlenmayerove tikvice se promućka, začepi gumenim čepom i ostavi stajati 5 minuta radi potpune oksidacije alkohola. Tijekom oksidacije alkohola utroši se jedan dio bikromata, dok drugi ostane u suvišku. Zatim se sadržaj kvantitativno prebaci u Erlenmayerovu tikvicu od 500 mL (isperemo tikvicu), doda se oko 200 mL destilirane vode radi razrijeđenja i 10 mL 20 %-tne otopine KI (radi određivanja preostale količine kalijevog bikromata) i ostavi začepljeno 5 minuta. Tada dolazi do oksido-redukcijskog procesa preostalog kalijevog bikromata i KI: krom se iz šesterovalentnog reducira u trovalentni, a jod iz KI se oksidira u elementarni jod, zbog čega otopina dobije tamniju boju. Pritom se elementarni jod oslobađa u količini ekvivalentnoj kalijevom bikromatu. Titrira se 0,1 M otopinom natrijevog tiosulfata, pri čemu dolazi do oksidoredukcije između jod i natrijevog tiosulfata, u kojoj se jod reducira, a tiosulfat oksidira. Kad boja postane svjetlija doda se 5 mL 1%-tne otopine škroba i titracija nastavi do pojave tirkizno-zelene boje. Prijelaz boje je vrlo jasan i nastaje čim nestanu posljednje količine joda.

*Izračunavanje količine alkohola:*

$$\mathbf{Alkohol(vol\%)} = \left( 10 - \frac{a}{6,9} \right) \times 2$$

a = utrošak 0,1 M otopine Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

### ➤ 3.3.4. Određivanje sumpora (uobičajena metoda)

#### *1. Određivanje slobodnog sumpora (20 minuta bez grijanja)*

U tikvicu za kuhanje otpipetira se preko lijevka 10 mL vina koje analiziramo i 5 mL fosforne kiseline (w = 25 %). U manju, apsorpcijsku tikvicu treba dodati već pripremljeni reagens tako da nivo bude do proširenog grla apsorpcijske tikvice. Obavezno otvoriti vodu koja struji kroz hladilo te vodu u vakuum sisaljci do pojave mjehurića u menzuri na jednoj strani i u tikvicama aparature. Nakon 20 minuta skinuti tikvicu s reagensom i titrirati s 0,01 M NaOH. Utrošene mL 0,01 M NaOH treba pomnožiti s 32 da bi se dobili mg slobodnog SO<sub>2</sub> u 1 litri vina.

#### *2. Određivanje vezanog sumpornog dioksida*

Vino koje je nakon određivanja slobodnog sumpora ostalo u tikvici za kuhanje ostaje i dalje u toj tikvici. Mijenja se reagens u maloj apsorpcijskoj tikvici, a zatim se pod tikvicu za kuhanje stavi plamenik sa što manjim plamenom, pa se grije se uz lagano vrenje točno 10 minuta. Utrošene mL 0,01 M NaOH pomnožimo s 32 i dobijemo mg vezanog SO<sub>2</sub> u 1 litri vina.

#### *3. Određivanje ukupnog sumpora*

Ukupni SO<sub>2</sub> dobije se zbrajanjem vrijednosti slobodnog i vezanog SO<sub>2</sub>.

*Priprema indikatora u otopini H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:*

U 100 mL destilirane vode dodati 2 mL vodikovog peroksida i indikatora po potrebi do prljavo sivoplave boje (2 - 3 mL).

INDIKATOR: Smjesa otopine A i B (100 mL A + 15 mL B)

OTOPINA A: 0,03 g metilnog crvenila u 100 mL 96 % alkohola

OTOPINA B: 0,1 g metilnog plavila u 100 mL destilirane vode

Otopine A i B mogu se koristiti dulje vrijeme, a otopina peroksida mora svaki dan biti svježja. Ukoliko je indikator ljubičaste boje, reakcija je kisela i treba ga neutralizirati lužinom, a ako je zelene boje, reakcija je lužnata i treba ga neutralizirati kloridnom kiselinom. Ovo se provodi tako da se reagens promiješa staklenim štapićem uronjenim u kiselinu odnosno lužinu.

