

# Utjecaj tehnoloških postupaka proizvodnje na sastav narančastog vina sorte Rajnski rizling

---

**Kolakušić, Antonio**

**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:159:924518>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-16**



*Repository / Repozitorij:*

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



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

**Antonio Kolakušić**

6905/BT

**UTJECAJ TEHNOLOŠKIH POSTUPAKA  
PROIZVODNJE NA SASTAV NARANČASTOG  
VINA SORTE RAJNSKI RIZLING  
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**

## **UTJECAJ TEHNOLOŠKIH POSTUPAKA PROIZVODNJE NA SASTAV NARANČASTOG VINA SORTE RAJNSKI RIZLING**

*Antonio Kolakušić, 6905/BT*

**Sažetak:** U ovom radu analizirana su domaća vina bijele sorte Rajnski rizling iz vinogorja Plešivica, podregije Plešivica, berba 2017. godina. Tijekom proizvodnje bijelog vina korišten je enzim pektinaza prije kratke maceracije (60 sati), u mošt je dodana Fermaid E hrana za kvasce na bazi inaktiviranih stanica kvasca, asimilabilnog dušika i tiamina te je mošt inokuliran selekcioniranim kvascima soja *Saccharomyces cerevisiae* R-HST (Lalvin), koji vinu daje svježinu, punoću i kompleksnost. Prilikom proizvodnje narančastog vina iste sorte, grožđe je muljano i runjeno izravno u hrastove bačve u kojima je provedena fermentacija bez selekcioniranih kvasaca u trajanju od 30 dana bez kontrole temperature i uz miješanje 4 puta dnevno. Nakon fermentacije proveden je postupak duge maceracije u trajanju od 6 mjeseci i 11 dana. Rezultati HPLC ukazuju na znatno više koncentracije hlapivih spojeva u narančastom vinu u usporedbi s bijelim vinom.

**Ključne riječi:** bijelo vino, GC, HPLC, narančasto vino, Rajnski rizling

**Rad sadrži:** 35 stranica, 9 slika, 4 tablice, 15 literaturnih 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

**Rad predan:** rujna, 2018.

# 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 EFFECTS OF TECHNOLOGICAL PRODUCTION PROCEDURES ON THE CONTENT OF ORANGE WINE RAJNSKI RIZLING**

*Antonio Kolakušić, 6905/BT*

**Abstract:** In this paper domestic wines of the white variety Rajnski rizling from the Plešivica vineyard, Plešivica subregion, vintage 2017 were analysed. During the production of white wine, an enzyme pectinase was used prior to short maceration (60 hours), Fermaid E yeast food (inactivated yeast biomass) was added, assimilable nitrogen and thiamine, and it was inoculated with selected yeast *Saccharomyces cerevisiae* R-HST (Lalvin), giving wine freshness, body and complexity. During the production of orange wine of the same variety, the grapes were crushed and extracted directly into oak barrels where fermentation was carried out without selected yeasts for 30 days without temperature control and with stirring 4 times a day. After fermentation, a long maceration procedure lasting 6 months and 11 days has been carried out. The HPLC results indicate considerably higher concentrations of volatile compounds in the orange wine compared to white wine.

**Keywords:** GC, HPLC-method, Rhein riesling, orange wine, white wine

**Thesis contains:** 35 pages, 9 figure, 4 tables, 15 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

**Thesis delivered:** September, 2018

# Sadržaj

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO.....</b>	<b>2</b>
2.1. Proizvodnja bijelih vina.....	2
2.1.1. Berba grožđa.....	2
2.1.2. Runjenje-muljanje.....	2
2.1.3. Prešanje-tiještenje.....	2
2.1.4. Cijeđenje.....	3
2.1.5. Taloženje ili bistrenje mošta.....	3
2.1.6. Sumporenje.....	3
2.1.7. Fermentacija mošta.....	4
2.1.7.1. Spontana fermentacija.....	4
2.1.7.2. Vođena fermentacija.....	5
2.2. Proizvodnja narančastog vina.....	5
2.2.1. Maceracija u proizvodnji narančastih vina.....	6
2.3. Rajnski rizling.....	8
2.3.1. Povijest sorte Rajnski rizling.....	9
2.3.2. Botanička obilježja.....	9
2.3.3. Karakteristike vina sorte Rajnski rizling.....	10
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO.....</b>	<b>11</b>
3.1. Metode.....	11
3.1.1. Određivanje koncentracije šećera RS-metodom.....	11
3.1.2. Određivanje alkohola kemijskom metodom.....	11
3.1.3. Određivanje alkohola denzimetrijski.....	13
3.1.4. Određivanje sumporovog dioksida.....	14

3.1.5. Određivanje ukupnih kiselina u vinu.....	14
3.1.6. Određivanje hlapivih kiselina po polumikro postupku.....	15
3.1.7. Papirna kromatografija.....	16
3.1.8. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC).....	18
3.1.9. Plinska kromatografija (GC).....	19
3.1.9.1. Analiza hlapivih komponenti u vinu.....	19
3.1.10. Određivanje glicerola pomoću enzimskog kita.....	20
3.1.11. Procjena proizvodnje H <sub>2</sub> S naciepljivanjem na BiGGY agar.....	22
3.2. Materijali.....	23
3.2.1. Postupci u proizvodnji domaćeg vina sorte Rajnski rizling.....	24
3.3. Aparature.....	25
<b>4. REZULTATI.....</b>	<b>26</b>
4.1. Rezultati osnovne analize vina.....	26
4.1.1. Rezultati određivanja alkohola denzimetrijski.....	26
4.2. Rezultati papirne kromatografije.....	27
4.3. Rezultati HPLC-metode.....	28
4.4. Rezultati plinske kromatografije.....	29
4.5. Rezultati određivanja glicerola pomoću enzimskog kita.....	30
4.6. Rezultati rasta kvasaca na BiGGY agaru.....	30
<b>5. RASPRAVA.....</b>	<b>31</b>
<b>6. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>34</b>
<b>7. LITERATURA.....</b>	<b>35</b>

