

Procjena kvalitete i kategorizacija vina Graševina Iločkog vinogorja

Perković, Lucija

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

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:159:562758>

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**

Lucija Perković

6900/BT

**Procjena kvalitete i kategorizacija vina
Graševina Iločkog vinogorja
ZAVRŠNI RAD**

Predmet: Biotehnološki aspekti proizvodnje vina

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

Zagreb, 2018.

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 piva i slada
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Biotehnologija

Procjena kvalitete i kategorizacija vina Graševina

Iločkog vinogorja

Lucija Perković, 0058205037

Sažetak: Graševina je rasprostranjena sorta grožđa u svim dijelovima kontinentalne Hrvatske. Ona je naime, gospodarski najvažnija i najraširenija hrvatska sorta vinove loze, te ju isključivo nalazimo u kontinentalnim vinogorjima. Prema službenim podacima i procjeni autoriteta struke, svaki peti trs u hrvatskim vinogradima je Graševina. Dobre je i redovite rodnosti, što je posebno važno naglasiti, jer daje prilično ujednačenu kakvoću. Stoga istoimeno vino po količini proizvodnje, prodaje i konzumacije zauzima vodeće mjesto u Hrvatskoj.

U ovom radu provedena je procjena kvalitete i kategorizacija vina Graševina istog proizvođača prije puštanja u promet. Za ispitivanja su odabrani uzorci dva vina Graševina godina proizvodnje 2016. i 2017., iz podregije Podunavlje, Iločko vinogorje. Provedena je fizikalno-kemijska analiza odabranih uzoraka i rezultati su pokazali da oba vina zadovoljavaju propisane zahtjeve. Prema kategorijama kvalitete vino proizvedeno 2016. godine spada u kategoriju kvalitetnih vina, dok vino proizvedeno 2017. godine spada u kategoriju vrhunskih vina.

Ključne riječi: bijelo vino, GC metoda, Graševina, HPLC metoda, kategorizacija, kvaliteta vina

Rad sadrži: 43 stranice, 5 slika, 10 tablica, 23 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

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

Pomoć pri izradi: Dr. sc. *Antonija Trontel*, asistent

Datum obrane: rujan, 2018.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Biotechnology
Department of Biochemical Engineering
Laboratory of Biochemical Engineering, Industrial Microbiology, Malting and Brewing Technology
Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Biotechnology

Quality evaluation and categorization of wines **Graševina from Ilok vineyards**

Lucija Perković, 0058205037

Abstract: Graševina is a widespread grape variety in all parts of continental Croatia. It is the most important and the most widely used Croatian grape variety, and could be exclusively found in continental vineyards. According to official data and estimation of the profession's authority, every fifth vine in Croatian vineyards is Graševina. It has also a good regular birth rate, which is especially important to emphasize because it gives a fairly uniform quality. Therefore, the wine of the same name, by volume of production, sales and consumption takes the lead in Croatia. This paper evaluates the quality and categorization of Graševina wines of the same producer. prior to release on the market. Two samples of Graševina wines, produced in the years 2016 and 2017, from Podunavlje subregion, Ilok vineyard, were examined. Physico-chemical analysis of selected samples was performed and the results showed that both wines meet the prescribed requirements. According to the quality categories, the wine produced in 2016 falls into the category of quality wines, while the wine produced in 2017 falls into the category of top quality wines.

Keywords: categorization, GC method, Graševina, HPLC method, white wine, wine quality

Thesis contains: 43 pages, 5 figures, 10 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 professor

Technical support and assistance: PhD. *Antonija Trontel*, Assistant

Defence date: September, 2018.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Zemljopisna područja uzgoja vinove loze u Hrvatskoj	2
2.2. Tehnologija proizvodnje bijelih vina	3
2.3. Graševina	4
2.4. Botanička obilježja Graševine	5
2.5. Kemijski sastav bijelog vina	7
2.5.1. Gustoća i relativna gustoća	8
2.5.2. Alkoholna jakost.....	8
2.5.3. Ukupni suhi ekstrakt.....	9
2.5.4. Reducirajući šećeri.....	10
2.5.5. Pepeo (mineralne tvari)	10
2.5.6. pH vrijednost	10
2.5.7. Ukupna kiselost.....	11
2.5.8. Slobodni sumporni dioksid (SO ₂).....	12
2.5.9. Ukupni sumporni dioksid (SO ₂)	13
2.5.10. Fenolni spojevi	13
2.6. Postupci pri utvrđivanju kvalitete bijelih vina	14
2.6.1. Vinogradarske zone proizvodnje.....	15
2.6.2. Fizikalno-kemijski parametri.....	16
2.6.3. Senzorsko ocjenjivanje vina.....	18
3. EKSPERIMENTALNI DIO	19
3.1. Metode	19
3.1.1. Određivanje koncentracije šećera RS-metodom.....	19
3.1.2. Određivanje alkohola (etanola) kemijskom metodom	19
3.1.3. Određivanje alkohola denzimetrijski	21
3.1.4. Određivanje sumporovog dioksida	22
3.1.5. Određivanje ukupnih kiselina u vinu	22
3.1.6. Određivanje hlapljivih kiselina po polumikro postupku	23
3.1.7. Određivanje jabučne, mliječne i vinske kiseline papirnom kromatografijom.....	24
3.1.8. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC)	25
3.1.9. Plinska kromatografija (GC).....	27

3.1.9.1. Analiza hlapljivih komponenti u vinu pomoću plinske kromatografije.....	27
3.1.10. Određivanje glicerola pomoću enzimskog kita	28
3.2. Materijal.....	31
3.2.Aparature.....	32
4.REZULTATI.....	33
4.1. Rezultati osnovne analize vina	33
4.2. Rezultati papirne kromatografije	34
4.3. Rezultati dobiveni tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti.....	34
4.4. Određivanje etanola pomoću enzimskog kita.....	35
4.5. Plinska kromatografija.....	36
4.5.1. Analiza hlapljivih spojeva prisutnih u vinu pomoću plinske kromatografije	36
4.6. Senzorska analiza.....	37
5. RASPRAVA	38
6. ZAKLJUČAK.....	41
7. LITERATURA.....	42

1. UVOD

Prema Zakonu o vinu u Republici Hrvatskoj, definicija vina glasi: Vino je proizvod dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta od grožđa. Pod pojmom grožđe podrazumijeva se zdrav, zreo, prezreo, prosušen ili prirodno smrznut plod vinove loze čiji sok sadrži najmanje 64 °Oechsla (samo u godinama posebno nepovoljnim za zrenje grožđa i uz prethodno mišljenje Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo dopušta se da taj sadržaj ima manje od 64 °Oechsla, ali ne manje od 53 °Oechsla).

Graševina je prema Pravilniku o nacionalnoj listi priznatih kultivara vinske loze (NN 159/04) preporučen kultivar u svim podregijama kontinentalne Hrvatske. Po izgledu i glavnim obilježjima tipična je sorta zapadnoeuropske grupe, a karakterizira je umjerena bujnost, mali, tipični vinski grozd i bobica. Upravo je izgled bobice, koja pred početak dozrijevanja podsjeća na zrno graška, zaslužan za to njezino jedinstveno ime. Nije odveć zahtjevna u vinogradu, rađa dobro i redovito, izvrstan je regulator količine i kakvoće u proizvodnji. Vino Graševina je slamnatožute boje, izraženog mirisa, suhog okusa, srednjeg sadržaja alkohola i ekstrakta, ugodno gorkasto. Već kao mlado vino razvija sortni miris i aromu istaknute svježine.

Kemijski sastav vina bogat je i složen, stoga niti danas, kada je znanost dosegla zavidne granice, nije moguće točno utvrditi koliki je broj tih sastojaka. Šećeri, pektini, veći broj aminokiselina i neki drugi sastojci mošta tijekom vrenja se djelomično ili potpuno razgrađuju pomoću enzima iz stanica kvasaca, pa nastaju novi spojevi kojih u moštu nije bilo, poput etanola. O kemijskom sastavu vina ovisi njegova kakvoća, pa se stoga sastojci poput etanola i šećera moraju obavezno naznačiti na etiketi boce. Isto tako se sastojci poput SO₂ i hlapljive kiselosti prate i određuju tijekom proizvodnje vina u cilju kontrole i zaštite potrošača od mogućih zlouporaba.

U ovom radu će se provesti fizikalno-kemijska analiza dva vina Graševina Iločkog vinogorja proizvedenog u podregiji Podunavlje, godina proizvodnje 2016. i 2017. Prema dobivenim rezultatima, ispitivana vina su svrstana u kategorije kvalitete, u skladu s propisima koje vino mora imati prije puštanja u prodaju.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Zemljopisna područja uzgoja vinove loze u Hrvatskoj

Zemljopisna područja uzgoja vinove loze Republike Hrvatske dijele se na: zone, regije, podregije, vinogorja i vinogradarske položaje (Pravilnik o zemljopisnim područjima uzgoja vinove loze, 2012). Regije su veća geografska područja u kojima vladaju slični uvjeti klime i tla te ostali čimbenici koji su nužno potrebni za uzgoj vinove loze. Podregije su manja geografska područja unutar regija u kojima se neki od čimbenika, o kojima ovisi uzgoj, razlikuju toliko da utječu na kakvoću, okus i prirodu vina (Slika 1). Vinogorje je teritorijalna jedinica definirana ekološkim i drugim uvjetima vinogradarske proizvodnje, a koja se na koncu dijeli na vinogradarske položaje. Oni se, osim na administrativnoj podjeli gradova i općina, temelje i na specifičnostima tih položaja.

Regije su **Istočna kontinentalna Hrvatska** koja se dijeli na podregije Slavonija i Hrvatsko Podunavlje, **Zapadna kontinentalna Hrvatska** koja se dijeli na podregije Moslavina, Prigorje- Bilogora, Zagorje- Međimurje, Plešivica, Pokuplje te **Primorska Hrvatska** koja se dijeli na podregije Hrvatska Istra, Hrvatsko primorje, Sjeverna Dalmacija, Dalmatinska zagora, Srednja i Južna Dalmacija.



Slika 1. Vinogradarske podregije Hrvatske (Anonimus 1, 2016)

Graševina je prema Pravilniku o zemljopisnim područjima uzgoja vinove loze (2012) vino iz vinogorja Ilok koji je dio podregije Podunavlje svrstane u regiju Istočna kontinentalna Hrvatska.

Vino analizirano u ovom radu dolazi iz povijesnog grada Iloka (položaj Principovac). Jedinstveno tlo, posebna klima i položaj na Dunavu pogodovali su uzgoju vinove loze, što je prepoznato još u prapovijesti, u antičkom i rimskom razdoblju, te u zlatno doba srednjeg i novog vijeka.

Značajniji napredak vinogradarstva i vinarstva ovoga grada zabilježen je u vrijeme gospodara Nikole Iločkog koji je dao sagraditi dvorac na mjestu nekadašnje rimske utvrde Cuccium. Kasnije ispod dvorca gradi vinski podrum, prvi arhitektonsko tehnološki objekt građen u svrhu proizvodnje i čuvanja vina. Godine 1697., car Leopold, Ilok i njegove posjede u Srijemu poklanja talijanskoj kneževskoj obitelji Odescalchi. Obitelj Odescalchi podiže visokosortne vinograde, modernizira podrum, i po prvi put u Europi uvodi izvorno punjenje vina na posjedu. Danas je vinski podrum sa stoljetnim bačvama turistička atrakcija u kojem se degustiraju najvrijednija srijemska vina, a Iločko vinogorje, s oko 1700 hektara pod vinogradima, daje niz kvalitetnih vina.