### ➤ 3.3.5. Određivanje ukupnih kiselina u vinu

*Princip određivanja ukupnih kiselina:*

Sve slobodne organske i anorganske kiseline i njihove kisele soli te druge kisele tvari neutraliziraju se otopinom natrijevog hidroksida, iz čijeg se utroška računa količina ukupnih kiselina. Ukupna kiselost izražava se kao vinska kiselina u g/L. Kako se natrijev hidroksid troši na neutralizaciju svih spomenutih kiselina, količina ukupnih kiselina mora se izraziti u jednoj od kiselina koje se nalaze u moštu. Obzirom da je u moštu najvažnija vinska kiselina, u većini zemalja se preko nje izražava količina ukupnih kiselina. U nekim zemljama, npr. Francuskoj, ukupne kiseline izražavaju se kao sumporna.

*Postupak:*

Prije analize potrebno je baždariti pH - metar. Nakon toga trbušastom pipetom uzeti 25 mL vina i staviti u čašu od 100 mL te odrediti pH.

Vino se zagrije do vrenja da se ukloni CO<sub>2</sub>, a zatim se dobro ohladi i pristupi titraciji s 0,1 M NaOH uz pH-metar. NaOH se dodaje sve do pH = 7.

*Izračun:*

$$y = V \times 0,3 \times f$$

$\gamma$  = masena koncentracija ukupnih kiselina, izraženih kao vinska kiselina [g/L]

V = volumen otopine natrij hidroksida koncentracije 0,1 mol/L [mL]

f = faktor otopine natrij hidroksida koncentracije 0,1 mol/L (f = 1,0000)

1 mL NaOH koncentracije 0,1 mol/L odgovara 0,3 g/L vinske kiseline.

### ➤ 3.3.6. Određivanje hlapivih kiselina po polumikro postupku

*Princip određivanja hlapivih kiselina:*

Hlapive kiseline određuju se tako da se destilacijom vina prevode u destilat, a zatim neutraliziraju otopinom natrijevog hidroksida, na temelju čijeg utroška se izračuna količina hlapivih kiselina. Octena kiselina isparava teže od alkohola i vode, pa se destilacija provodi u struji vodene pare, čime se omogućava da cjelokupna količina octene kiseline pređe u destilat.

*Postupak:*

Za određivanje hlapivih kiselina uzima se trbušastom pipetom 5 mL uzorka, stavi se u tikvicu kruškastog oblika i doda se 1 mL 25% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Pri tome treba paziti da površina vode u Erlenmayer tikvici za proizvodnju pare bude uvijek iznad nivoa tekućine u kruškastoj tikvici. Za vrenje vode u Erlenmayer tikvici treba ubaciti nekoliko komadića porozne gline ili staklene kuglice. Od probe treba predestilirati 60 mL, a dobiveni destilat zagrijati do početka vrenja i titrirati uz fenolftalein s 0,1 M natrij hidroksidom.

*Izračunavanje:*

$$y = V \times 1,2$$

$\gamma$  = masena koncentracija hlapivih kiselina, izraženih kao octena kiselina [g/L]

V = volumen otopine natrij hidroksida koncentracije 0,1 mol/L [mL]

1 mL NaOH koncentracije 0,1 mol/L odgovara 1,2 g/L octene kiseline.

### ➤ 3.3.7. Određivanje jabučne, vinske, mliječne i limunske kiseline papirnom kromatografijom

*Postupak:*

Pri rukovanju s kromatografskim papirom potrebno je raditi s kirurškim rukavicama. Za određivanje kiselina u uzorku vina koristi se kromatografski papir Whatman No 1, koji se izreže na odgovarajuće dimenzije (55 x 192 mm). Na kromatografskom papiru povuče se grafitnom olovkom startna linija po širini papira na visini od 2,5 cm od osnove. Na liniji se obilježe točke na udaljenosti 1,5 cm od ruba papira i na ta obilježena mjesta nanosi se po 50

μL smjese standarda (koja sadrži po 3 g/L mliječne, jabučne i vinske kiseline) odnosno uzorka vina.