## **1.UVOD**

Vinom se smatra proizvod dobiven alkoholnim vrenjem mošta ili masulja od svježeg (ili prosušenog) grožđa plemenite vinove loze *Vitis vinifera* (Zakon o vinu, 1996). Osnovna podjela vina je prema boji i to na: crna, bijela i ružičasta vina, a koja se razlikuju po grožđu od kojeg su proizvedena, po tehnikama proizvodnje te po području uzgoja. Velik utjecaj na vino imaju tlo i klima, što znači da će neka sorta mijenjati svoju tipičnu aromu, u manjoj ili većoj mjeri, ovisno o području uzgoja.

Narančasto vino je relativno novi tip vina koji se proizvodi od bijelih sorti grožđa, ali tehnološkim postupcima karakterističnim za proizvodnju crnih vina. Uobičajena proizvodnja bijelih vina uključuje brzu preradu i odvajanje kožice i sjemenki grožđa od mošta koji ide na fermentaciju. Kožica i sjemenke sadrže tvari boje, fenole i tanine, koje su često nepoželjne u bijelim vinima, a ključne za boju, aromu i okus crnih vina (Anonimus 1, 2018). Produženim vremenom trajanja maceracije kožice i sjemenki grožđa, ekstrahira se više tvari boje zbog čega vino poprima karakterističnu narančastu boju koja se proteže od intenzivno žute ili zlatne boje, preko jantarne do narančasto smeđe ovisno o sorti grožđa i tehnološkim postupcima korištenim tijekom proizvodnje.

Plešivica je podregija regije kontinentna Hrvatska sa svojih pet vinogorja: Samobor, Plešivica-Okić, Ozalj, Sveta Jana i Krašič. Smatra se da su vinovu lozu u ove krajeve donjeli Tračani, a pretpostavlja se da su Iliri i Kelti, uz obronke Medvednice, i ovdje uzgajali vinovu lozu. Klimatske prilike Plešivice odgovaraju uzgoju vinove loze. Najtopliji mjesec u godini je srpanj, a jesen je obično toplija od proljeća. Najhladniji mjesec u godini je siječanj, kada niske temperature mogu uzrokovati smrzavanje pupova, ali to nije česta pojava (Anonimus 2, 2012).

U ovom radu analizirana su dva domaća vina bijele sorte Rajnski rizling iz vinogorja Plešivica, podregije Plešivica, berba 2017. godina, od čega je jedno vino proizvedeno tehnologijom proizvodnje bijelih vina, a drugo tehnologijom proizvodnje crnih vina, u cilju dobivanja novog tipa vina nazvanog narančasto ili oranž vino.



## **2. TEORIJSKI DIO**

## **2.1. Proizvodnja bijelih vina**

### **2.1.1. Berba grožđa**

Prerada grožđa u vino započinje berbom koja je presudna za senzorska svojstva i kvalitetu vina. Grožđe se bere kada bobica dosegne tehnološku zrelost. Točnije, kada omjer šećera i kiselina postigne određenu vrijednost koja ovisi o vrsti vina koja se proizvodi. Tijekom dana prije berbe vinogradar svakodnevno određuje količine šećera i kiselina prisutnih u grožđu, ali potrebno je pratiti i druge parametre kao što su: zdravstveno stanje trsa i grozda, odrvenjavanje peteljke grozda i vremenske prilike. Berba se obično provodi izjutra za vrijeme suhog i sunčanog dana. Ukoliko se bere za vrijeme kiše, može doći do ispiranja autohtone mikroflore što može negativno utjecati na proces fermentacije i kvalitetu krajnjeg proizvoda. Berba se može obavljati ručno ili pomoću strojeva s tim da je bolja ručna berba jer pokožica ostane manje narušena i sačuva se više soka iz bobica. Grozdovi se skupljaju u drvene ili plastične posude, bez sabijanja da ne dođe do gnječenja bobica i preranog istjecanja soka iz bobica. Nakon što je grožđe ubrano, bitno je u što kraćem vremenu (24 h) započeti daljnju obradu i spriječiti izlaganje grožđa zraku jer u suprotnom može doći do oksidacije tvari grožđa i smanjenja kvalitete vina.

### **2.1.2. Runjenje-muljanje**

Pri proizvodnji bijelih vina prvi postupak obrade grožđa je runjenje odnosno odvajanje bobica od peteljke. Odvajanjem peteljki od bobica sprječava se ekstrakcija pesticida, taninskih i drugih nepoželjnih tvari u mošt što pozitivno utječe na konačnu kvalitetu vina. Muljanje je gnječenje bobica s ciljem otvaranja bobica i oslobađanja soka ispod pokožice. Muljače rade na principu žljebastih ili krilnih valjaka između kojih se gnječe bobice. Kapacitet same muljače ovisi o promjeru valjaka i njihovoj brzini okretanja. Nakon runjenja i muljanja grožđa dobije se masulj koji se sastoji od tekuće faze (sok, mošt) i krute faze (peteljkovina, sjemenke, kožica, meso).