2.2. Tehnologija proizvodnje bijelih vina

Bijela vina proizvode se od bijelih sorti grožđa, ali također i od crvenih koje imaju nebojeni sok i to ako je grožđe nezrelo, pljesnivo ili natrulo. Proizvodnja bijelih vina sastoji se od faza: runjanja i muljanja svježeg grožđa, sulfitiranja proizvedenog masulja, ocjeđivanja radi odvajanja samotoka od masulja, tiještenja ocijedenog masulja i odvajanja proizvedenog mošta, taloženja i vrenja mošta. Općenito se bijela vina (zbog boje i sastava) drže osjetljivijima od crvenih, pa njihovoj proizvodnji valja pokloniti posebnu brigu. U današnjoj tehnologiji proizvodnje vina, vinifikacija bijelih vina podrazumijeva stručne i tehnološke pojmove te modernu opremu. Tehnologija proizvodnje bijelih vina znatno se razlikuje od tehnologije proizvodnje crvenih vina, prvenstveno iz razloga što crvena vina podnose više tehnoloških "propusta" u odnosu na bijela vina. U svim fazama proizvodnje crvena vina toleriraju veću količinu kisika, npr. pri maceraciji, a kasnije se čuvaju u drvenim bačvama, imaju jak okus i izraženu boju, pa se mogu posluživati pri višim temperaturama.

S druge strane, bijela vina zahtijevaju potpuno drugačije uvjete proizvodnje. Tehnologiju karakterizira vrlo kratka maceracija ili se ona u potpunosti isključuje. Bijela vina se ne čuvaju u drvenim bačvama i u pravilu ne dobivaju na kvaliteti dugogodišnjim čuvanjem (neka vina

postignu svoj optimum samo nakon par mjeseci čuvanja). Nježnijeg su okusa te zahtijevaju serviranje na nižim temperaturama.

Iako se bijela vina ne čuvaju u bačvama, Graševina je vino koje može odležavati godinama, pa i desetljećima te može starjeti bolje od većine poznatih sorti. Ono najvažnije, čak bolje i od većeg broja crvenih sorti, odnosno crvenih vina. Uobičajeno je da crvena vina bolje stare od bijelih. Bijela vina se konzumiraju već u prvoj godini nakon berbe, bolja crvena vina počinju se konzumirati u drugoj, dok se treća godina smatra idealnom za konzumaciju i prodaju. Shodno tome je i ukupni vijek crvenih vina dulji od bijelih. Međutim, s Graševinom nije tako. Kada se izdvoje Graševine dovoljne dobre kvalitete da ih se može ostaviti na dozrijevanje u boci, one pokazuju bolji potencijal od crvenih vina, jer im sastav opada znatno sporije.

2.3. Graševina

Graševina je poznata kao sorta srednje Europe, a nedvojbeno je najznačajnija vinska sorta Hrvatske. S 24,7% ukupne površine sortimenta predstavlja vodeću hrvatsku sortu ispred malvazije istarske i plavca malog. Graševina je izrazito dominantna kontinentalna sorta koja zauzima više od 60% ukupnih površina vinove loze kontinentalne Hrvatske. Postoje brojne polemike iz koje zemlje izvorno potječe, ali je u Hrvatskoj pronašla je svoju drugu domovinu, a vrlo izgledno i podneblje u kojem daje najbolje rezultate. Osim u Hrvatskoj, prisutna je u Sloveniji, ponajviše u Slovenskoj Štajerskoj, zatim u Mađarskoj, Austriji, Češkoj, Slovačkoj, Rumunjskoj, u Srbiji, te sjevernoj Italiji, u Furlaniji (tamo ju najčešće miješaju s drugim sortama), kao i u Lombardiji. Uzgaja se i u Albaniji, dalekoj Kini i Brazilu te u Kanadi. U Brazilu ju najčešće koriste u proizvodnji pjenušaca.

Sinonimi su joj Grašica, Laški rizling, Riesling italico, Riesling italiano, Olaszrizling, Wälsch Riesling, Ryzlink Vlašsky, Rizling Vlašsky, Borba, dok se kao pogrešni sinonimi za nju koriste imena Aligoté, Greco, Petit Meslier, Pignoletto, Riesling. Naime, sorta se vrlo često miješa s rajnskim Rizlingom iz razloga što u nekim svojim sinonimima sadrži upravo riječ Rizling ili Riesling. Međutim, zbog genetskih i organoleptičkih svojstava, Graševina se potpuno razlikuje od Rajnskog rizlinga te se radi o dva zasebna kultivara iz dvaju odvojenih zavičaja (Sokolić, 1992).

Iako Graševina nije planetarno popularna kao neki drugi kultivari, zanimljivo je što se za nju vežu različite priče u kontekstu njezinog podrijetla. Jedno od mišljenja je da Graševina dolazi

iz Francuske, iz doline rijeke Marne u Champagne regiji, te da je introducirana u njemački Heidelberg kao Wälsch Riesling. S druge strane, ta sorta je danas u Francuskoj nepoznata pa se s razlogom sumnjalo u takvo podrijetlo.

Iz riječi Wälsch u nazivu, pojedini ampelografi koji su pokušavali dokučiti istinu o njenu podrijetlu, zaključivali su da su za sortu znali u Franačkoj, na njemačkom govornom području. Wälsch se u Franačkoj nazivalo ono što je strano, što nije domaće, dok se fränkisch nazivalo ono što je bilo franačko.

Graševina je u hrvatskim vinogorjima pronašla izvrsne uvjete za očitovanje visokog potencijala, a to nam priznaju i mnogi strani enolozi, ostali vinski znalci i gosti. Nerijetko mogu povjerovati da je vino, što im ga mi nudimo u Hrvatskoj, zaista proizvedeno od iste sorte koju oni poznaju pod drugim imenom, ali u njihovoj zemlji ne daje ni izbliza takve karakteristike. To daje za pravo i mnogima kada Hrvatsku nazivaju zemljom Graševine, premda ona nije naša autohtona sorta.

2.4. Botanička obilježja Graševine

Cvijet vinove loze sorte Graševina je dvospolan. Odrasli list je duži nego širi, a srednji dio lista je produžen, srednje veličine, dok je sinus peteljke u obliku uskog "U". List je dosta tanak, te može biti trodijelan do sedmodijelan. Lice lista je golo, a na naličju s rijetkim pahuljastim dlačicama i čupercima. Površina plojke je ravna ili malo uvijena i glatka. Zupci lista su oštri, nejednaki i dugi, a lice svijetlozelene boje (Turković i Turković, 2003).

Peteljka je tanka, svijetlozelena ili malo crvenkasta, pahuljasta i gola. Zreli grozd je malen do srednje velik, gust i valjkast te obično ima sugrozd. Peteljka je duga do vrlo duga. Zrele bobice su malene, žutozelene, na sunčanoj strani kao opečene, jednolično obojene i okrugle, pupak je karakteristično izrazit, a meso je sočno, sok sladak i ugodnog okusa. Rozgva je srednje razvijena i dosta tanka, a kora je sitno prugasta. Članci su svijetlosmeđe boje i srednje dugi. Srednje je bujna, dobro se oplođuje, dobrog i redovitog prinosa i dozrijeva u III. razdoblju. Jedna od najznačajnijih karakteristika je dobra otpornost na niske temperature, a kakvoća znatno varira s obzirom na ekološke uvjete položaja, karakteristika godine i opterećenja (Mirošević i sur., 2009).



Slika 2. Graševina (Anonimus 2, 2008)

Graševini kao sorti za uzgoj najbolje odgovaraju područja umjerene klime. Vrlo je prilagodljiva i dobro uspijeva u klimatskim uvjetima svih kontinentalnih vinogorja, nije odveć osjetljiva na bolesti i štetnike, izvrsno podnosi niske zimske temperature, a u kasno proljeće kreće s vegetacijom, čime izbjegava kasne proljetne mrazove. Najpogodniji položaji za uzgoj Graševine su južni položaji te gnojena, bogata, ne preteška, ali dobro obrađena tla. Prednost je što kasno pupa, a nedostatak što dozrijeva u trećem razdoblju. Karakterizira je srednja ili nadprosječna i redovita rodnost, a pri pomanjkanju hranjiva i loše obrade tla prinosi se smanjuju (Žunić i Matijašević, 2003).

Graševina je izuzetno iskoristiva sorta, daje dobra vina prosječne ili nadprosječne kakvoće, ugodnog i skladnog sortnog mirisa i okusa, sa srednjim sadržajem kiselina. U vinogradarskom je sortimentu Republike Hrvatske najzastupljenija sorta bijeloga grožđa. Karakteristike koje Graševinu smještaju u sam vrh autohtonih sorti su dobra i redovita rodnost, te kvaliteta grožđa, mošta i vina. Kvaliteta varira ovisno o kraju, pa je u istočnim vinogradarskim područjima Hrvatske njen mošt u prosjeku za 2 % bogatiji šećerom i s nešto manje ukupnih kiselina, dok je u zapadnim vinogorjima taj odnos obrnut. Ono što Graševinu karakterizira je ugodna aroma, zelenkastožuta boja te svjež, harmoničan okus. Vrhunska Graševina istaknute je sorte arome i vrlo skladnog, punog i pri kraju lagano gorkastog okusa. Sadrži između 11 - 12,5 vol% alkohola i 5 - 8 g/L ukupnih kiselina (Ljubljanović i Ljubljanović, 2004).

Uvođenje novih tehnologija u podrume kontinentalne Hrvatske te novi pristup u uzgoju grožđa i vinifikaciji zasigurno će osigurati veći krug poklonika sorte. Osim toga, pred vinogradarsku struku i znanost postavljaju se brojni projekti kojima je svrha unaprijediti i osuvremeniti proizvodnju našega temeljnog i najtraženijeg vina. Jedan od njih je i klonska selekcija, započeta prije nekoliko godina u kutjevačkom vinogorju, a kojoj je svrha pronaći, izdvojiti i dalje razmnožavati samo najbolje graševine, genotipove koji su se pokazali i dokazali upravo na obroncima Iloka, Krndije, Dilja, Papuka, Fruške gore, ali i ostalih hrvatskih vinogradarskih područja.

2.5. Kemijski sastav bijelog vina

Nakon senzorskog ocjenjivanja te fizikalno-kemijske i mikrobiološke analize određuje se kakvoća mošta i vina. Zakonom o vinu (NN 96/03), ali i pratećim propisima određeno je u kojim se slučajevima takva kontrola kakvoće treba obaviti, koje podatke takav nalaz treba sadržavati te koja je ustanova ovlaštena za taj posao. Provjera kakvoće, tj. sastava mošta i vina pokazatelj su vinogradaru i vinaru kada će započeti s berbom grožđa, koje će tehnološke postupke primijeniti tijekom proizvodnje, koliko će sulfitirati, hoće li inokulirati itd. (Sokolić, 2001). Prema kakvoći razlikuju se: stolna vina, stolna vina s oznakom kontroliranog podrijetla, kvalitetna vina s oznakom kontroliranog podrijetla, vrhunska vina s oznakom kontroliranog podrijetla, predikatna vina, arhivska vina, specijalna vina i pjenušava vina.

Kvalitetno vino s oznakom kontroliranog podrijetla je vino proizvedeno od jedne ili više sorti grožđa, koje potječu iz jedne vinogradarske podregije s izraženim kvalitetnim organoleptičkim svojstvima značajnim za ekološke uvjete i sorte određene vinogradarske podregije, vinogorja ili položaja čiju oznaku nosi te koje je odnjegovano u toj podregiji.

Vrhunsko vino s oznakom kontroliranog podrijetla je vino proizvedeno od određene sorte ili grupe sorti grožđa koje potječu iz jednog ili više vinogradarskih položaja u okviru jednog vinogorja s osobito izraženim kvalitetnim, specifičnim organoleptičkim i kemijskim svojstvima značajnim za ekološke uvjete položaja i sorte, odnosno grupe sorti grožđa. Takvo vino se mora odnjegovati i puniti u boce u vinogradarskom vinogorju, na određenom položaju.

Najveći broj vrhunskih Graševina dolazi iz podregije Slavonija, upola manje iz podregija Pleševica i Zagroje-Međimurje, zatim iz podregija Prigorje-Bilogora, Moslavina i na kraju iz Podunavlja. U podregiji Podunavlje za sada se ne štiti niti jedno vino Graševine iz kategorije stolno vino s oznakom k.z.p.