Nanosi se kap po kap, a mrlje odmah suše toplim zrakom (fenom) tako da promjer mrlja bude maksimalno 3 mm. Nakon nanošenja i sušenja, radi razvijanje kromatograma papir se stavlja u kadu za kromatografiju u kojoj se nalazi ranije pripremljena smjesa otapala ovog sastava:

- octena kiselina 10 mL
- n - butanol 40 mL
- destilirana voda 50 mL

Vrijeme razvijanja kromatograma je 2 do 3 sata, nakon čega treba označiti frontu otapala grafitnom olovkom prije nego se kromatogram počne sušiti. Zatim slijedi sušenje na zraku, uranjanje u otopinu indikatora i ponovo sušenje na zraku. Na temelju položaja mrlja na kromatogramu u odnosu na poznatu smjesu standarda, Rf vrijednosti se izračunavaju prema izrazu:

$$Rf = \frac{\text{udaljenost sredine mrlje od starta}}{\text{udaljenost fronte otapala od starta}}$$

Rf (mliječna kiselina) = 0,85

Rf (jabučna kiselina) = 0,65

Rf (vinska kiselina) = 0,25

*Priprema smjese za razvijanje kromatograma:*

Smjesa octene kiseline, n-butanola i destilirane vode stavlja se u lijevak za odjeljivanje i promućka, a kao razvijatelj koristi se gornja bistra faza. Nakon razvijanja i sušenja kromatograma, on se uroni u otopinu indikatora (bromfenol-plavo).

*Volumen otapala u kadi za kromatografiju:* (10+40+50) x 2

*Priprema otopine indikatora:*

100 mg bromfenol-plavog otopi se u apsolutnom etanolu u odmjernoj tikvici od 100 mL, te doda 2-3 kapi 1M NaOH za postizanje lagano lužnate otopine.

### ➤ 3.3.8. Određivanje glukoze, glicerola, etanola, mliječne i octene kiseline HPLC metodom

*Princip:*

HPLC je analitička metoda koja omogućava separaciju sastojaka na osnovi kemijskih interakcija između tvari koja se analizira i stacionarne faze u stupcu. Mobilna faza je tekućina

i sastojke odnosi u kolonu u kojoj se razdvajaju njegovi sastojci. Sastojci koji se kromatografiraju raspoređuju se između dviju faza – stacionarne i mobilne – pri čemu mobilna faza prolazi kroz stacionarnu noseći sa sobom sastojke. Kromatografski proces se odvija kao rezultat ponavljanih sorpcijsko-desorpcijskih zbivanja tijekom prolaza uzorka kroz stacionarnu fazu i odvajanja sastojaka uslijed razlika koeficijenata raspodjele pojedinih njegovih komponenata

*Postupak :*

Uzorak vina se razrijedi 5 puta i 10 puta. U svako razrjeđenje potrebno je dodati  $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  kako bi se mogući proteini istaložili, jer se proteini mogu taložiti na koloni. Razrjeđenja smo napravili prema Tablici 1:

**Tablica 1.** Razrjeđenja uzorka

	Razrjeđenje 5×	Razrjeđenje 10×
Vino ( $\mu\text{L}$ )	200	100
Voda ( $\mu\text{L}$ )	300	400
$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ ( $\mu\text{L}$ )	500	500

Uzorci se vorteksiraju 20 sekundi i puste da odstoje 20 minuta. Nakon toga se centrifugiraju 5 minuta na 10.000 o/min. Na kolonu (Supelco C610H ,30 cm x 7,8 mm) injektira se 20 $\mu\text{L}$  (autosampler) svakog uzorka te postavi temperatura od 55 °C i protok od 0,5 mL/min. Kao mobilna faza koristi se 0,1 %  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , a komponente se detektiraju RID-detektorom.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Rezultati analize parametara kemijskim metodama

Rezultati laboratorijske kemijske analize bijelog vina domaće proizvodnje vrgoračkog vinogorja prikazani su u Tablici 2.

**Tablica 2.** Rezultati laboratorijske kemijske analize

ŠEĆER (g/L)	5,784
HLAPIVE KISELINE (g/L)	0,36
UKUPNE KISELINE (g/L)	5,619
ALKOHOL (kemijski) (VOL%)	11,254
ALKOHOL (denzometrijski) (VOL%)	11,36
SLOBODNI SUMPOR (mg/L)	2,4
VEZANI SUMPOR (mg/L)	1,6
UKUPNI SUMPOR (mg/L)	4,0

## 4.2. Rezultati analize parametara HPLC metodom

Rezultati HPLC analize bijelog vina domaće proizvodnje vrgoračkog vinogorja prikazani su u Tablici 3.