### **2.1.3. Prešanje-tiještenje**

Prešanje je postupak kojim se masulj podvrgava tlaku s ciljem odvajanja što više groždanog soka, to jest mošta od tropa ili krute faze masulja. Prešanje se odvija u dvije faze. Prva faza je prskanje bobica za oslobađanje samotoka iz sredine bobice, a druga faza je gnječenje bobica povećanim pritiskom za oslobađanje soka iz perifernih dijelova bobice bližih

kožici koji su siromašniji šećerima ali bogatiji polifenolima. Prešanje treba provesti što brže kako bi se smanjila oksidacija mošta zbog izloženosti zraku. Sam postupak prešanja može se provesti kontinuirano ili diskontinuirano. Prešanjem bez prekida može se obraditi veća količina masulja i dobiti veća količina mošta za fermentaciju, ali mošt koji se proizvede diskontinuiranim prešanjem je kvalitetniji zbog ograničene ekstrakcije polifenola.

#### **2.1.4. Cijeđenje**

Druga mogućnost odvajanja tekućeg od krutog dijela masulja je cijeđenje. Cijeđenje je nešto sporiji proces, može se provesti i bez upotrebe visokog tlaka stalnim pomicanjem masulja.

#### **2.1.5. Taloženje ili bistrenje mošta**

Prije same fermentacije mošta, mošt je potrebno izbistriti odnosno ukloniti većinu nepoželjnih zaostalih sastojaka iz mošta kao što su: čestice zemlje, dijelovi kože, sjemenke i slično. Taloženje obično traje 12 do 24 h tijekom kojih je poželjno i hladiti mošt budući da je taloženje uspješnije pri nižim temperaturama te se pri nižim temperaturama može primijeniti manja količina sumpora. Bistrenje ne treba biti preintenzivno jer se može dogoditi da u moštu ostane premala količina hranjivih tvari za kvasce što će kasnije uzrokovati probleme kod fermentacije ili razvoj nepoželjnih bakterija octene kiseline. Bistrenje se može provesti spontanom taloženjem čestica u moštu, ali brži i učinkovitiji postupak je taloženje u centrifugama ili pomoću vakuum filtera. Za bistrenje se mogu koristiti i enzimski preparati za učinkovitije taloženje pri višim temperaturama, a u slučajevima jako zaraženog grožđa ili u sušnim godinama mogu se koristiti i sredstva za bistrenje kao što je bentonit, aktivni ugljen ili drugi enološki preparati.

#### **2.1.6. Sumporenje**

Sumporenjem mošta ili vina, vrši se pozitivna selekcija mikrobne populacije, ubrzava se otapanje tvari boje iz grožđa i ubrzava taloženje negativno nabijenih čestica. Sumpor također djeluje i kao antiseptik i aktioksidans tako da vrši redukciju određenih spojeva i time snižava redoks potencijal mošta ili vina. Sumporenje može imati i negativne utjecaje koji dolaze do izražaja ukoliko se sumpor koristi nepravilno i u prevelikoj količini. U tom slučaju sumpor može onemogućiti provođenje malolaktičke fermentacije odnosno pretvorbu jabučne kiseline u mliječnu inhibicijom bakterija mliječne kiseline. Također, u prevelikoj količini sumpor ozrokuje neugodnu aromu i okus vina, a u krvi veže kisik i vitamin B1. Sumpor je još

uvijek nezamjenjiv u vinarstvu. Iako može imati negativne utjecaje na okus i aromu vina te na zdravlje onih koji konzumiraju to vino, pravilnom i pažljivom primjenom moguće je njegove negativne učinke svesti na minimum, istovremeno iskorištavajući njegova pozitivna svojstva.

Sumpor se koristi u obliku plinovitog SO<sub>2</sub> pomoću dozatora ili u obliku sumporaste kiseline (5%), ali najčešće se koristi u obliku kalijevog metabisulfita (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) poznatijeg pod nazivom vinobran u obliku praška. Potrebne količine sumpora ovise o zdravstvenom stanju i dozrelosti grožđa, temperaturi grožđa i mošta, kiselosti mošta (pH vrijednost), trenutku dodavanja sumpora i načinu miješanja nakon dodavanja. Sumporiti se može mošt, vino, grožđe prije prerade ili već trsovi vinove loze u vinogradu.

### **2.1.7. Fermentacija mošta**

Fermentacija ili vrenje je složeni proces pretvorbe šećera u etanol, ugljikov dioksid, sekundarne proizvode metabolizma mikroorganizama i toplinu. Prve dokaze o alkoholnoj fermentaciji i tome da su mikroorganizmi odgovorni za pretvaranje mošta u vino dao je Louis Pasteur još u devetnaestom stoljeću. Na tijek fermentacije utječu fizikalni i kemijski čimbenici. Od fizikalnih čimbenika jako je bitna temperatura fermentacije, osmotski tlak i tlak ugljikova dioksida te kontaktna površina kvašćevih stanica s moštom. Kemijski čimbenici koji utječu na fermentaciju su količina otopljenog kisika, količina sumpora, dušika, teških metala, alkohola, faktora rasta kvasaca te pesticida koji mogu inhibirati rast i rad stanica kvasca. Količina otopljenog kisika upočetku mora biti dovoljna za razmnožavanje stanica kvasca, a kasnije ograničena jer inače može doći do nepoželjne oksidacije sastojaka vina. Koncentracija kisika potrebno je kontrolirati prozračivanjem i umjerenim sumporenjem jer će koncentracije SO<sub>2</sub> više od 25 – 30 mgL<sup>-1</sup> inhibirati fermentaciju. Tijek fermentacije može se pratiti kušanjem vina, vreljnjačom, mjerenjem ostatka neprevrelog šećera i mjerenjem koncentracije nastalog alkohola.