Na kemijski sastav bijelih vina utječu brojni čimbenici kao što su kvaliteta samog mošta, uvjeti i tijek alkoholne fermentacije, tehnološki postupci obrade mošta i vina te postupci njege i čuvanja vina.

Na temelju članka 37. stavka 4. Zakona o vinu (NN 96/03), donesen je Pravilnik o fizikalno-kemijskim metodama analize mošta, vina, drugih proizvoda od grožđa i vina te voćnih vina. Ovim Pravilnikom propisane su fizikalno-kemijske metode analize mošta, vina i drugih proizvoda od grožđa i vina te voćnih vina (NN 106/04 a).

Pravilnikom su propisane fizikalno-kemijske metode kojima se ispituju temeljni zahtjevi kakvoće vina. Određuju se slijedeći čimbenici: gustoća i relativna gustoća pri 20 °C, alkoholna jakosti, ukupni suhi ekstrakt, reducirajući šećeri, pepeo, pH vrijednost, ukupna kiselost, hlapiva kiselost, nehlapiva kiselost, slobodni i ukupni sumporni dioksid, ugljikov dioksid.

Vino sadrži više stotina raznih spojeva koji čine bouquet vina, a među njima su organske kiseline, aminokiseline, polifenolni spojevi, vitamini (djelomično dolaze od stanica) te anorganske tvari: K, Ca, Na, Fe, Mn itd. (Ribereau-Gayon i sur., 2006b).

2.5.1. Gustoća i relativna gustoća

Gustoća je masa vina ili mošta po jedinici volumena pri temperaturi od 20 °C. Izražava se u gramima po mililitru i označena simbolom P20 °C.

Relativna gustoća pri 20/20 °C (ili specifična težina pri 20 °C) je omjer gustoće nekoga određenog volumena vina ili mošta pri 20 °C prema gustoći istog volumena vode pri istoj temperaturi.

Uobičajene vrijednosti gustoće vina kreću se u rasponu od 0,985 do 0,9970 g/L. Vrijednosti niže od 0,9850 g/L upućuju na mogućnost dodatka čistog alkohola u vino, tj. da je vino pojačavano, a vrijednosti veće od 0,9970 g/L na postojanje neprevrelog šećera (Radovanović, 1986).

2.5.2. Alkoholna jakost

Alkoholna jakost izražena volumenom je broj litara etanola sadržanog u 100 litara vina, a oba volumena mjerena pri temperaturi od 20 °C. Izražava se simbolom »vol%« (Pravilnik, NN 106/04 a).

Alkoholna jakost može biti:

Prirodna alkoholna jakost (to je ukupna alkoholna jakost u volumnim %).

Stvarna alkoholna jakost (to je alkoholna jakost izražena u volumnim % u proizvodu pri temperaturi od 20 °C).

Potencijalna alkoholna jakost (to je alkoholna jakost izražena u volumnim % u proizvodu pod pretpostavkom prelaska ukupne količine šećera vrenjem u alkohol).

Ukupna alkoholna jakost je alkoholna jakost izražena u volumnim % i predstavlja sumu stvarne i potencijalne alkoholne jakosti. Alkohole prisutne u vinu možemo podijeliti na monohidroksilne te polihidroksilne.

Najznačajniji monohidroksilni alkoholi su:

- metanol (CH_3OH), koji dospjeva iz grožđa gdje se nalazi kao građevna tvar u sastavu pektinskih tvari.
- etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), koji je najvažniji sastojak vina i glavni je produkt alkoholne fermentacije. Njegov udio u vinu kreće se od 10 - 14 %vol, i upravo s obzirom na njegov udio vina se dijele na: slabo vino - do 9 %vol, blago vino - 9,5 do 10,5 %vol, srednje jako - 10,5 do 12 %vol, jako vino - 12,5 do 14 %vol, vrlo jako - veći od 14 %vol.
- viši alkoholi - najznačajniji su izoamilni alkohol, amilni alkohol, izobutanol.
- polihidroksilni alkoholi: 2,3-butandiol (0,49 - 0,78 %), slatkast i daje harmoničnost vinu,
- glicerol (7 - 14 g / 100 g EtOH), važan se sekundarni produkt fermentacije, u vinu je stabilan, također je slatkastog okusa i doprinosi harmoničnosti okusa,
- manitol - ako dođe do prekida alkoholne fermentacije, bakterije mliječne kiseline prevode fruktozu u manitol.

2.5.3. Ukupni suhi ekstrakt

Ukupni suhi ekstrakt ili ukupna suha tvar uključuje sve tvari koje nisu hlapljive pod specifičnim fizičkim uvjetima. Ovi fizički uvjeti moraju biti takvi da tvari koje čine ekstrakt prođu minimalne promjene u tijeku izvođenja testa.

Ekstrakt bez reducirajućih šećera je razlika između ukupnog suhog ekstrakta i ukupnih šećera.

Reducirani ekstrakt je razlika između ukupnog suhog ekstrakta i ukupnih šećera iznad 1 g/L, kalijeva sulfata iznad 1 g/L, prisutnog manitola ili drugih kemijskih supstancija koje su možda bile dodane vinu. Rezidualni ekstrakt je ekstrakt bez šećera i nehlapljive kiseline izražene kao vinska kiselina.

Udio ekstrakta ima veliku važnost za kakvoću vina, pa su tako vina s više ekstrakta punija, bogatija i harmoničnija, dok su vina s manjim sadržajem ekstrakta neharmonična i prazna.

Na udio ekstrakta velik utjecaj ima upravo sorta grožđa pa tako kvalitetnije sorte imaju više ekstrakta. Nadalje, vino od grožđa napadnuto *Botrytisom* te vin dobiven prešanjem sadrži više ekstrakta. Bijela vina su siromašnija sadržajem ekstrakta i sadrže manje od 20 g/L (Pravilnik, NN 106/04 a).

2.5.4. Reducirajući šećeri

Reducirajući šećeri su svi šećeri koji imaju keto ili aldehidne funkcionalne skupine. Njihovo određivanje vezano je za redukciju alkalne otopine bakar (II) soli (Pravilnik NN 106/04 a).

Od šećera u vinu najznačajnije su heksoze, glukoza i fruktoza, koje su prisutne su u omjeru 1:1. Kvasci prilikom fermentacije uglavnom prvo troše glukozu, a zatim fruktozu. Kod različitih sorti taj omjer kreće se u rasponu od 0,7 - 1,1 g/L. U područjima s manje sunca udio šećera je manji i obrnuto. Oksidacijom glukoze nastaje glukonska (1 - 2 g/L) te glukuronska kiselina. Glukonska kiselina nije fermentabilna pa je njena prisutnost u vinu znak da je grožđe bilo napadnuto *Botrytisom*, dok redukcijom glukoze nastaje sorbitol.

Koncentracija šećera u moštu utječe i na aktivnost samih kvasaca, odnosno bitna je za udio alkohola u budućem vinu. U moštu se koncentracija šećera kreće od 15 do 25 %. Tijekom fermentacije u uobičajenim uvjetima, kada se udjel šećera kreće oko 17 do 20 %, kvasci brže razgrađuju glukozu, a ako je prisutno više od 25 % šećera kvasci brže razgrađuju fruktozu (Zoecklein i sur., 1999).

2.5.5. Pepeo (mineralne tvari)

Pepeo je nesagorivi dio nastao žarenjem suhog ostatka nakon isparavanja vina. Udio pepela kreće se od 2 - 4 %, u pravilu ne preko 5 %. Mineralne tvari prisutne su u grožđu, pa tako i u samom vinu, a ovise o podlozi tj. tlu na kojem se uzgajala vinova loza. Dio mineralnih tvari dospije u grožđe prilikom prskanja dok neke mineralne tvari potječu od metalnih dijelova strojeva i pribora u podrumu (Ibanez i sur., 2008). Najzastupljeniji su K, Mg, Ca, Na, u nešto manjoj mjeri Fe, Mn, As, Pb. U tragovima su prisutni Sb, Be, Cd, Hg i drugi (Troost, 1988).

2.5.6. pH vrijednost

pH vrijednost je aktivna kiselost vina, tj. predstavlja koncentraciju H⁺ iona nastalih disocijacijom slobodnih kiselina i njihovih soli. Vrijednost pH mošta i vina uglavnom se kreće između 3,0 i 3,8. Kiselija vina imaju pH vrijednost ispod 3,5 dok se kod nedovoljno kiselih vina pH vrijednost kreće i do 4,0. Niži pH inhibira rast nepoželjnih mikroorganizama u vinu (Ribereau-Gayon i sur., 2006b).

Mjeri se razlika u potencijalu između dviju elektroda uronjenih u ispitivanu tekućinu. Potencijal jedne od elektroda je u funkciji pH vrijednosti tekućine dok druga elektroda ima

stalan i poznat potencijal te predstavlja referentnu elektrodu (Pravilnik, NN 106/04).

2.5.7. Ukupna kiselost

Ukupna kiselost vina je suma njegovih titrabilnih kiselina kad ga se titrira do pH 7 sa standardnom alkalnom otopinom. Ugljični dioksid nije uključen u ukupnu kiselost (Pravilnik, NN 106/04 a). U vinu je dokazano oko 37 organskih kiselina i veći broj anorganskih. Vina iz sunčanijih i toplijih područja sadrže manju količinu kiselina. Kako bijela vina sadrže znatno manje tanina i fenola, njihov glavni prirodni konzervans je kiselost. Vina s dovoljnom kiselošću, poput nekih Chardonnay-a, mogu stariti jednako dugo kao i crvena vina. Kada se govori o kiselosti u vinu treba razlikovati hlapljive i nehlapljive kiseline. Nehlapljive kiseline odgovorne su za kiselost, dok su hlapljive sekundarnog značaja i najčešće ukazuju na kvarenje vina.

U nehlapljive kiseline spadaju: vinska kiselina, jabučna kiselina, mliječna kiselina, jantarna kiselina, limunska kiselina, pirogroždana kiselina, dioksimaleinska kiselina i glukuronska kiselina.

Vinska kiselina

U vinu je ima u koncentraciji od 0,5 - 2 g/L. Uglavnom je prisutna u obliku soli tj. tartarata, i to Ca i K. Ca tartarati zauzimaju svega 10% ukupnih soli vinske kiseline, dok je najvažniji K hidrotartarat poznat i kao vinski kamen ili srijež. To je slabo topiva sol, koja se taloži u prisustvu alkohola i pri niskim temperaturama. Vinska kiselina prisutna je u mladom vinu pa ono ima izraženu oporost i neharmoničnost, ali dozrijevanjem vina taj udio se smanjuje stvaranjem spomenutih soli vinske kiseline.

Jabučna kiselina

U vinu je prisutna u količini 0,6 do 2,7 g/L. Mlada vina također sadrže jabučnu pa su tvrda, opora te neharmonična ali tijekom jabučno–mliječne fermentacije dolazi do dekarboksilacije dikarbonske jabučne kiseline u monokarbonsku mliječnu koja je blaža i slabija te mekša od jabučne.

Mliječna kiselina

Sadržaj mliječne kiseline u vinu obično jako varira. U vinima bez malolaktične fermentacije ima malo mliječne kiseline te se njezina količina kreće u rasponu od 0,5 - 2,5 g/L.

Jantarna kiselina

U vinu može biti prisutna u količini 0,25 - 1,5 g/L, a u vinu nastaje kao sekundarni produkt alkoholne fermentacije, te mu daje gorčinu.

Limunska kiselina

U vinu je ima 0,3 - 0,7 g/L, a ako je ima više to je znak da je mošt dokiseljavan ili da je grožđe bilo napadnuto pljesni *Botrytis cinerea*.

Pirogroždana kiselina

Ona je intermedijarni produkt alkoholne fermentacije, dekarboksilacijom prelazi u acetaldehid, koji redukcijom daje alkohol etanol (Troost, 1988).