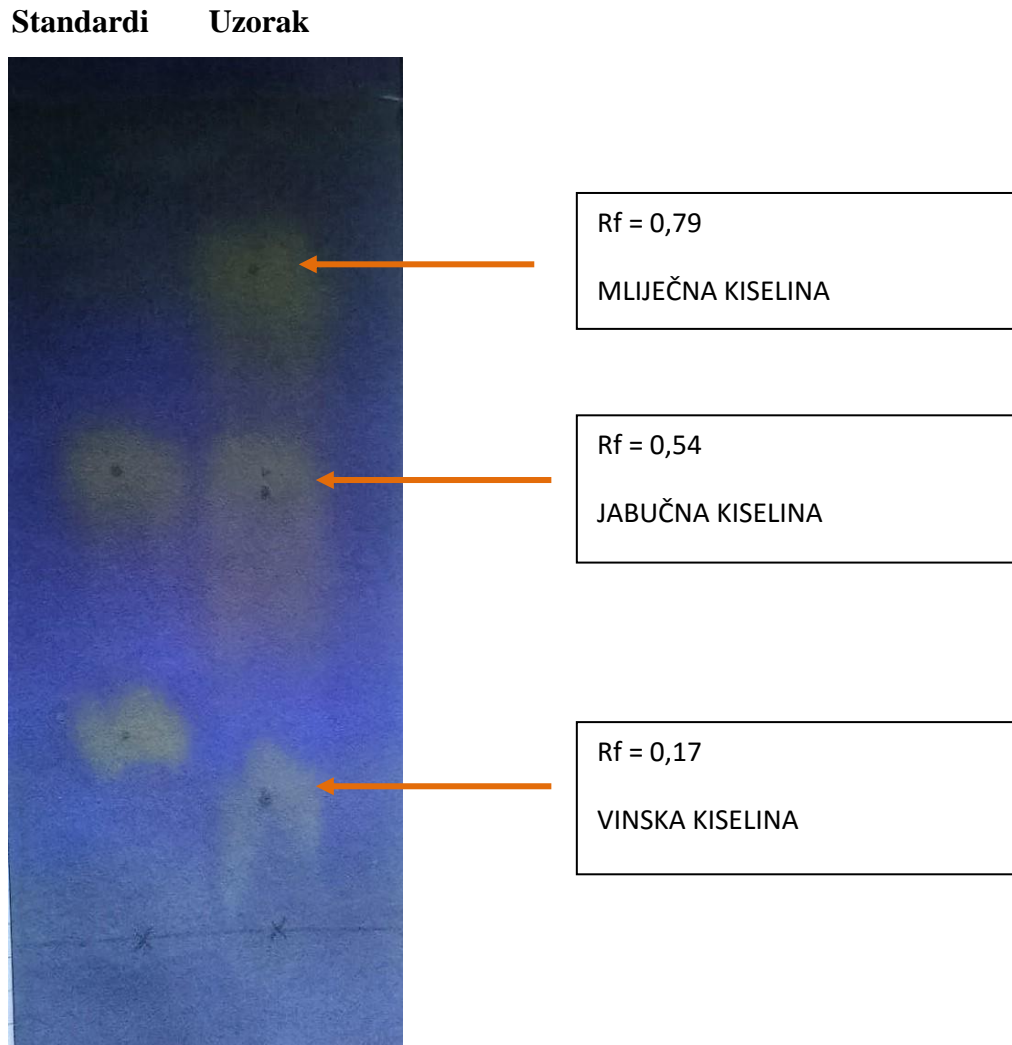
**Tablica 3.** Rezultati HPLC analize

	Razrjeđenje 5×	Razrjeđenje 10×	Srednja vrijednost
GLUKOZA (g/L)	0,00	0,00	0,00
GLICEROL (g/L)	9,90	9,35	9,625
MLIJEČNA KISELINA (g/L)	1,55	1,25	1,4
OCTENA KISELINA (g/L)	0,00	0,00	0,00
ETANOL (% vol)	13,06	12,57	12,815



### 4.3. Rezultati analize kiselina papirnom kromatografijom

Na Slici 10. prikazan je kromatogram analiziranog vina domaće proizvodnje, vrgoračkog vinogorja.