#### **2.1.7.1. Spontana fermentacija**

U fermentaciji sudjeluje više vrsta mikroorganizama. Najčešće su to razni rodovi kvasaca, ali i bakterije mliječne kiseline, bakterije octene kiseline, a ponekad i bakterije iz rodova *Bacillus*, *Streptomyces* i *Clostridium*. Spontanu fermentaciju, bez inokulacije selekcioniranim kvascima, započinje kvasac *Kloeckera apiculata*. Ovaj kvasac čini i do 95% mikobne populacije svježega mošta, no zbog niske tolerancije na etanol i sumporov dioksid smjenjuju ga druge vrste. Kada količina etanola dosegne 4-5 volumnih postotaka, prevladava

kvasac *Torulopsis stellata*. To je okrugao, osmofilan i asporogen mikroorganizam koji podnosi koncentracije etanola do 10 volumnih postotaka kada ga nadvladavaju kvasci *Saccharomyces cerevisiae*. Ukoliko se želi proizvesti vino s postotkom alkohola višim od 16%, potrebno je koristiti vrste kvasca tolerantne na visoke količine etanola, a to je *Saccharomyces bayanus* koji podnosi koncentracije etanola i do 19 volumnih postotaka. Klasičan proces fermentacije može se podijeliti na dvije faze. Tijekom prve faze ili burnog vrenja velika je brzina fermentacije, mošt se jako zamuti jer nastaje puno mjehurića ugljikova dioksida zbog kojega se mošt i pjenu te se oslobađa toplina i raste temperatura mošta. Burno vrenje obično traje 6 – 15 dana. Slijedi tiho vrenje ili doviranje koje traje do 6 tjedana. Tijekom doviranja potrošena je većina šećera prisutnih u moštu, opada intenzitet fermentacije i ne nastaje velika količina CO<sub>2</sub> kao tijekom burnog vrenja. Na tijek fermentacije utječe više čimbenika od kojih je jedan od najvažnijih temperatura. Kvasci obično prestaju fermentirati pri temperaturama višim od 35 – 40 °C ili nižim od 10 °C. Optimalna temperatura je od 15 do 18 °C, a može se održavati različitim sustavima izmjenjivača topline izvedenih u obliku zmijastih ili paralelnih cijevi ili preljevanjem vode preko stijenki metalnih fermentora u kojima se odvija fermentacija. Fermentacija pri nižim temperaturama je sporija, ali i kvalitetnija jer pri visokim temperaturama može doći do isparavanja hlapivih kiselina koje poboljšavaju okus i aromu vina.

### **2.1.7.2. Vođena fermentacija**

Uz spontanu fermentaciju postoji i kontrolirana ili vođena fermentacija pri kojoj se na proces fermentacije može utjecati tako da od početka do kraja ona bude usmjerena u određenom pravcu. Za provedbu kontrolirane fermentacije potrebna su određena tehnička sredstva i uvjeti, a vođena fermentacija može biti fermentacija s hlađenjem, fermentacija "iznad četiri" i kontinuirana fermentacija.

## **2.2. Proizvodnja narančastog vina**

Narančasto vino spada u prema podjeli u novu boju, tzv. četvrtu boju vina. Ono se kao i bijelo vino, proizvodi od bijelih sorti grožđa, no to je ujedno i jedino što te dvije vrste vina imaju zajedničko. Glavno obilježje narančastog vina je njegova boja, koja može varirati od zlatne preko jantarne do bakrene nijanse (Slika 1). Vinifikacija narančastog vina u svojoj esenciji podrazumijeva i određenu dozu umjetnosti, što je razlog zašto neka narančasta vina, kao i vinari koji ih proizvode, uživaju kulturni status (Radeka i sur., 2008). Priča o narančastim vinima počinje u vinogradu. Grožđe se uzgaja uz minimalne intervencije i maksimalnu njegu.



**Slika 1.** Različite nijanse narančastih vina (Anonimus 3, 2018)

Kvaliteta je važnija od količine, te se vinari ponekad odlučuju i za tzv. zelenu berbu. Radi se o uklanjanju još zelenog (odakle i naziv) i nezrelog grožđa u cilju smanjenja prinosa, ali povećanja kvalitete preostalih grozdova. Ova praksa omogućuje biljci (trsu, čokotu) da više energije uloži u preostale grozdove, što rezultira zdravijim grožđem. Druga specifična praksa koja čini ključnu razliku u vinifikaciji narančastog vina je korištenje vlastitih kvasaca. Vinari mogu koristiti selekcionirane kvasce ili izolirati vlastite. S jedne strane, selekcionirani kvasci smanjuju rizik, a dodaju standardizirane karakteristike. S obzirom da se selekcionirani kvasci dobivaju od sorata Chardonnay i Sauvignon na kraju se događa da puno vina ima vrlo slične senzorne osobine. S druge strane, divlji kvasci su karakteristični za određeni vinograd i lokaciju te pomažu u kreiranju jedinstvenog okusa određenog zemljopisnim područjem. Predberbom, određene količine grožđa nekoliko dana prije stvarne berbe, pušta se da to grožđe spontano fermentira te se potiče rast kvasca koji je karakterističan za taj vinograd. Glavna značajka ove prakse je što omogućuje vinu da zadrži sortnost - glavne karakteristike dotične sorte grožđa, a mana je veći rizik da nešto pođe po zlu nego sa selekcioniranim kvascima. Maceracija i odležavanje su ključne faze u vinifikaciji narančastih vina (Lukić i sur., 2015).