Hlapljive kiseline

U vinu je hlapljiva kiselost produkt metabolizma kvasca, a različiti sojevi sintetiziraju različite količine. Zato je poželjno koristiti selekcionirane kvasce, koji stvaraju manje hlapljivih kiselina. Kada vino sadrži više alkohola, ono podnosi i više koncentracije octene kiseline. Pri nižoj temperaturi fermentacije nastaje manje hlapljivih kiselina. Prihvatljive granice za bijela vina su 0,2 - 0,5 g/L (Sokolić, 2001).

Udio hlapljivih kiselina izražava se kao octena kiselina, jer na nju otpada 95 - 99 % svih hlapljivih kiselina u vinu. Visoke koncentracije ove kiseline povezane su s kvarenjem grožđa, odnosno vina (Jackson, 1994). Ako se u vinu osjeti prevelika koncentracija hlapljivih kiselina (miris na vinski ocat) takvo vino ne može u promet.

Zdravo vino sadrži 0,3 - 0,6 g/L, a pokvareno vino 2 - 3 g/L hlapljivih kiselina.

Pravilnikom o vinu za bijelo vino s 10 %vol dozvoljeno je 1,1 g/L octene kiseline, no ako imaju više od 10 %vol za svaki %vol dozvoljeno je još 0,06 g/L octene kiseline (Pravilnik, NN 106/04 a).

Ostale hlapljive kiseline prisutne u vinu su mravlja, propionska, maslačna, kapronska, kaprinska i kaprilna (Ribereau-Gayon i sur., 2006a).

2.5.8. Slobodni sumporni dioksid (SO₂)

Slobodni sumporni dioksid definiran je kao sumporni dioksid koji je prisutan u moštu ili vinu u slijedećim oblicima: H₂SO₃ ili HSO₃⁻. Ravnoteža između ovih oblika je funkcija pH i temperature (Pravilnik, NN 106/ 04 a).



Sumpor (SO₂) je jako bitan u zaštiti vina, a posebno u zaštiti bijelih vina. Ima antioksidacijsko djelovanje, pa štiti vino od raznih oksidacijskih reakcija koje mogu dovesti do posmeđivanja i do samog kvarenja vina. Važan je i zbog antiseptičkog djelovanja pa potiskuje rast i razvoj nekih mikroorganizama, uključujući i same kvasce te je zaslužan za

selekciju kvasaca i time omogućuje bolje provođenje fermentacije. Takoer ima i koagulacijsko djelovanje pa ubrzava taloženje raznih čestica mutnoće (Radovanović, 1986).

Koncentraciju SO₂ može se odrediti metodom po Ripperu uz pomoć joda ili aeracijskooksidacijskom metodom (AO) uz pomoć vodikovog peroksida i otopine fosfatne kiseline.

2.5.9. Ukupni sumporni dioksid (SO₂)

Ukupni sumporni dioksid definiran je kao ukupnost svih različitih oblika sumpornog dioksida prisutnih u vinu, bilo slobodnom stanju ili u kombinaciji sa sastojcima vina (Pravilnik, NN 106/04 a).

Za bijela vina: ukupni SO₂ maksimalno 210 mg/L, od toga slobodni SO₂ maksimalno 40 mg/L (Pravilnik, NN 106/04 a).

2.5.10. Fenolni spojevi

Fenoli su široka i složena grupa spojeva, a u moštu potječu iz kože, sjemenke i soka grožđa kao i peteljke što ovisi o načinu prerade grožđa. Količina ukupnih fenola u grožđu je veća nego u vinu. Tradicionalnim postupcima vinifikacije ekstrahira se najviše 60 % fenola ukupno prisutnih u grožđu. Usporedo s dozrijevanjem grožđa dolazi do polimerizacije fenola, pa tako nastaju po okusu mekši, manje trpkii fenoli. Grožđe sadrži i skupinu kompleksnih fenola poput tanina.

Podjela fenolnih spojeva:

Neflavonoidi: derivati hidroksicimetne kiseline i hidroksibenzojeve kiseline

Flavonoidi: flavonoli, katehini (flavan-3-oli), leukoantocijani (flavan 3,4-dioli) i antocijani.

Neflavonoidi

Neflavonoidi su spojevi jednostavnije strukture, ali njihovo podrijetlo u vinu je složeno. Mogu biti:

1. derivati hidroksicimetne kiseline (p-kumarinska, ferulinska, kafeinska kiselina itd.);
2. derivati hidroksibenzojeve kiseline (galna, protokatehinska kiselina itd.).

U moštu *bijelih kultivara* najviše su zastupljeni u ukupnim fenolima neflavonoidi i to derivati hidroksicimetne kiseline kafeinska kiselina (oko 100 mg/L) i galna kiselina (1 - 5 mg/L).

Neflavonoidi su u grožđu i moštu prisutni kao slobodne kiseline, etilni esteri, vezani s tartaratima ili u obliku mješovitih estera s glukozom i tartaratima. Većina neflavonoida prisutna je u niskim koncentracijama, no zajedno pridonose oporosti i trpkosti vina.

Falvonoidi

Flavan-3-oli se u vino ekstrahiraju iz kožice, sjemenke i peteljke, a osnovni flavan-3-oli su katehin i epikatehin. Koncentracija katehina u moštu i vinu varira od 5 - 100 mg. U bijelim vinima koji se proizvode kratkotrajnim kontaktom s kožicom, katehini su najzastupljeniji flavonoidni fenoli (Ribereau-Gayon i sur., 2006a).

2.6. Postupci pri utvrđivanju kvalitete bijelih vina

Prilikom stavljanja vina na tržište osim kemijske analize potrebno je provesti i senzorsko ocjenjivanje vina i na temelju dobivenih rezultata kemijske i senzorske analize vino se svrstava u razne kategorije kvalitete sukladno zakonskim aktima tj.: Zakonu o vinu (NN 96/03), Listi tradicionalnih izraza za vino (NN 96/07), Pravilniku o organoleptičkom (senzornom) ocjenjivanju mošta i vina (NN 106/04 b) te Pravilniku o proizvodnji vina (NN 2/05, 137/08).

Kako bi vino moglo dobiti oznaku kontroliranog zemljopisnog podrijetla mora zadovoljavati slijedeće uvjete (Zakon o vinu NN 96/03) :

- potječe s određenog i ograničenog vinorodnog područja,
- potječe od određenih sorata ili skupine sorata vinove loze,
- ima propisan najmanji prirodni sadržaj alkohola,
- nije premašen dopušteni prirod po hektaru,
- ima kemijski sastav i organoleptička (senzorna) svojstva karakteristična za proizvod s tog područja,
- evidentiran je u Upisniku.

U slučaju da jedan od gore navedenih uvjeta nije zadovoljen, vino ne može dobiti oznaku zaštite kontroliranog zemljopisnog podrijetla te se svrstava u kategoriju STOLNO VINO. Tada je potrebno ispoštovati slijedeće postupke prilikom stavljanja takvog vina u promet:

- zahtjev za stavljanje vina u promet
- 70,00 Kn državne pristojbe
- evidencija o proizvodnji i zalihama vina (Obrazac 3)
- dokaz o podrijetlu grožđa (ako se radi o otkupu): račun, otpremnica
- idejno rješenje etikete.

Vina sa zaštitom kontroliranog zemljopisnog podrijetla mogu se svrstati u STOLNO VINO s kontroliranom zaštitom podrijetla, KVALITETNO VINO te VRHUNSKO VINO, a za stavljanje u promet potreban je :

- zahtjev za stavljanje vina u promet
- 250,00 Kn državne pristojbe
- evidencija o proizvodnji i zalihama vina (Obrazac 3)

Potrebno je dostaviti četiri boce vina za uzorkovanje:

- jedna za laboratorij za fizikalno – kemijska ispitivanja
- jedna za laboratorij za senzorna ispitivanja
- dvije za arhivu.

2.6.1. Vinogradarske zone proizvodnje

Na kakvoću grožđa velik utjecaj ima temperatura za vrijeme vegetacije (sume efektivnih temperatura). Na temelju temperaturnih suma za vrijeme vegetacije vinogradarsko područje Hrvatske podijeljeno je na slijedeće zone proizvodnje (Zakon o vinu NN 96/03):

ZONA B - Moslavina, Prigorje – Bilogora, Plešivica, Pokuplje, Zagorje – Međimurje

ZONA C1 - obuhvaća podregije : Podunavlje i Slavonija

ZONA C2 - obuhvaća podregije : Istra, Hrvatsko primorje i Dalmatinska zagora

ZONA C3 - obuhvaća podregije : Sjeverna Dalmacija, Srednja Dalmacija te Južna Dalmacija

S obzirom na urod po hektaru, fizikalno kemijske parametre te senzorsku ocjenu vina u pojedinim zonama proizvodnje vino se svrstava u kategorije kvalitete.

U Tablici 1. prikazan je urod po hektaru u određenim vinogradarskim zonama Republike Hrvatske, a u Tablici 2. dopušteni randman prema Pravilniku o proizvodnji vina (NN 02/05).

Tablica 1. Urod po hektaru (kg/ha) (Pravilnik, NN 02/05)

Vinogradarska	Stolno vino	Kvalitetno vino	Vrhunsko vino
B	12 000	11 000	10 000
C1	13 000	12 000	11 000
C2	13 000	12 000	11 000
C3	14 000	13 000	12 000

*kontrolirano zemljopisno podrijetlo

Tablica 2. Dopušteni randman (%) (Pravilnik, NN 02/05)

Stolno vino (sa i bez KPZ*)	Kvalitetno vino	Vrhunsko vino
75%	70%	60%

*kontrolirano zemljopisno podrijetlo

2.6.2. Fizikalno-kemijski parametri

U Tablici 3. prikazana je količina ekstrakta bez šećera za bijela vina, u Tablici 4. prikazana je vrijednost za pepeo, u Tablici 5. sadržaj ukupnog SO₂, a u Tablici 6. sadržaj ukupnog alkohola (%vol) prema Pravilniku o proizvodnji vina (NN 02/05).

Tablica 3. Ekstrakt bez šećera (g/L) (Pravilnik, NN 02/05)

Kategorija	Stolno vino	Kvalitetno vino	Vrhunsko vino
Bijelo vino	1,2	1,4	1,5

Tablica 4. Pepeo (g/L) (Pravilnik, NN 02/05)

Kategorija	Stolno vino	Kvalitetno vino	Vrhunsko vino
Bijelo vino (g/L)	1,2	1,4	1,5

Tablica 5. Sadržaj ukupnog SO₂ (Pravilnik, NN 02/05)

Bijela i ružičasta mirna vina	< 5 g/l reducirajućih šećera	210 mg/L
	> 5g/l reducirajućih šećera	260 mg/L
Predikatna vina	Kasna berba	300 mg/L
	Izborna berba	350 mg/L
	Izborna berba bobica	400 mg/L
	Izborna berba posušenih bobica	

UKUPNA KISELOST izražena kao vinska kiselina (g/L) mora biti u granicama od 4 – 14 g/L, dok HLAPLJIVA KISELOST izražena kao octena kiselina (g/L) za bijela i ružičasta vina je maksimalno 1,0 g/L. Za predikatna bijela vina te bijela vina izborne berbe bobica, izborne berbe posušenih bobica te ledena i desertna vina dopuštena hlapljiva kiselost je maksimalno 1,8 g/L (Pravilnik, NN 02/05).

Tablica 6. Sadržaj ukupnog alkohola (%vol) (Pravilnik, NN 02/05)

Vinogradarska zona		Stolno vino (sa i bez KZP*)	Kvalitetno vino	Vrhunsko vino
B	min.8.5	Ukupna alkoholna jakost max. 12,0	min. 8,5	min. 10,0
C1		Ukupna alkoholna jakost max. 12,5	min. 9,0	min. 10,5
C2		Ukupna alkoholna jakost max. 13,0	min. 9,5	min. 11,0
C3		Ukupna alkoholna jakost max. 13,5	min. 10,0	min. 11, 5

U proizvodnji vina dopušten je i popravak kemijskog sastava vina, pa se provodi odkiseljavanje, dokiseljavanje te doslađivanje vina. No, nije dopušteno istovremeno doslađivanje i pojačavanje proizvoda. Vrhunska vina se ne smiju niti doslađivati niti pojačavati.