**Slika 10.** Kromatogram

## 5.RASPRAVA

Prema članku 5, Pravilnika o vinu Ministarstva poljoprivrede i šumarstva, vinogradarsko područje Hrvatske razvrstano je u slijedeće zone proizvodnje:

1. Zona B obuhvaća ove podregije: Moslavina, Prigorje-Bilogora, Plešivica, Pokuplje i Zagorje-Međimurje.
2. Zona C1 obuhvaća ove podregije: Podunavlje, Slavonija.
3. Zona C2 obuhvaća ove podregije: Istra, Hrvatsko Primorje i Dalmatinska Zagora.
4. Zona C3 obuhvaća ove podregije: Sjeverna, Srednja i Južna Dalmacija.

Prema članku 8, Pravilnika o vinu Ministarstva poljoprivrede i šumarstva, u vinogorjima regije Primorska Hrvatska smiju se saditi slijedeće sorte vinove loze (Vrgoračko vinogorje, podregija Dalmatinska zagora):

- a) preporučene sorte: Maraština bijela, Zlatica bijela, Medna bijela, Okatac (glavinuša) crni, Merlot crni, Plavina crna, Cabernet sauvignon crni;
- b) dopuštene sorte: Žilavka bijela, Trbljan (Kuč) bijeli, Ugni blanc bijeli, Vranac crni.

Prema članku 10, Pravilnika o vinu Ministarstva poljoprivrede i šumarstva:

- (1) Oznaka kontroliranog podrijetla stolnih vina ustanovljava se za vinogradarsku regiju, podregiju odnosno vinogorje.
- (2) Stolna vina s kontroliranim podrijetlom mogu se proizvoditi od grožđa preporučenih i dopuštenih sorata vinove loze utvrđenih ovim Pravilnikom (članak 7. i 8.), koje potječe iz jedne vinogradarske regije.
- (3) Visina prinosa grožđa za proizvodnju stolnih vina s kontroliranim podrijetlom može iznositi do:
  - 11.000 kg/ha u zoni B,
  - 13.000 kg/ha u zoni C1,
  - 13.000 kg/ha u zoni C2,
  - 14.000 kg/ha u zoni C3.
- (4) Za proizvodnju stolnih vina s kontroliranim podrijetlom dopušta se randman vina do 75 %, računajući nakon prvog pretakanja.

(5) Punjenje stolnih vina s oznakom kontroliranog podrijetla mora se obavljati na području regije.

Prema članku 39, Pravilnika o vinu Ministarstva poljoprivrede i šumarstva, najmanji sadržaj stvarnog alkohola u vinu u prometu, ovisno od kakvoće i zone proizvodnje, mora biti (u volumnim %):

#### Zona B

- za stolno vino i stolno vino s oznakom kontroliranog podrijetla 8,5
- za kvalitetno vino s oznakom kontroliranog podrijetla 9,5
- za vrhunsko vino s oznakom kontroliranog podrijetla 10

#### Zona C1

- za stolno vino i stolno vino s oznakom kontroliranog podrijetla 9,5
- za kvalitetno vino s oznakom kontroliranog podrijetla 10
- za vrhunsko vino s oznakom kontroliranog podrijetla 10,5

#### Zona C2

- za stolno vino i stolno vino s oznakom kontroliranog podrijetla 10
- za kvalitetno vino s oznakom kontroliranog podrijetla 10,5
- za vrhunsko vino s oznakom kontroliranog podrijetla 11

#### Zona C3

- za stolno vino i stolno vino s oznakom kontroliranog podrijetla 10
- za kvalitetno vino s oznakom kontroliranog podrijetla 11
- za vrhunsko vino s oznakom kontroliranog podrijetla 11,5

Prema članku 50, Pravilnika o vinu Ministarstva poljoprivrede i šumarstva:

(1) Ministarstvo može na prijedlog Zavoda dopustiti proizvođaču da masulju ili moštu doda šećer ili koncentrirani mošt ako je zbog loših vremenskih prilika sadržaj groždanog šećera u masulju ili moštu manji od prosječnog (članak 18. stavak 1. točka 1. Zakona o vinu).

(2) Prosječan sadržaj šećera podrazumijeva sadržaj šećera u grožđu ostvaren na odgovarajućem području za odgovarajuću sortu u toku najmanje pet godina, izuzimajući one godine kada je dodavan šećer.