### **2.2.1. Maceracija u proizvodnji narančastih vina**

Maceracija je proces u kojem je sok grožđa u dodiru s kožicom i sjemenkom bobice ne bi li došlo do ekstrakcije boje, okusa i voćnih tanina. Povijesno gledano, sva vina su se prije macerirala, jer je to prirodni način očuvanja vina, pa se može reći da se vinari vraćaju povijesnoj proizvodnji vina. Međutim, u današnjoj praksi je duga maceracija tipična za crno vino, tijekom kojeg ta vina dobivaju svoju boju i intenzitet okusa. Bijela su obično macerirana kratko, ako i uopće, od nekoliko sati pa do nekoliko dana. No, narančasta vina prolaze kroz iznimno dugo razdoblje maceracije zbog čega se često nazivaju crnim vinima u bijeloj boji. Taj proces maceracije može trajati i po nekoliko mjeseci, prije nego što se ostatak grožđa preša. U ovom trenutku umijeće vinifikacije čini veliku razliku. Nadalje sve ovisi o

individualnom stilu i kreativnosti vinara. Narančasta vina odležavaju u drvenim badnjevima ili bačvama, amforama koje se zatvaraju pčelinjim voskom i zakopavaju u zemlju do ruba, betonskim jajima, keramičkim ili glinenim posudama različitih veličina. Svaki materijal dodaje posebne značajke vinu. Vina odnjegovana u drvu ranije postaju elegantnija od onih odnjegovanih u amforama, koja pak zbog gline imaju specifičan okus (pomalo trpak). To će vino biti spremno za konzumaciju nakon 20 godina odležavanja, tek tada će postati elegantno i zaokruženo. Mogućnosti su beskonačne, ali jedno je sigurno – svako takvo vino ima specifičan karakter. Takva vina su jantarnih nijansi i izgledaju kao tekuće staro zlato u čaši. Na nosu otkrivaju intenzivne, ponekad i slatke mirise, ali su potpuno suha. U ustima su bogata i baršunastog okusa, odražavajući područje s kojeg dolaze (Radeka i sur., 2008).

Tehnologija maceracije bijelog grožđa stara je nekoliko tisuća godina, a potječe iz Gruzije, gdje se proizvode najpoznatije amfore odnosno „qvevri“ (kvevri), u kojima se provode dugotrajne maceracije grožđa i čuvanje vina. Kvevri su velike zemljane posude (800-3500 L) koje su izolirane pčelinjim voskom i najčešće ukopane u tlo ili ugrađene u podove vinskih podruma (Slika 2). Prije upotrebe posude se peru hladnom i toplom vodom i 10%-tnom vinskom ili limunskom kiselinom. Poželjno je i da se prije prve fermentacije amfora koristi više puta za pretakanje vina. Grožđe koje ulazi u amforu s ciljem proizvodnje vrhunskog vina trebalo bi biti malog prinosa po trsu (više šećera, ekstrakta i dr.), zdravo, dozrelo i iz ekološkog uzgoja. U amfori može fermentirati samo mošt, masulj ili masulj s peteljka. Maceracija grožđa se među proizvođačima poprilično razlikuje. Sve počinje izborom sorata, najčešće su to Chardonnay, Rajnski rizling, Sauvignon, Pinot sivi, ali i neke autohtone sorte, uključujući i Malvaziju istarsku, u različitim kupažama. Maceracija masulja se ne provodi nužno samo u amforama nego i u drugim vrstama posuda poput drvenih bačava različitog volumena i od različitog drva. Duljina trajanja maceracije je varijabilna, pa se kreće u rasponu od nekoliko dana do 6 i više mjeseci, a isto vrijedi za dozrijevanje vina u bačvama koje traje od nekoliko mjeseci do par godina. Ponekad slijedi i određeno vrijeme dozrijevanje vina u boci prije puštanja na tržište (Lukić i sur., 2015).



**Slika 2.** Qvevri ili kvevri (Anonimus 4, 2018)

Prednost ove tehnologije je sporija fermentacija, pri nižim temperaturama pri čemu je potrebna vreljnjača. Masulj se miješa nekoliko puta dnevno prvih mjesec dana, dok ne počne taloženje. Nakon fermentacije amfora se hermetički zatvara tj. stavlja se folija pa hrastov poklopac, a na kraju glina koju se mora održavati vlažnom ili vreća pijeska. Uobičajeno je držanje na talogu u trajanju 5 - 6 mjeseci. Nakon odvajanja od taloga i prešanja, vino se vraća u amfore ili velike drvene bačve, na dugo dozrijevanje (do 2 godine) uz povremeno miješanje. U Gruziji se vino drži u amfori oko 4 godine, uz redovno pretakanje, sumporenje i čuvanje bez zraka. Opisanu proizvodnju 90.-tih godina prošlog stoljeća su potaknuli talijanski proizvođači iz regije Friuli Venezia Giulia. Tako je Oslavje središte vinara slovenskog podrijetla u Italiji koji proizvode svjetski poznata „prirodna“ vina. Proizvodnja se iz Italije (Gravner, Radikon) proširila i na susjedne regije u Sloveniji (Movia), Hrvatskoj (Kabola, Roxanich, Clai, Tomac, Krauthaker), a postoji i u Francuskoj, Njemačkoj, Novom Zelandu i Kaliforniji.

### 2.3. Rajnski rizling

Rizling se, za razliku od nekih drugih sorti kao na primjer Chardonnay, ne da uzgajati baš u svakom vinogradu (Slika 3). Na relativno hladnoj klimi daje izuzetno izražajna, lagana i elegantna voćna vina koja zbog svoje kiselosti mogu starjeti godinama i još uvijek zadržati svoju svježinu. Ova vina obuhvaćaju širok spektar slatkoće, počevši od modernih, jako suhih rizlinga do najslađeg Trockenberenauslese koji se radi od izbornom berbom odabranih suhih bobica napadnutih plemenitom plijesni *Botrytis cinerea*. Rizlinzi također sadržavaju raznolikije sadržaje alkohola od bilo koje druge sorte. Klasični poluslatki njemački stilovi sadrže 8 ili manje vol. % alkohola, dok nova suha vina imaju od 12 – 14 vol. % alkohola.