2.6.3. Senzorsko ocjenjivanje vina

Organoleptičko ocjenjivanje ne obavlja se za uzorke koji, temeljem fizikalno-kemijske analize, nisu ispunili uvjete sukladno Zakonu i propisima. Provodi se prema metodi 100 bodova, a konačna ocjena je aritmetička sredina koja se dobije nakon odbacivanja najniže i najviše ocjene. Ocjenjivanje provodi panel grupa stručnjaka s područja vinarstva, a u Narodnim novinama su objavljena imena stručnjaka koji mogu sudjelovati u formiranju panel grupe. Ako uzorak kod organoleptičkog ocjenjivanja za bilo koje od svojstava navedenih u obrascu za organoleptičko ocjenjivanje (bistroća, boja, čistoća, intenzitet i kvaliteta mirisa, čistoća, intenzitet, trajnosti i kvaliteta okusa te opći dojam) dobije ocjenu u koloni »loše« navedenog obrasca, automatski se odbacuje bez obzira na ostale ocjene. Na temelju svih ovih parametara donosi se odluka o kvalitetnoj kategoriji u koju neko vino pripada i kao takvo može biti stavljeno u promet. Za kvalitetu vina od velike važnosti je naravno i kvaliteta same sorte, ali i način berbe, transport i prerada grožđa, kao i proizvodnja, njega i čuvanje vina, jer svi ti postupci utječu na kemijski sastav vina kao i na senzorsku ocjenu.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Metode

3.1.1. Određivanje koncentracije šećera RS-metodom

Postupak:

Vino: 5 mL mladoga vina uzima se za analizu, uz dodatak 20 mL destilirane vode (ukupan volumen 25 mL). Doda se 10 mL otopine A (Fehling 1) i 10 mL otopine B (Fehling II). Nakon kuhanja u trajanju od 2 minute u tikvici s okruglim dnom od 250 mL uz povratno hladilo, uzorak se ohladi pod vodom i doda se 10 mL otopine C (30%-tni KI) i 10 mL otopine D (26%-tne H₂SO₄). Sve se dobro izmiješa i doda se 2 mL škroba (1%-tna otopina) te titrira s 0,1 M Na₂S₂O₃ do prelaza tamno smeđe boje u boju puti koja se treba zadržati 1 minutu.

Glukoza test (kontrola): 5 mL 1%-tne glukoze i 20 mL destilirane vode (ukupan volumen 25 mL) čini uzorak za analizu, te se ponovi gore opisani postupak.

Slijepa proba: Za analizu se koristi 25 mL destilirane vode i ponovi gore opisani postupak.

Izračunavanje koncentracije šećera:

$$RS = 50(a-b) / (a-c)d$$

gdje je:

RS = reducirajuće supstance (g/l),

a = mL 0,1 M Na₂S₂O₃ utrošeni za slijepu probu,

b = mL 0,1 M Na₂S₂O₃ utrošeni za uzorak,

c = mL 0,1 M Na₂S₂O₃ utrošeni za kontrolu (glukoza test),

d = mL uzorka uzeti za analizu.

3.1.2. Određivanje alkohola (etanola) kemijskom metodom

Princip:

Metoda se zasniva na oksidaciji alkohola s kalijevim bikromatom u kiselj sredini, prema jednadžbi:



Alkohol se iz vina destilira i uvodi izravno u otopinu kalijevog bikromata koji je zakiseljen s H_2SO_4 gdje se odvija oksidacija.

Reagensi:

- 1) $K_2Cr_2O_7$ (33,834 g/l); 1 mL ove otopine ekvivalent je 0,01 %vol etanola.
- 2) 0,1M $Na_2S_2O_3$
- 3) 20%-tni KI
- 4) 1%-tni škrob
- 5) koncentrirana H_2SO_4

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 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 NaOH uz univerzalni infikator.

U Erlenmeyer tikvicu od 100 mL, u koju će se hvatati destilat, stavi se 10 mL otopine kalijevog bikromata i 5 mL koncentrirane sumporne kiseline. Destilat se preko hladila i lule uvodi u otopinu u Erlenmeyerovoj tikvicu, koja mora biti u rashlađenoj vodi. Destilacija traje dok u tikvici za destilaciju ne ostane približno 3 mL (za to vrijeme je alkohol predestilirao). Po završetku destilacije lula se ispere s nekoliko mlazova destilirane vode u istu Erlenmeyerovu tikvicu u koju se hvatao destilat. Sadržaj Erlenmeyer 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 dio ostane u suvišku. Sadržaj se potom kvantitativno prebaci u Erlenmeyer tikvicu od 500 mL uz ispiranje tikvice, doda se oko 200 mL destilirane vode radi razrjeđenja i 10 mL 20%-tne otopine KI (radi određivanja preostale količine kalijevog bikromata) i ostavi se začepljeno 5 minuta. Tada dolazi do oksido-redukcijskog procesa između preostalog kalijevog bikromata i kalijeva jodida: krom se iz šesterovalentnog reducira u trovalentni, a jod se iz KI oksidira u elementarni jod, zbog čega otopina dobije tamnu boju. Pritom se elementarni jod oslobađa u količini ekvivalentnoj kalijevom bikromatu. Nakon toga uzorku se doda 5 mL 1%-tne otopine škroba i titrira se s 0,1 M otopinom natrijevog tiosulfata, pri čemu dolazi do oksidoredukcije između joda i natrijevog tiosulfata, u kojoj se jod reducira, a tiosulfat oksidira. Titracija se provodi do pojave tirkizno-zelene boje koja označava nestanak podljednje količine joda.

Izračunavanje količine alkohola:

$$\text{alkohol (\%vol)} = 2(10 - a / 6,9) ,$$

gdje je a = utrošak 0,1 M otopine Na₂S₂O₃.

Faktor 2 proizlazi iz ekvivalencije između kalijevog bikromata i alkohola i količine vina upotrebene za analizu.

Ova je kemijska metoda brza i precizna, a pri pravilnom radu daje rezultate koji se praktično ne razlikuju od rezultata dobivenih piknometrom. Vrlo je osjetljiva pa se zato radi s malom količinom alkohola, zbog čega se vino mora jako razrjeđivati.

3.1.3. Određivanje alkohola denzimetrijski

Postupak:

Piknometar se ispere 2 - 3 puta vinom koje se analizira, a potom se pomoću specijalnog lijevka napuni tako da nivo bude iznad oznake. Nakon temperiranja pri sobnoj temperaturi, višak se vina iznad oznake ukloni pomoću filter papira. Uzorak se iz piknometra prenese u tikvicu za destilaciju od 250 mL, piknometar se ispere 2 - 3 puta s nekoliko mililitara hladne destilirane vode i sve se to prelije u tikvicu za destilaciju. Prilikom destilacije, destilat se hvata u isti piknometar preko specijalnog lijevka, tako da se u piknometar ulije malo destilirane vode kako bi vrh lijevka bio uronjen. Destilacija traje dok se piknometar ne napuni destilatom do $\frac{3}{4}$ njegovog volumena. Tada se piknometar nadopuni destiliranom vodom do oznake, obriše i izvaži.

Izračunavanje količine alkohola:

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

γ - specifična težina destilata

A - masa piknometra s destilatom

B - masa praznog piknometra

C - vodena vrijednost piknometra

Vrijednosti B i C, potrebne za računanje, određene su ranije za svaki pojedini piknometar, a na osnovu specifične težine destilata iz tablice po Windischu očita se količina alkohola u g/L vina, a iz te vrijednosti odrede se volumni postoci etanola.

3.1.4. Određivanje sumporovog dioksida

Određivanje slobodnog sumporovog dioksida (20 minuta bez grijanja):

10 mL vina koje analiziramo i 5 mL fosforne kiseline ($w=25\%$) otpipetira se u tikvicu za kuhanje preko lijevka. U apsorpcionu tikvicu dodaje se već pripremljeni reagens tako da nivo bude do proširenog grla apsorpcijske tikvice. Otvori se voda koja struji kroz hladilo i voda 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_2 u jednoj litri vina .

Određivanje vezanog sumporovog dioksida:

Vino koje je ostalo u tikvici za kuhanje nakon određivanja slobodnog sumpora i dalje ostaje u toj tikvici. Mijenja se reagens u maloj apsorpcionoj tikvici. Pod tikvicu za kuhanje stavi se 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_2 u jednoj litri vina.

Određivanje ukupnog sumporovog dioksida:

Ukupni SO_2 dobije se zbrajanjem vrijednosti slobodnog i vezanog SO_2 .

Priprema indikatora u otopini H_2O_2 :

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

3.1.5. Određivanje ukupnih kiselina u vinu

Princip metode:

Sve slobodne organske i anorganske kiseline, njihove kisele soli, te druge kisele tvari neutraliziraju se otopinom natrijevog hidroksida. Iz utroška natrijeva hidroksida računa se količina ukupnih kiselina (UK-a). 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:

Nakon baždarenja pH-metra, trbušastom se pipetom uzme 25 mL vina i stavi u čašu od 100 mL, te se odredi pH.

Vino se zagrije do vrenja kako bi se uklonio CO₂, a potom se dobro ohladi, te titrira s 0,1 M NaOH uz pH-metar. NaOH se dodaje sve do pH 7.

Izračun:

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

gdje je:

γ = 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.

3.1.6. Određivanje hlapljivih kiselina po polumikro postupku

Princip metode:

Hlapljive kiseline određuju se tako da se postupkom destilacije vina prevode u destilat, a zatim neutraliziraju otopinom natrijevog hidroksida. Na temelju utroška natrijevog hidroksida, izračuna se količina hlapljivih kiselina. Octena kiselina, na koju otpada 95 - 99% od cjelokupne količine hlapljivih kiselina, isparava teže i sporije od alkohola i vode, pa se destilacija provodi u struji vodene pare, čime se omogućava da cjelokupna količina octene kiseline pređe u destilat.

Postupak:

Trbušastom pipetom se uzme 5 mL uzorka, te se stavi u tikvicu kruškastog oblika i doda se 1 mL 25% H₃PO₄. Posebnu pažnju treba obratiti na površinu vode u Erlenmeyerovoj tikvici za proizvodnju pare. Naime, voda uvijek treba biti iznad nivoa tekućine u kruškastoj tikvici. Za vrenje vode u Erlenmeyer 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:

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

gdje je:

γ = masena koncentracija hlapljivih 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.

3.1.7. Određivanje jabučne, mliječne i vinske kiseline papirnom kromatografijom

Postupak:

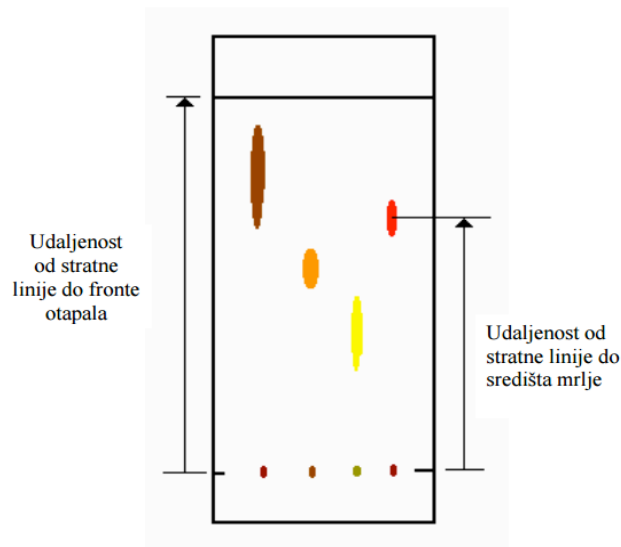
Pri rukovanju s kromatografskim papirom potrebno je raditi s kirurškim rukavicama. Za određivanje kiselina u uzorku vina koristi se kromatografski papir Whatman No. 1 koji se izreže na odgovarajuće dimenzije (55 x 192 mm). Po širini papira se grafitnom olovkom povuče startna linija na visini od 2,5 cm od osnove. Na liniji se obilježe točke, na udaljenosti od 1,5 cm od ruba papira, na koje se nanosi po 50 μ L smjese standarda (sadrži po 3 g/L octene, vinske, mliječne i jabučne kiseline), odnosno uzorka vina (Slika 3). Nanosi se kap po kap, uz naknadno sušenje vrućim zrakom, točnije fenom, kako promjer nanesenih kapi nebi prelazio 3 mm. Nakon nanošenja i sušenja, radi razvijanja kromatograma papir se stavlja u kadu za kromatografiju u kojoj se nalazi ranije pripremljena smjesa otapala. Vrijeme razvijanja kromatograma je 2 - 3 sata, nakon čega treba označiti frontu otapala grafitnom olovkom prije nego se kromatogram počne sušiti.