(3) U slučaju iz stavka 1. ovoga članka šećer se može dodavati u količini koja je potrebna da se postigne normalni slador za određenu sortu i određeno područje, ali ne više od 3,4 kg

šećera na 100 litara mošta, ili 3 kg šećera na 100 kg masulja, osim u zoni B, gdje se može dodati najviše 4,2 kg šećera na 100 litara mošta.

Prema članku 46, Pravilnika o vinu Ministarstva poljoprivrede i šumarstva, vino u prometu mora sadržavati:

1. ukupnih kiselina, izraženih kao vinska kiselina, najmanje 4,5 g/L i najviše 14 g/L;

2. šećera (u gramima na litru; g/L):

- suho vino sadrži u pravilu najviše 4 g/L neprevrelog šećera. Suho vino s visokim prirodnim kiselinama može imati i veću količinu neprevrelog sladora, koja može biti jednaka sadržaju kiselina (izraženih kao vinska kiselina u g/L), povećan za 2 g/L, a najviše može imati 9 g/L.

- polusuho vino sadrži u pravilu od 4 do 12 g/L neprevrelog sladora. Vino s visokim sadržajem kiselina može imati i veću količinu neprevrelog sladora, koja može biti jednaka ukupnom sadržaju kiselina (izraženih kao vinska kiselina u g/L), povećan za 10 g/L, a najviše može imati 18 g/L.

- poluslatko vino sadrži u pravilu od 12 do 50 g/L neprevrelog sladora i

- slatko vino sadrži preko 50 g/L neprevrelog sladora.

3. glicerola: najmanje 5,0 g/L.

Prema članku 6, Pravilnika o proizvodnji vina Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva, ukupni sadržaj sumpornog dioksida u vinima, osim kod pjenušavih, gaziranih i specijalnih vina u prometu ne smije biti veći od:

– 160 mg/L kod crnih vina, od toga slobodnog najviše do 30 mg/L;

– 210 mg/L kod ružičastih i bijelih vina, od toga slobodnog najviše do 40 mg/L.

Iznimno od stavka 1. ovog članka ukupni sadržaj sumpornog dioksida kod vina sa ostatkom šećera većim od 5 g/L, izraženo kao invertni šećer, može biti:

– 210 mg/L kod crnih vina, od toga slobodnog najviše do 40 mg/L,

– 260 mg/L kod ružičastih i bijelih vina, od toga slobodnog najviše do 50 mg/L;

– 300 mg/L, od toga slobodnog najviše 50 mg/L kod vina sa oznakom kasna berba;

– 350 mg/L, od toga slobodnog najviše 60 mg/L kod vina sa oznakom izborna berba;

– 400 mg/L, od toga slobodnog najviše 70 mg/L kod vina sa oznakom izborna berba bobica, izborna berba prosušenih bobica i ledeno vino.

Prema Članku 7, Pravilnika o proizvodnji vina Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva, hlapiva kiselost, izražena kao octena kiselina, u proizvodima u prometu ne smije biti veća od:

- 0,8 g/L u moštu u fermentaciji i mladom vinu;
- 1,0 g/L u ružičastim i bijelim vinima;
- 1,2 g/L u crnim vinima, u vinima kasne berbe i vinima izborne berbe;
- 1,8 g/L u desertnim vinima, vinima izborne berbe bobica, vinima izborne berbe prosušenih bobica i ledenom vinu.

Navedene granice hlapive kiselosti iz stavka 1. ovog članka odnose se na sve proizvode od grožđa proizvedenog u Republici Hrvatskoj.

Iznimno od odredbe stavka 1. ovog članka, hlapiva kiselost može biti veća, kod vina s ukupne alkoholne jakosti veće od 13 vol %.