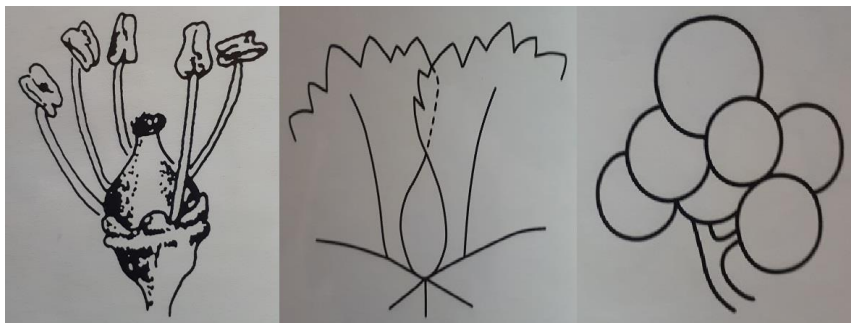
**Slika 3.** Rajnski rizling (Mirošević i Turković, 2003)



### 2.3.1. Povijest sorte Rajnski rizling

Smatra se da sorta dolazi iz doline Rajne u Njemačkoj iako postoje sumnje da sorta potiče iz Austrije, jer postoje podaci da je 1301. godine u blizini Wachaua postojao vinograd zvan Ritzling. Navodno su kvalitete rajnskog rizlinga otkrivene slučajno. Naime Benediktinci, koji su krajem 18. stoljeća u blizini Johannisberga uzgajali ovu sortu, slali su grožđe stručnjaku u Fuldu i čekali službeno dopuštenje za berbu. 1775. godine dopuštenje je kasnilo iz nepoznatih razloga, grožđe je već bilo prezrelo i djelomično zahvaćeno plemenitom plijesni. Redovnici su bili oduševljeni ovom kasnom berbom (Anonimus 5, 2014). Danas se Rajnski rizling uzgaja u cijeloj Njemačkoj, a posebice u područjima Mosel-Saar-Ruwer, Rheingau, Nahe, Rheinhessen i Pfalz; Elzasu, Austriji, osobito Wachau te Australiji, posebno u dolinama Eden i Clare (Simon, 2004).

### 2.3.2. Botanička obilježja



**Slika 4.** Botanička obilježja sorte Rajnski rizling (Mirošević i Turković, 2003)

Na Slici 4. prikazana su botanička obilježja sorte Rajnski rizling (Mirošević i Turković, 2003). Sorta je dosta homogena, razlika između tipova odnosi se na veličinu grozda o organoleptička svojstva proizvoda.

Mladi izboj: vršak je otvoren, vunast, bjelkast, vršni listići su otvoreni i bjelkasti.

List: srednje velik, okruglast i skoro cijeli, plojka debela, valovita, tamno zelena, nervi su na osnovi crveno-ljubičasti.

Grozđ: malen, zbijen, tup; bobica srednja ili mala, okrugla, jantarno-žute boje; kožica čvrsta; meso sočno; okus umjereno aromatičan

Agrobiološka svojstva: sorta je dosta bujna, kretanje vegetacije u srednje doba; mladica je debela, jaka; vegetacija je često iznad optimalne i može izazvati rehljavost. Traži brežuljkaste prozirne položaje, dobru ekspoziciju i lagana tla.

Uzgojni oblik i rezidba: dosta je prikladna za sisteme uzgoja umjereno veće ekspanzije i za umjereno dugu rezidbu.

Rodnost: rodnost je srednja, dosta redovita, ali sorta je sklona osipanju i rehljavosti.

Berba: dozrijeva u srednjoj epohi; mehanizirana berba je otežana.

Otpornost na bolesti: u nepovoljnim uvjetima sorta je sklona rehljanju, zahtijeva dobre položaje zbog sigurnosti od botritisa.

Organoleptička ocjena: vino je izvrsne kvalitete, slamnato-žute boje sa zelenkastim odsjajem, suho, aromatično i mirisno svjež.

### **2.3.3. Karakteristike vina sorte Rajnski rizling**

Karakteristični okusi njemačkih rizlinga kreću se od cvjetnih nota, svježih zelenih jabuka te brusnica (posebice u regiji oko rijeke Mosell) do zrelog voća (breskve i marelice) i začina u toplijem Pfalzu pa sve do limunastih, mineralnih nota u regiji Rheingau. Slatka vina često imaju medenaste arome, a zrela njemačka rizlingova vina imaju prepoznatljiv miris benzina. Elzaški rizlinzi često imaju jabučan, metalan, mineralan karakter. Australski rizlinzi su ukusni i mirišu na limetu te s godinama poprimaju aromu kruha prepečenca. Također iz Australije, ali i Novog Zelanda dolaze dobra vina oplemenjena botritisom. Kalifornija daje slatke rizlinge kasne berbe, a Kanada jako koncentrirana slatka ledena vina (Simon, 2004).

Pleševički Rajnski rizling nedvojbeno je jedno od najboljih bijelih vina ne samo sjeverozapadne Hrvatske, nego i čitavog vinogradarskog rajona kontinentalne Hrvatske. Prekrasne je zelenkasto-žute boje, plemenite i nježne arome koju prati fini buke koji podsjeća na miris ljubice. Katkad sadrži manje količine neprevrela šećera što upotpunjuje sklad njegovih sastojaka. Sadrži 11,5 do 12,0 vol. % alkohola te 6,5 do 7,0 grama ukupnih kiselina. Servira se rashlađeno na temperaturu od oko 10° C uz jela od bijelog mesa i kvalitetne morske i slatkovodne ribe (Fazinić i Milat, 1994).

### **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  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Sve se dobro izmiješa i doda se 2 mL škroba (1%-tna otopina) te titrira s 0,1 M  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  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  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  utrošeni za slijepu probu,

b = mL 0,1 M  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  utrošeni za uzorak,

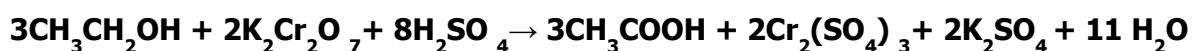
c = mL 0,1 M  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  utrošeni za kontrolu (glukoza test),

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 kiseloj 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 podljeđnje količine joda.