Nakon sušenja na zraku, kromatogram se uroni u otopinu indikatora i ponovno suši na zraku. Na temelju položaja mrlja na kromatogramu u odnosu na poznatu smjesu standarda, R_f vrijednost izračunava se prema izrazu:

$$R_f = \frac{\text{Udaljenost sredine mrlje od starta}}{\text{Udaljenost fronte otapala od starta}}$$

R_f srednja za vinsku kiselinu (standard) = 0,38

R_f srednja za jabučnu kiselinu (standard) = 0,56



Slika 3. Izgled kromatograma
(Skripta vježbi Tehnologija vina, BT3)

Priprema smjese za razvijanje kromatograma:

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

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

Volumen otapala u kadi za kromatografiju $(10 + 40 + 50) \times 2$

Priprema otopine indikatora:

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

3.1.8. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC)

Moderna tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (high performance liquid chromatography) razvila se iz kromatografije na koloni povećavanjem aktivne površine adsorbensa. Ovakav se sustav sastoji od sisaljke s kontroliranim protokom mobilne faze, mjesta u koje se unosi uzorak (injektor), kolone, detektora (apsorpcijski, fluorescentni, elektrokemijski

detektori ili spektrometar masa), jedinice za obradu podataka i pisača. Tekućina, kao mobilna faza, tlači se s pomoću visokotlačne pumpe kroz kolonu u kojoj se nalazi stacionarna faza. Ovisno o svojstvima stacionarne i mobilne faze, kao i o svojstvima pojedinih komponenata, razlikuje se njihova brzina prolaska kroz kolonu. Vrijeme potrebno da određena komponenta prođe kroz kolonu do detektora naziva se vrijeme retencije (R_t). Pod istim uvjetima kromatografiranja određena tvar pokazuje uvijek isto vrijeme retencije i ta se vrijednost koristi pri identifikaciji komponenata nepoznate smjese.

Sustav se sastoji od pumpe (LC-10ADVP), otplinjača (DGU-14A), injektora (SIL-10ADVP), grijača kolone (CTO-10ADVP), analitičke kolone (s predkolonom), detektora indeksa loma (RID-10A), detektora s nizom dioda (SPD-M10A), modula za kontrolu sustava (SCL-10AVP) i računalnog programa za kromatografiju (CLASS-VP v6.10) (Slika 4).



Slika 4. Shimadzu HPLC uređaj (Anonimus 7, 2016)

Postupak:

Vino se analizira kao 5 puta, odnosno 10 puta razrijeđena otopina te takvi uzorci sadržavaju:

5 puta razrijeđen uzorak - 100 μL vina + 400 μL destilirane vode + 500 μL ZnSO_4

10 puta razrijeđen uzorak - 200 μL vina + 500 μL destilirane vode + 500 μL ZnSO_4

Radi sigurnosti, najprije se istalože eventualno prisutni proteini, na način da se najprije 20 sekunda vorteksiraju uzorci, onda se ostave 20 min da miruju, a potom se 5 minuta centrifugiraju na 10 000 o/min. U kromatogram koji sadrži kolonu Supelco C610H (30 cm x 7,8 mm) injektira se po 20 μL uzorka, te postavi temperatura od 55 °C i protok od 0,5 mL/min. Kao mobilna faza koristi se 0,1 % H_3PO_4 , a rezultate detektira RID detektor.

3.1.9. Plinska kromatografija (GC)

Princip:

Plinska kromatografija ili gas chromatography (GC) je analitička metoda kojom se komponente smjese razdjeljuju, identificiraju i kvantificiraju. Koristi se za razdvajanje hlapljivih spojeva, te spojeva koji se derivatizacijom mogu prevesti u hlapljivi oblik. Mobilna faza je plin nosilac (dušik, helij ili vodik) koja odnosi uzorak 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 fazu noseći sa sobom hlapljive sastojke. Kromatografski proces se odvija kao rezultat ponavljanih sorpcijskodesorpcijskih zbivanja tijekom prolaza uzorka kroz stacionarnu fazu i odvajanja sastojaka uslijed razlika koeficijenata raspodjele pojedinih njegovih komponenata.

3.1.9.1. Analiza hlapljivih komponenti u vinu pomoću plinske kromatografije

Postupak:

Za ovu analizu korišten je plinski kromatograf PE Autosystem XL GC koji je integriran s headspace blokom (HS 40XL). Za analizu se koristio plameno-ionizacijski detektor (FID). Korištena je kolona ZB-5MS (Zebron, Phenomenex), 60 m x 0,25 mm I.D. x 0,50 µm df.

Uvjeti rada headspace bloka:

Temperatura pećnice: 100 °C

Vrijeme termostatiranja: 20 min

Vrijeme pod tlakom: 0,2 min

Vrijeme injektiranja: 0,05 min

Vrijeme uzimanja uzorka: 0,1 min

Viala zatvorena: da

Način rada headspace bloka: konstantan

Vrijeme trajanja jedne GC analize: 40 min

Plin nositelj: helij

Pritisak plina nositelja: 25 Psi

Uvjeti rada plinskog kromatografa:

Temperatura injektora: 110 °C

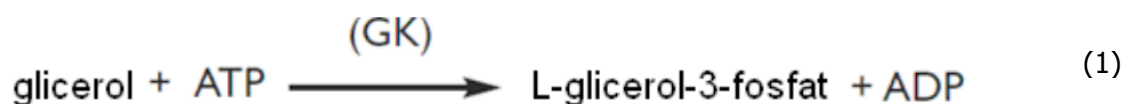
Temperatura detektora: 250 °C

Temperaturni program: 35 °C, 5 min; 10 °C/min → 60 °C; 60 °C, 2 min; 10 °C/min, 180 °C; 180 °C, 7 min

3.1.10. Određivanje glicerola pomoću enzimskog kita

Princip:

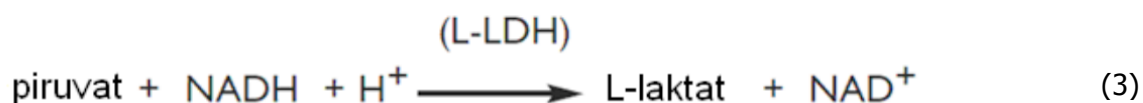
Glicerol se fosforilira pomoću adenzin-5'-trifosfata (ATP) u L-glicerol-3-fosfat reakcijom koju katalizira glicerokinaza (GK) (reakcija 1).



Adenzin-5'-difosfat (ADP) koji nastaje u reakciji 1 ponovo se konvertira u ATP uz nastajanje piruvata (reakcija 2). U reakciji s ADP još sudjeluje fosfoenolpiruvat (PEP), a katalizirana je enzimom piruvat kinaza (PK).



Djelovanjem enzima L-laktat dehidrogenaze (L-LDH), piruvat se reducira u L-laktat pomoću reduciranog nikotinamid-adenin dinukleotida (NADH) uz nastajanje NAD⁺ (reakcija 3).



Pri 340 nm mjeri se smanjenje apsorbancije uzrokovano potrošnjom NADH. Nastali NAD⁺ je u stehiometrijskom odnosu s količinom glicerola u uzorku (reakcija 3). Ova je metoda specifična za glicerol. Linearna je u rasponu 0,8 - 35 µg glicerola u uzorku. Pri provođenju analize dopuštene su razlike apsorbancije dvaju istovjetnih uzoraka koje iznose 0,005 - 0,010, što odgovara koncentraciji glicerola od otprilike 0,086 - 0,171 mg/L u analiziranom uzorku. Ukoliko su uzorci razrijeđeni, koncentracija dobivena analizom razrijeđenog uzorka množi se faktorom razrjeđenja F. Uzorci bijelih i crnih vina analiziraju se bez ikakve posebne pripreve, osim razrjeđenja 1:20, pa prema tome faktor razrjeđenja F iznosi 20. Ukoliko je konverzija glicerola završena za otprilike 5 minuta, može se zaključiti da nije bilo interferencija. Ovo se može dalje

provjeriti dodavanjem glicerola u kivetu nakon završetka reakcije (oko 20 μg u 0,1 mL), što treba dovesti do značajnog povećanja apsorbancije. Standard glicerola analizira se samo kad postoji sumnja u točnost spektrofotometra ali kad se sumnja u inhibiciju zbog nekog sastojka uzorka.

Postupak:

Valna dužina: 340 nm

Kiveta: širina 1 cm

Temperatura: oko 25 °C

Volumen uzorka (0,1 - 2 mL) koji sadrži 0,8 - 35 μg glicerola po kiveti

Određivanje glicerola u uzorcima bijelih i crnih vina može se provesti bez prethodne obrade uzorka pa se uzorak samo razrjeđuje i to obično u omjeru 1:20 te se uzima 0,1 mL uzorka.

Mjeriti prema zraku (bez kivete u spektrofotometru) ili prema vodi. Konačni volumen u kiveti iznosi 2,34 mL. Očitati prema zraku (bez kivete na putu svjetla) ili prema vodi.

Pipetirati u kivetu	Slijepa proba	Uzorak
Destilirana voda (temo. oko 25 °C)	2,00 mL (2000 μL)	1,90 mL (1900 μL)
Uzorak	-	0,1 mL (100 μL)
Pufer	0,2 mL (200 μL)	0,2 mL (200 μL)
Otopina 2	0,1 mL (100 μL)	0,1 mL (100 μL)
Suspencija 3	0,02 mL (20 μL)	0,02 mL (20 μL)
Zatvoriti parafilmom i promiješati (nježno okretati kivetu). Nakon otprilike 4 minute očitati apsorbanciju (A_1), a nakon dodatka suspencije 3 (PK/L-LDH) kada završi reakcija kada završi reakcija koja se odvija.		
Suspencija 4 (GK)	0,02 mL (20 μL)	0,02 mL (20 μL)
Zatvoriti parafilmom i nježno okretati kivetu radi miješanja. Očitati apsorbanciju (A_2) na kraju reakcije (oko 5 minuta). Ako se reakcija nije zaustavila nakon 5 minuta onda se nastavlja očitavanje apsorbancije u intervalima od 2 minute sve dok se apsorbancija ne ustali.		