Bijelo domaće vino vrgoračkog vinogorja pripada zoni proizvodnje C2. Proizvedeno je od tri stolne sorte koje pripadaju preporučenim (Zlatica, Medna) i dopuštenim sortama (Kuč). Vino pripada polusuhom s obzirom na koncentraciju neprevrelog šećera od 5,784 g/L. Sadržaj alkohola određen kemijskim metodama (11,3 vol. %) razlikuje se od sadržaja određenog HPLC metodom (12,8 vol. %), međutim HPLC je točnija metoda. Prilikom proizvodnje vina, udio sladora u masulju povećao se dodatkom 3,5 kg šećera na 100 kg masulja. Stoga je udio alkohola u vinu neznatno viši od udjela alkohola određenog kemijskim metodama te prelazi minimalni sadržaj definiran za zonu C2. 2015. godina je bila godina s malo padalina i puno sunčanih dana što je rezultiralo kvalitetnim grožđem s puno šećera i mineralnih tvari. Zbog toga vino nije u skladu s člankom 50, Pravilnika o vinu Ministarstva poljoprivrede i šumarstva. Nadalje, vino sadrži 5,6 g/L ukupnih kiselina, što je u skladu s Pravilnikom o vinu. Sadržaj hlapivih kiselina u vinu (0,36 g/L) ne prelazi dozvoljenu granicu od 1 g/L. Vino nije prošlo potpuno dozrijevanje pa u skladu s tim možemo ga smatrati mladim vinom pa je sadržaj hlapivih kiselina također u dozvoljenim granicama (0,8 g/L). Hlapive kiseline su pokazatelj kvalitete i zdravstvenog stanja grožđa, stoga prema podacima može se vidjeti da je vino zdravo i da nije bilo aktivnosti octenih bakterija. Tijekom proizvodnje u masulj je dodano 6,5 g vinobrana na 100 kg masulja, udio slobodnog sumpora u vinu je iznosio 2,4 mg/L, a ukupnog 4 mg/L što je u skladu s Pravilnikom o proizvodnji vina Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva. Glicerol (9,625 g/L), određen HPLC metodom prelazi granicu od propisanih 5 g/L što pridonosi punoći, harmoničnosti, pitkosti, slatkosti i viskozitetu vina. Papirnom kromatografijom utvrđena je prisutnost vinske, mliječne

i jabučne kiseline, dok je pomoću HPLC metode određena koncentracija mliječne kiseline od 1,4 g/L što upućuje na spontanu jabučno-mliječnu fermentaciju. Octena kiselina nije bila prisutna što rezultira i manjim udjelom hlapivih kiselina.

## 6. ZAKLJUČAK

Bijelo domaće vino vinogorja Vrgorac, podregije Dalmatinska zagora proizvedeno je od tri sorte Zlatarica, Medna i Kuč sadržavalo je:

11,31 vol. % alkohola (kemijskim metodama) tj. 12,82 vol. % alkohola (HPLC metoda);

5,62 g/L ukupnih kiselina i 0,36 g/L hlapivih kiselina;

5,78 g/L neprevrelog šećera, od čega glukoze 0,00 g/L (HPLC metoda);

9,625 g/L glicerola (HPLC metoda);

4,00 mg/L ukupnog sumpora, od čega slobodnog 2,4 mg/L.

Papirnom kromatografijom je potvrđena prisutnost mliječne, jabučne i vinske kiseline.

HPLC metodom utvrđena je prisutnost mliječne kiseline (1,4 g/L) što upućuje na provedenu spontanu jabučno-mliječnu fermentaciju.

Budući da je tijekom proizvodnje, usprkos dobroj godini na 100 kg masulja, dodano 3,50 kg šećera, vino nije u skladu s člankom 50, Pravilnika o vinu Ministarstva poljoprivrede i šumarstva.

Analiza ostalih parametara kakvoće pokazala je da je domaće vino u skladu s Pravilnikom o vinu iz 1996. godine.