### **Izračunavanje količine alkohola:**

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

gdje je a = utrošak 0,1 M otopine  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .

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:**

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

$\gamma$  – 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 očitava 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 dodati 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 titirati s 0,01 M NaOH. Utrošene mL 0,01 M NaOH treba pomnožiti s 32 da bi se dobili mg slobodnog  $\text{SO}_2$  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  $\text{SO}_2$  u jednoj litri vina.

#### **Određivanje ukupnog sumporovog dioksida:**

Ukupni  $\text{SO}_2$  dobije se zbrajanjem vrijednosti slobodnog i vezanog  $\text{SO}_2$ .

#### **Priprema indikatora u otopini $\text{H}_2\text{O}_2$ :**

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 CO<sub>2</sub>, a potom se dobro ohladi, te titrira s 0,1 M NaOH uz pH – metar. NaOH se dodaje sve do pH 7.

### **Izračun:**

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

gdje je:

y = 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% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. 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:

$\gamma$  = 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. Papirna kromatografaija**

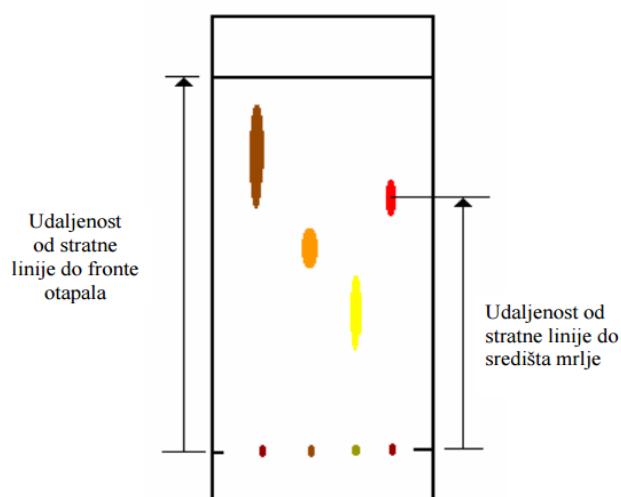
#### **Postupak:**

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 od 1.5 cm od ruba papira, na koje se nanosi po 50  $\mu$ L smjese standarda (sadrži po 3 g/L octene, vinske, mliječne i jabučne kiseline), odnosno uzorka vina (Slika 5). Nanosi se kap po kap, uz naknadno sušenje vrućim zrakom, točnije fenom, kako promjer nanosenih 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 5.** 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 razvijač 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 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-10AD VP), otplinjača (DGU-14A), injektora (SIL-10AD VP), grijača kolone (CTO-10AD VP), analitičke kolone (s predkolonom), detektora indeksa loma (RID-10A), detektora s nizom dioda (SPD-M10A), modula za kontrolu sustava (SCL-10A VP) i računalnog programa za kromatografiju (CLASS-VP v6.10) (Slika 6).



**Slika 6.** Shimadzu HPLC uređaj (Anonimus 6, 2018)

#### **Postupak:**

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

10 puta razrijeđen uzorak – 200  $\mu$ L vina + 500  $\mu$ L destilirane vode + 500  $\mu$ L  $ZnSO_4$

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<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, a rezultate detektira RID detektor.

### **3.1.9. Plinska kromatografija (GC)**

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 koeficijenta raspodjele pojedinih njegovih komponenata.

#### **3.1.9.1. Analiza hlapivih komponenti u vinu**

##### **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 termostiranja: 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

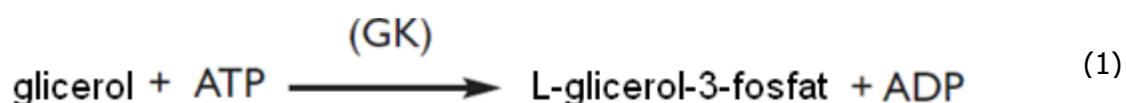
Temperatura detektora: 250 °C

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:**

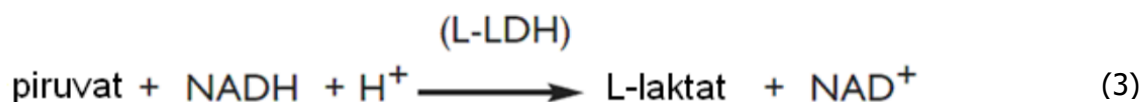
Glicerol se fosforilira pomoću adenozin-5'-trifosfata (ATP) u L-glicerol-3-fosfat reakcijom koju katalizira glicerokinaza (GK) (1).



Adenozin-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<sup>+</sup> (reakcija 3).



Pri 340 nm mjeri se smanjenje apsorbancije uzrokovano potrošnjom NADH. Nastali NAD<sup>+</sup> 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 pripreme, 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.

<b>Pipetirati u kivetu</b>	<b>Slijepa proba</b>	<b>Uzorak</b>
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:

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

gdje je:

c - koncentracija glicerola [g/L]

V - konačni volumen [mL] = 2,34 mL

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

$\epsilon$  - ekstinkcijski koeficijent NADH pri 340 nM = 6300 [l mol<sup>-1</sup> · cm<sup>-1</sup>]

d- put svjetlosti (1 cm)

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

### 3.1.11. Procjena proizvodnje H<sub>2</sub>S naciepljivanjem na BiGGY agar

Princip: Uočena reakcija temelji se na sposobnosti kvasaca da reduciraju bizmut sulfit koji se nalazi u podlozi u smeđe-crni bizmut sulfid. Kvasci koji mogu proizvesti puno H<sub>2</sub>S bit će tamnije obojeni. Istodobno bizmut sulfit sprječava rast većine pratećih bakterija, dajući visok stupanj selektivnosti medija.