Račun:

Odrediti razliku apsorbancija (A_1-A_2) za slijepu probu i za uzorak. Potom razliku apsorbancija za slijepu probu oduzeti od razlike apsorbancija za uzorak tako da se dobije $\Delta A_{\text{glicerol}}$. Ova vrijednost bi u pravilu trebala iznositi najmanje 0,1. Koncentracija glicerola može se dalje izračunati prema jednadžbi:

$$c = \frac{V \times MW}{\varepsilon \times d \times v} \cdot \Delta A_{\text{glicerol}}$$

gdje je:

c - koncentracija glicerola [g/L]

V - konačni volumen [mL] = 2,34 mL

MW - molarna masa glicerola [g/mol] = 92,01

ε - ekstinkcijski koeficijent NADH pri 340 nm = 6300 [l mol⁻¹ · cm⁻¹]

d- put svjetlosti (1 cm)

v- volumen uzorka [mL] = 0,1 mL

3.2. Materijal

- 0,1 M NaOH
- 0,01 M NaOH
- 1M NaOH
- 25 % H₃PO₄
- H₂O₂
- 96% alkohol
- 30 %-tni KI
- 26 %-tna H₂SO₄
- 1 %-tni škrob
- 0,1 M Na₂S₂O₃
- 1 %-tna glukoza
- 20%-tni KI
- K₂Cr₂O₇ (33,834 g/L)
- koncentrirana H₂SO₄
- Fehling I (69,3 g/L CuSO₄×5 H₂O)
- Fehling II (346 g/L K,Na-tartarata)
- Destilirana voda
- Indikatori:
 - fenolftalein
 - metilno crvenilo
 - bromfenol-plavo
- octena kiselina
- n-butanol
- Standard za papirnu kromatografiju (po 3 g/L jabučne, vinske, mliječne i octene kiseline)
- 0,1% H₃PO₄
- 10% otopina ZnSO₄ x 7H₂O

3.3. Aparature

- Laboratorijska aparatura za određivanje šećera
- Laboratorijska aparatura za određivanje alkohola
- Laboratorijska aparatura za određivanje sumpora
- Laboratorijska aparatura za određivanje hlapljivih kiselina
- Laboratorijska aparatura za određivanje ukupnih kiselina
- Laboratorijska aparatura za određivanje jabučne i vinske kiseline pomoću papirne kromatografije
- HPLC uređaj, Shimadzu CLASS-VP LC-10A_{VP} (Shimadzu, Kyoto, Japan).

4.REZULTATI

4.1. Rezultati osnovne analize vina

Tijekom analize domaćeg bijelog vina Graševina, godina proizvodnje 2016. i 2017., rađene su tri paralele radi statističke pouzdanosti, a dobiveni rezultati prikazani su kao srednje vrijednosti u Tablici 7.

Tablica 7. Rezultati osnovne analize domaćeg vina Graševina 2016. i Graševina 2017.

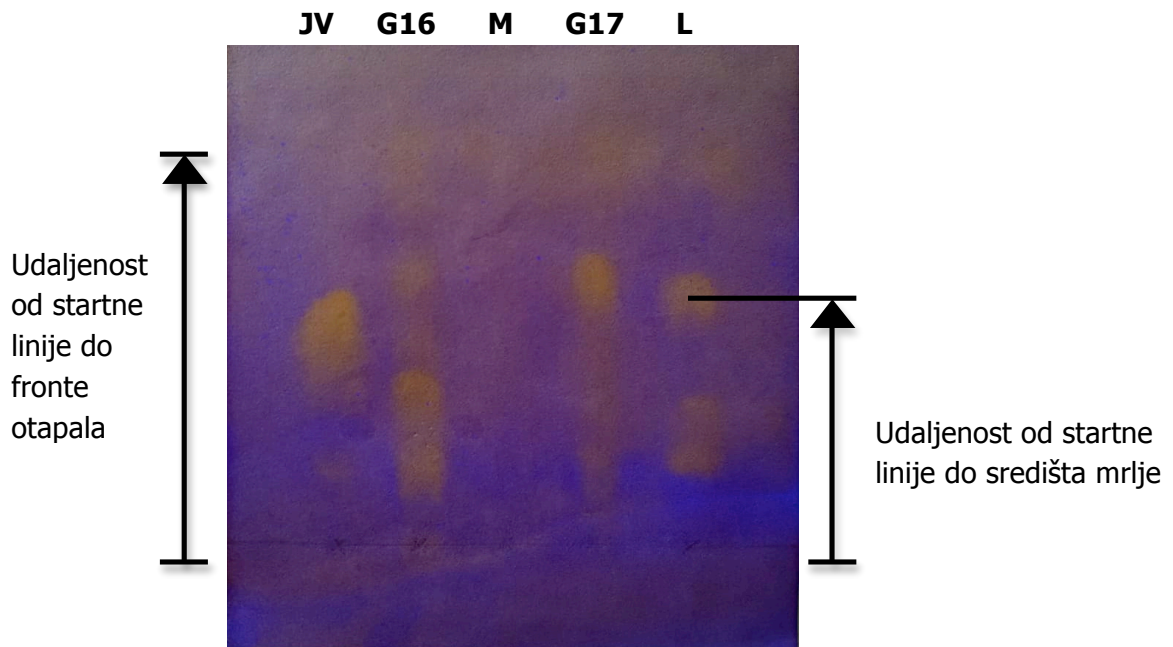
	Srednje vrijednosti 2016.	Srednje vrijednosti 2017.
Relativna gustoća (20/20 °C)	0,9925	0,9914
Ukupni alkohol (%vol)	11,7* 13,07**	12,1* 14,19**
Stvarni alkohol (%vol)	11,6	12,1
Stvarni alkohol [g/L]	91,7	95,4
Ukupni ekstrakt suhi [g/L]	20,6	19,1
Reducirajući šećeri [g/L]	1,3	1,0
Ekstrakt bez reducirajućih šećera [g/L]	20,3	19,1
Ekstrakt bez reducirajućih šećera i nehlapive kiselosti [g/L]	15,5	14,4
Pepeo [g/L]	1,9	1,6
pH	3,38	3,33
Ukupna kiselost (kao vinska) [g/L]	5,4	5,3
Ukupna hlapivost (kao octena) [g/L]	0,5	0,5
Nehlapiva kiselost (kao vinska) [g/L]	4,8	4,7
Slobodni sumporni dioksid [mg/L]	12	17
Ukupni sumporni dioksid [mg/L]	97	83

* kemijska metoda

** denzimetrijska metoda

4.2. Rezultati papirne kromatografije

Na kromatogramu vidljivom sa slike 5. utvrđena je prisutnost vinske kiseline ($R_F=0,252$), jabučne kiseline ($R_F=0,486$), limunske ($R_F= 0,423$) i mliječne kiseline ($R_F=0,864$).



Slika 5. Kromatogram

JV- jabučna i vinska kiselina

G16- Graševina 2016. godine proizvodnje

M- mliječna kiselina

G17- Graševina 2017. godine proizvodnje

L- limunska kiselina

4.3. Rezultati dobiveni tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti

U Tablici 8. prikazani su rezultati provedene analize pomoću tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti. Prikazana su retencijska vremena i koncentracije ugljikohidrata, etanola i organskih kiselina prisutnih u vinu. Rezultat su izraženi kao srednje vrijednosti \pm standardna devijacija. Tijekom analize provedene su tri paralele radi bolje statističke pouzdanosti.

Tablica 8. Retencijska vremena i koncentracije ugljikohidrata, etanola i organskih kiselina prisutnih u analiziranom vinu (rezultati su izraženi kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija).

	Analizirano vino Graševina 2016.	Analizirano vino Graševina 2017.
Spoj	γ (g L ⁻¹) / φ (%) ^a	γ (g L ⁻¹) / φ (%) ^a
Glukoza	0,54 \pm 0,03	n.d.
Fruktoza	n.d.	n.d.
jabučna kiselina	4,46 \pm 0,08	1,96 \pm 0,02
vinska kiselina	5,51 \pm 0,11	6,86 \pm 0,22
limunska kiselina	n.d.	n.d.
mliječna kiselina	0,24 \pm 0,01	0,57 \pm 0,02
octena kiselina	n.d.	0,21 \pm 0,01

4.4. Određivanje glicerola pomoću enzimskog kita

Koncentracija glicerola u vinu određena je pomoću enzimskog kita. Rezultat je prikazan kao srednja vrijednost triju paralela (Tablica 9.).

Tablica 9. Koncentracija glicerola u vinima

Broj uzorka	Cg (g/L) razrjeđenje 1:20	20xCg (g/L)	Srednja vrijednost Cg (g/L)
1	0,2729	5,458	5,7333
2	0,2975	5,95	
3	0,2896	3,792	
4	0,2538	5,076	5,194
5	0,2642	5,284	
6	0,2611	5,222	

Masena koncentracija glicerola u vinu Graševina 2016. godine proizvodnje iznosi 5,73 g/L, dok za vino Graševina 2017. godine proizvodnje iznosi 5,19 g/L, što je u skladu s Pravilnikom o vinu (2005).

4.5. Plinska kromatografija

4.5.1. Analiza hlapljivih spojeva prisutnih u vinu pomoću plinske kromatografije

U Tablici 10. se nalaze rezultati analize provedene pomoću plinske kromatografije. Tablica sadrži retencijska vremena i koncentracije nekih hlapljivih spojeva prisutnih u vinu. Interni standard N-butanol koji se koristio u ovoj metodi također je vidljiv u Tablici 10. Rezultati su izraženi kao srednje vrijednosti. Tijekom analize provedene su tri paralele radi bolje statističke pouzdanosti.

Tablica 10. Retencijska vremena i koncentracije nekih hlapljivih spojeva prisutnih u analiziranom vinu određene HS-GC-FID metodom

Spoj	t_R /min	Analizirano vino	Analizirano vino
		Graševina 2016.	Graševina 2017.
		γ (mg L ⁻¹)	γ (mg L ⁻¹)
acetaldehid	4,14	55,80	13,89
1-propanol	6,37	29,71	21,64
2-butanol	7,46	n.d.	n.d.
etil-acetat	7,71	41,62	72,68
2-metil-1-propanol	8,23	43,57	26,21
3-metil-1-butanol	12,26	153,30	112,36
2-metil-1-butanol	12,43	36,77	25,68
etil-butirat	14,49	0,69	n.d.
isoamil-acetat	16,80	1,16	4,23
etil-heksanoat	19,95	2,04	2,30
etil-oktanoat	24,25	0,00	0,67
2-fenil etanol	26,11	n.d.	n.d.

4.6. Senzorska analiza

Po obavljenoj fizikalno-kemijskoj analizi, Komisija za organoleptičko ocjenjivanje, Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo, pri Hrvatskom centru za poljoprivredu, hranu i selo, Republike Hrvatske, u postupku senzorskog ocjenjivanja ocijenila je uzorak vina Graševina iz 2016. godine ocjenom 79 (prosječna vrijednost medijan), a vino Graševina iz 2017. godine ocjenom 82 (prosječna vrijednost medijan). Stoga se dopušta proizvođaču da vino stavi u promet i označi ga: ZAŠTIĆENA OZNAKA IZVORNOSTI „HRVATSKO PODUNAVLJE“.

5. RASPRAVA

Graševina je prema Pravilniku o nacionalnoj listi priznatih kultivara vinove loze (NN 159/04) uvrštena među preporučene kultivare u svim podregijama regije kontinentalna Hrvatska. Jedna od rijetkih sorti vinove loze koja uspijeva pomiriti dvije najvažnije osobine koje se postavljaju u proizvodnji vina - količinu i kakvoću, a sukladno tome kakvoću i cijenu vina na tržištu. Vrlo je prilagodljiva i uspijeva na većini hrvatskih tla, potpuno je zadovoljavaju i klimatski uvjeti svih kontinentalnih vinogorja, nije odveć osjetljiva na bolesti i štetnike, izvrsno podnosi niske zimske temperature, a kasno kreće na proljeće s vegetacijom čime izbjegava kasne proljetne mrazeve. Redovite je i dobre rodnosti, stoga daje prilično ujednačenu kakvoću. Vina su joj zelenkastožuta, iz redovite berbe najčešće suha, umjerena alkohola i ugodne kiselosti. S boljih su položaja i puna, nenametljive, ali prepoznatljive cvjetno-voćne sorte arome. Mnogi će osjetiti note svježega voća - jabuke i kruške, a od cvjetnih ljubicu, jasmin i lipu. Za okus je uobičajena i blaga gorčina na završetku, što je sortna i cijenjena karakteristika. Kod predikatnih vina senzorna su svojstva vrlo bogata, sorte karakteristike izvanredno se sljubljuju s aromama plemenite plijesni, što vinima daje poseban karakter. Stoga, Graševina i dalje čvrsto drži primat na sortnoj listi Hrvatske.