## 7. LITERATURA

- Anonimus 1, (2016) [http://winesofdalmatia.eu/shop/?page\\_id=82](http://winesofdalmatia.eu/shop/?page_id=82), pristupljeno 13.5.2016.
- Anonimus 2, (2016) <http://www.agroklub.com/vinogradarstvo/izdasni-urod-grozdja-kako-ga-otkupiti/10946/>, pristupljeno 13.5.2016
- Anonimus 3, (2016) [www.vinopedia.hr](http://www.vinopedia.hr), pristupljeno 19.05.2016.
- Anonimus 4, (2016) [http://www.veleri.hr/files/datoteke/nastavni\\_materijali/k\\_vinarstvo\\_1/3\\_-\\_Vinifikacija\\_sa\\_presama.pdf](http://www.veleri.hr/files/datoteke/nastavni_materijali/k_vinarstvo_1/3_-_Vinifikacija_sa_presama.pdf), pristupljeno 19.05.2016.
- Anonimus 5, (2016) [http://www.amgrupa.hr/upload/katalog/714006490\(23\).jpg](http://www.amgrupa.hr/upload/katalog/714006490(23).jpg), pristupljeno 19.05.2016.
- Anonimus 6, (2016) <http://migros.rs/Asortiman/presa.jpg>, pristupljeno 19.05.2016.
- Anonimus 7, (2016) [http://www.veleri.hr/files/datoteke/nastavni\\_materijali/k\\_vinarstvo\\_2/1a\\_fermentacije\\_stabilizacije.pdf](http://www.veleri.hr/files/datoteke/nastavni_materijali/k_vinarstvo_2/1a_fermentacije_stabilizacije.pdf), pristupljeno 22.05.2016.
- Anonimus 8, (2016) [http://www.veleri.hr/files/datoteke/nastavni\\_materijali/k\\_vinarstvo\\_1/1\\_-\\_Kemijski\\_sastav.pdf](http://www.veleri.hr/files/datoteke/nastavni_materijali/k_vinarstvo_1/1_-_Kemijski_sastav.pdf), pristupljeno 22.05.2016.
- Anonimus 9, (2016) [http://www.veleri.hr/files/datoteke/nastavni\\_materijali/k\\_vinarstvo\\_1/5\\_-\\_Tiho\\_vrenje\\_0.pdf](http://www.veleri.hr/files/datoteke/nastavni_materijali/k_vinarstvo_1/5_-_Tiho_vrenje_0.pdf), pristupljeno 22.05.2016.
- Anonimus 10, (2016) [http://www.veleri.hr/files/datoteke/nastavni\\_materijali/k\\_vinarstvo\\_2/vinarstvo\\_iii\\_-\\_novo.pdf](http://www.veleri.hr/files/datoteke/nastavni_materijali/k_vinarstvo_2/vinarstvo_iii_-_novo.pdf), pristupljeno 22.05.2016.
- Anonimus 11, (2016) <http://www.vinogradarstvo.com/preporuke-i-aktualni-savjeti/aktualni-savjeti-vinogradarstvo/berba-grozda>, pristupljeno 22.05.2016.
- Anonimus 12, (2016) <http://www.bioinstitut.hr/blog/hrana-i-predmeti-opce-uporabe/vino-i-sumporni-dioksid-18/>, pristupljeno 20.05.2016.
- Bašić, Ž. (1999) Vina Dalmacije, Zadružni savez Dalmacije, Split.
- Grba, S. (2010) Kvasci u biotehnološkoj proizvodnji, Plejada, Zagreb.
- Mirošević, N., Turković, Z. (2003) Ampelografski atlas, 1. izd., Golden marketing - Tehnička knjiga, Zagreb.
- Pezo, I. (2004) Dobra je priprema pola vina, a grožđe druga polovina, Slobodna Dalmacija, <http://arhiv.slobodnadalmacija.hr/20040922/vrt01.asp>, pristupljeno 15.05.2016.



Pezo, I., Budić Leto, I., Kačić, S., Zdunić, G., Mirošević, N.(2006)Medna bijela (Vitis vinifera L.) – Ampelographic properties, [http://www.agr.unizg.hr/smotra/pdf\\_71/acs71\\_12.pdf](http://www.agr.unizg.hr/smotra/pdf_71/acs71_12.pdf), pristupljeno 15.06.2016.

Primorac, M. (2015) Bit će ovo jedna od boljih godina za vrgoračke vinare, Slobodna Dalmacija, <http://www.slobodnadalmacija.hr/dalmacija/split-zupanija/clanak/id/286734/bit-ce-ovo-jedna-od-boljih-godina-za-vrgoracke-vinare>, pristupljeno 01.06.2016.

PRAVILNIK O VINU (1996) na temelju članka 56. stavka 1. Zakona o vinu ("Narodne novine", br. 34/95).

Tadejević, V. (2005) Praktično podrumarstvo, Marjan tisak, Split.

ZAKON O VINU (2003) *Narodne novine* 96, (NN 96/2003).

Zuber, D. (2016) Sumpor-dioksid ( SO<sub>2</sub>) u vinu, <http://www.savjetodavna.org/Dokumenta81/Sumpor%20dioksid%20u%20vinu.pdf>, pristupljeno 15.05.2016.

Zuber, D. (2016) Pretakanje vina, <http://www.savjetodavna.org/Savjeti/Pretakanje%20vina.pdf>, pristupljeno 22.05.2016.