Kako bi vino koje dolazi na tržište bilo označeno određenom kategorijom kvalitete, potrebno je provesti fizikalno-kemijsku i senzorsku analizu uzoraka. Na temelju rezultata dobivenih nakon provedenih analiza, a koji su u skladu sa zakonskom regulativom, vino se može svrstati u određene kategorije (stolno vino s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom; kvalitetno vino ili vrhunsko vino). Na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu, u Zavodu za biokemijsko inženjerstvo, u Laboratoriju za biokemijsko inženjerstvo, industrijsku mikrobiologiju i tehnologiju slada i piva provedena je fizikalno-kemijska analiza dvaju vina Graševina (berba 2016. i 2017.), domaćeg proizvođača, Iločkog vinogrja, podregije Podunavlje. Određene su koncentracije ukupnog i stvarnog alkohola (%vol; g/L), ukupnog suhog ekstrakta, reducirajućih šećera, ekstrakta bez reducirajućih šećera, ekstrakta bez reducirajućih šećera i nehlapljive kiselosti, pepeo, pH, ukupna i hlapljiva kiselost, nehlapljiva kiselost, slobodni i ukupni sumporni dioksid.

Prema članku 12., Pravilnika o proizvodnji vina Ministarstva poljoprivrede i šumarstva, vina se, ovisno o količini šećera mogu svrstati u navedene kategorije: suho vino do 4 g/L; polusuho vino 4 - 12 g/L; poluslatko vino 12 - 50 g/L i slatko vino više od 50 g/L. Vino Graševina iz 2016. godine sadržavalo je 1,3 g/L reducirajućih šećera, a vino iz 2017. godine 1,0 g/L. Oba vina spadaju u kategoriju suhih vina.

Najmanji sadržaj stvarnog alkohola u vinu, prema člancima 15.,20.,26., Pravilnika o proizvodnji vina, ovisno od kakvoće i zoni proizvodnje, mora biti (u % volumnim):

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

Alkohol je u domaćem bijelom vinu analiziran pomoću tri različite metode. Rezultati analize HPLC metode za vino Graševina 2016. godine proizvodnje iznosi 12,68 % (vol/vol) dok se za vino Graševina iz 2017. godine iznosi 11,34 % (vol/vol). Etanol određen kemijskom metodom za vino iz 2016. godine iznosi 11,7 % (vol/vol), dok za vino iz 2017. godine proizvodnje iznosi 12,1 % (vol/vol). Analize provedene denzimetrijskom metodom pokazuju odstupanje od navedenih rezultata. Denzimetrijskom metodom vino iz 2016. godine sadrži 13,07 % (vol/vol) etanola, dok vino iz 2017. godine sadrži 14,19 % (vol/vol). Do većeg odstupanja denzimetrijskom metodom je moglo doći zbog nedovoljno čistih kemikalije koje su se koristile tijekom analize, netočno baždarenog posuđa ili uslijed grubih pogrešaka prilikom rada.

Prema članku 7. Pravilnika o proizvodnji vina Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva, definirana je najviša dozvoljena hlapljiva kiselost, izražena kao octena kiselina, za kategoriju ružičastih i bijelih vina - 1,0 g/L. Prema članku 13. istog Pravilnika, utvrđena je minimalna i maksimalna ukupna kiselost izražena u g/L vinske kiseline koja se kreće u intervalu od 4 g/L do 14 g/L. Analizirano vino Graševina iz 2016. godine sadrži 5,4 g/L, odnosno vino iz 2017. godine 5,3 g/L ukupnih kiselina i oba vina sadrže 0,5 g/L hlapljivih kiselina. Dobiveni rezultati za oba vina se nalaze unutar granica koje je propisalo Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva.

Ukupni sadržaj sumporovog dioksida u bijelim vinima u prometu ne smije biti veći od 210 mg/L kod ružičastih i bijelih vina, od toga slobodnog najviše do 40 mg/L (kad je ostatak šećera manji od 5 g/L, izraženo kao invertni šećer) ili 260 mg/L kod ružičastih i bijelih vina, od toga slobodnog najviše do 50 mg/L (kad je je ostatak šećera veći od 5 g/L, izraženo kao invertni šećer). Udio slobodnog sumpora u vinu iz 2016. godine iznosi 12 mg/L, dok za vino iz 2017. godine iznosi 17 mg/L što je također u skladu s Pravilnikom o proizvodnji vina Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva.

Prema članku 46. vino u prometu mora sadržavati najmanje 5,0 g/L glicerola. Glicerol je u ovom radu određen pomoću enzimskog kita i HPLC metode. Glicerol određen HPLC metodom za vino iz 2016. godine iznosi 4,09 g/L, dok za vino iz 2017. godine iznosi 2,99 g/L. Pomoću enzimskog kita utvrđena je količina glicerola za vino iz 2016. godine iznosi 5,73 g/L, dok za vino iz 2017. godine iznosi 5,194 g/L. Metoda pomoću enzimskog kita je dala bolje i preciznije rezultate, pa vino sadrži koncentracije glicerola prema Pravilniku koncentraciju glicerola od najmanje 5 g/L.

HPLC metodom detektirane su mliječna, vinska, jabučna i octena kiselina (za vino 2017. godine proizvodnje), dok limunska kiselina nije detektirana.

Analiza hlapljivih spojeva vina pokazala je, plinskom kromatografijom, prisutnost "viših" alkohola, aldehida i estera, odnosno spojeve alkoholne fermentacije. Detektirani "viši" alkoholi vinu daju posebnu aromu: 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 3-metil-1-butanol i 2-metil-1-butanol. Butan-2-ol nije detektiran u uzorku. Od aldehida je detektiran acetaldehid koji je ujedno i najzastupljeniji aldehyd u vinu. U visokoj je koncentraciji također prisutan acetaldehid, dok je od estera u visokoj koncentraciji prisutan etil-acetat, a ostali esteri su prisutni u znatno manjim koncentracijama.

Karakteristični esterski spojevi za sortu Graševina su izoamil-acetat i 2-fenil etanol koji joj daju izrazito prijatan, cvjetno-voćni okus s izraženom pitkošću i svježinom. Od estera su u oba vina detektirani etil-acetat, izoamil-acetat i etil heksanoat. Etil-utirat je detektiran u vinu 2016. proizvodnje, dok u vinu 2017. proizvodnje nije detektiran. U vinu nije određen 2-fenil etanol, dok je etil-oktanoat određen samo u vinu 2017. proizvodnje.

Senzorske ocjene vina napravljene su od strane Hrvatskog centra za poljoprivredu, hranu i selu, Zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo i kreću se za vino iz 2016. godine 79, a za vino iz 2017. godine 82 (prosječna vrijednost medijana), te kao takva mogu u prodaju i distribuciju. Prema sadržaju pepela vina se mogu svrstati u kategoriju vrhunskih vina, jer im je sadržaj pepela preko 1,5 g/L. No, vino iz 2016. godine zbog niže senzorske ocjene (79 bodova) ipak je svrstano u kategoriju kvalitetnih vina.

6. ZAKLJUČAK

1. Kvaliteta vina procjenjuje se na osnovu fizikalno-kemijske i senzorske analize vina.
2. Vina koja nakon fizikalno-kemijske analize zadovoljavaju zahtjeve Zakona o vinu i sukladne propise prihvatljiva su za senzorsko ocjenjivanje.
3. Bijelo vino Graševina (godina proizvodnje 2016. i 2017.) domaćeg proizvođača Iločkog vinogorja, podregije Podunavlje zadovoljilo je kriterije odgovarajućih zakonskih propisa te se može staviti u promet te ga označiti: ZAŠTIĆENA OZNAKA IZVORNOSTI „HRVATSKO PODUNAVLJE“.
4. Vino Graševina iz 2016. godine svrstana je u kategoriju kvalitetnih vina kontroliranog zemljopisnog podrijetla (k.z.p.) , a vino Graševina iz 2017. godine u kategoriju vrhunskih vina kontroliranog zemljopisnog podrijetla (k.z.p.).

7. LITERATURA

Anonimus 1, (2016) <http://www.agr.unizg.hr>, pristupljeno 10.7.2018.

Anonimus 2, (2008) <http://www.vinopedija.hr>, pristupljeno 13.7.2018.

Anonimus 3, (2014) <https://suhucasi.wordpress.com/2013/03/07/vinske-sorte-grasevina-tekuci-simbol-slavonije/>, pristupljeno 01.08.2018.

Anonimus 4, (2014) <http://www.glas-slavonije.hr/223382/7/Ilok---dunavsko-kraljevstvo-vina>, pristupljeno 01.08.2018.

Anonimus 5, (2017) <https://www.jutarnji.hr/dobrahrana/price/vinska-skola-sase-spiranca-grasevina-je-sorta-za-zaista-velike-stvari/5746747/>, pristupljeno 06.08.2018.

Anonimus 6, (2014) <http://blog.visitvukovar-srijem.com/grasevina-a-glass-of-liquid-gold/>, pristupljeno 31.07.2018.

Anonimus 7, (2016)
<http://www.spectralabsci.com/Products/Default.aspx?productId=242&categoryId=11>,
pristupljeno 13.6.2016.

Ibanez, J.G., Carreon-Alvarez, A., Barcena-Soto, M., Casillas, N. (2008) Metals in alcoholic beverages: A review of sources, effects, concentrations removal, speciation, and analysis, J. Food Compos. Anal. 21, 672– 683.

Ljubanović, M., Ljubljanović, S. (2004) Hrvatski vinski vodič, vlastita naklada, Zagreb, Hrvatska. str. 41-43.

Mirošević, N., Alpeza, I., Biolić, J., Brkan, B., Hruškar, M., Husnjak, S., Jelaska V., Laroglan Kontić, J., Maletić E., Mihaljević, B., Ričković, M., Šestan, I., Zoričić, M., (2009) Atlas hrvatskog vinogradarstva i vinarstva, Golden marketing - Tehnička knjiga, Zagreb, Hrvatska. str. 27.

Pravilnik o fizikalno- kemijskim metodama analize mošta, vina, drugih proizvoda od gožđa i vina te voćnih vina (2004) Narodne novine 106, Zagreb (NN 106/04 a).

Pravilnik o organoleptičkom (senzornom) ocjenjivanju mošta i vina (2004) Narodne novine 106, Zagreb (NN 106/04 b).

Pravilnik o zemljopisnim područjima uzgoja vinove loze (2012) Narodne novine (NN 74/2012).

Ribereau- Gayon, P., Dubourdieu, D., Doneche B., Lonvaud A., (2006) Handbook of Enology, Volume 1: The Microbiology of Wine and Vinifications, John Wiley & Sons Ltd., Chichester, England. str. 68-93.

Ribereau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D. (2006) a) Handbook of Enology, Volume 2: The Chemistry of Wine, Stabilisation and Treatments, John Wiley & Sons Ltd., Chichester, England. str. 91-107.

Sokolić, I. (1992) Prvi hrvatski vinogradarsko vinski leksikon, Vitagraf, Rijeka, Hrvatska.

Sokolić, I. (2001) Vinogradsko vinarski priručnik, 2. izd., Tisak, Katma, Zagreb, Hrvatska.

Sokolić, I. (2002) Tek i slast vina, 2. izd., Novi Vinodolski, Hrvatska.

Sokolić, I. (2009) <http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=graševina>, pristupljeno 13. 08. 2018.

Troost G. (1988) Handbuch der Lebensmitteltechnologie- Technologie des Weines, Auflage 6, Verlag Ulmer, Stuttgart, Njemačka.

Turković, G., Turković, Z. (2003) Ampelografski atlas, II. Dio. Gloden marketing- Tehnička knjiga, Zagreb, Hrvatska.

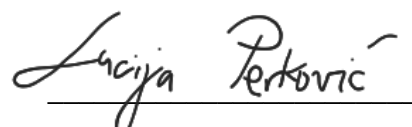
Zakon o vinu (2003) Narodne novine 96, Zagreb (NN 96/03)

Zoecklein, B.W., Fugelsang, K.C., Gump, B.H., Nury, F.S. (1999) Wine analysis and production, Aspen Publishers, New York, USA.

Žunić, D., Matijašević, S. (2003) Rezidba vinove loze, Golden Marketing- Tehnička knjiga, Zagreb, Hrvatska.

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.


ime i prezime studenta