Podloga: BiGGY agar (Bizmut sulfite Glucose Glycine Yeast agar) koristi se u medicini za izolaciju i identifikaciju kvasaca iz roda *Candida*, osobito *C. albicans*, *C. krusei* i *C. tropicalis*. Ova podloga se može koristiti u enologiji za procjnjivanje potencijala nekog kvasca za proizvodnju H<sub>2</sub>S. Sastav BiGGY agara: 1,0 g/L kvašćevog ekstrakta; 10,0 g/L glicina, 10,0 g/L glukoze; 3,0 g/L natrijeva sulfita; 5,0 g/L bizmut amonij citrata; 13,0 g/L agara.

Postupak: Kvasce sa kosih SA podloga ili kvasce suspendirane u vodi naciepiti pomoću eze kvadratnom metodom na Petrijeve zdjelice s BiGGY agarom i termostatirati okrenute naopačke 72 sata pri 28 °C. Pregledavanjem kvasaca poraslih na BiGGY agaru, utvrditi razliku u boji kultura nastalu zbog različitih koncentracija H<sub>2</sub>S koje proizvodi pojedini kvasac.

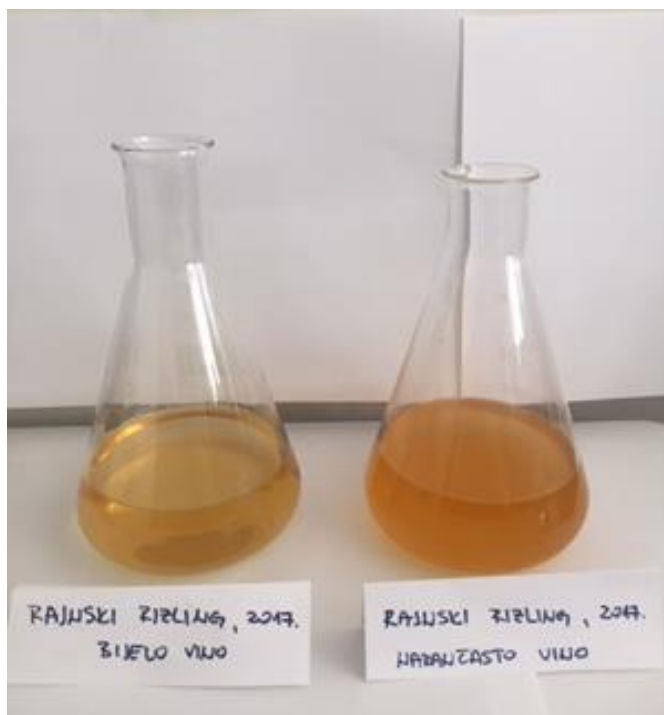
### 3.2. Materijali

- 0,1 M NaOH
  - 0,01 M NaOH
  - 1M NaOH
  - 25 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>
  - H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
  - 96% alkohol
  - 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
  - 20%-tni KI
  - K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (33,834 g/L)
  - koncentrirana H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
  - 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
    - metilno crvenilo
    - bromfenol-plavo
  - octena kiselina
  - n – butanol
  - Standard za papirnu kromatografiju (po 3 g/L jabučne, vinske, mliječne i octene kiseline)
  - 0,1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>
  - 10% otopina ZnSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O
- enzimski kit za određivanje glicerola K\_GCROL (Megazyme, Irska)



### 3.2.1. Postupci u proizvodnja domaćeg vina sorte Rajnski rizling

Vina podvrgnuta analizi su vina sorte Rajnski rizling iz vinograda, s vinogorja Plešivica, podregija Plešivica, berba 2017. godine. Tijekom proizvodnje običnog bijelog vina nije dodavan slador (šećer) niti inokulum kvasca, a tijekom proizvodnje narančastog vina nije dodavan slador niti je mošt inokuliran komercijalnim kvascima te je provedena duga maceracija. Tijekom proizvodnje bijelog vina sorte Rajnski rizling korišten je enzim pektinaza prije kratke maceracije (60 sati). U mošt je dodana Fermaid E hrana za kvasce na bazi inaktivnih stanica kvasca, asimilabilnog dušika i tiamina. Mošt je inokuliran selekcioniranim kvascima soja *Saccharomyces cerevisiae* R-HST (Lalvin). Prilikom proizvodnje narančastog vina iste sorte, grožđe je muljano i runjano izravno u hrastove bačve u kojima je provedena fermentacija bez selekcioniranih kvasaca u trajanju od 30 dana bez kontrole temperature i uz miješanje 4 puta dnevno. Nakon fermentacije proveden je postupak duge maceracije u trajanju od 6 mjeseci i 11 dana. Na slici 7. prikazana su analizirana vina.



**Slika 7.** Bijelo i narančasto vino Rajnski rizling, godina proizvodnje 2017.

### 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 papirnate kromatografije
- HPLC uređaj, Shimadzu CLASS-VP LC-10A<sub>VP</sub> (Shimadzu, Kyoto, Japan)
- GC uređaj, PE Autosystem XL GC with Headspace Sampler (HS 40XL)
- Spektrofotometar Varian Cary 3 UV/VIS Spectrophotometer, SAD

## **4. REZULTAT**

## 4.1. Rezultati osnovne analize vina

Tijekom analize domaćeg bijelog i narančastog vina sorte Rajnski rizling, godina proizvodnje 2017, rađene su tri paralele radi statističke pouzdanosti, a dobiveni rezultati prikazani su kao srednje vrijednosti u Tablici 1.

**Tablica 1.** Rezultati osnovne analize vina.

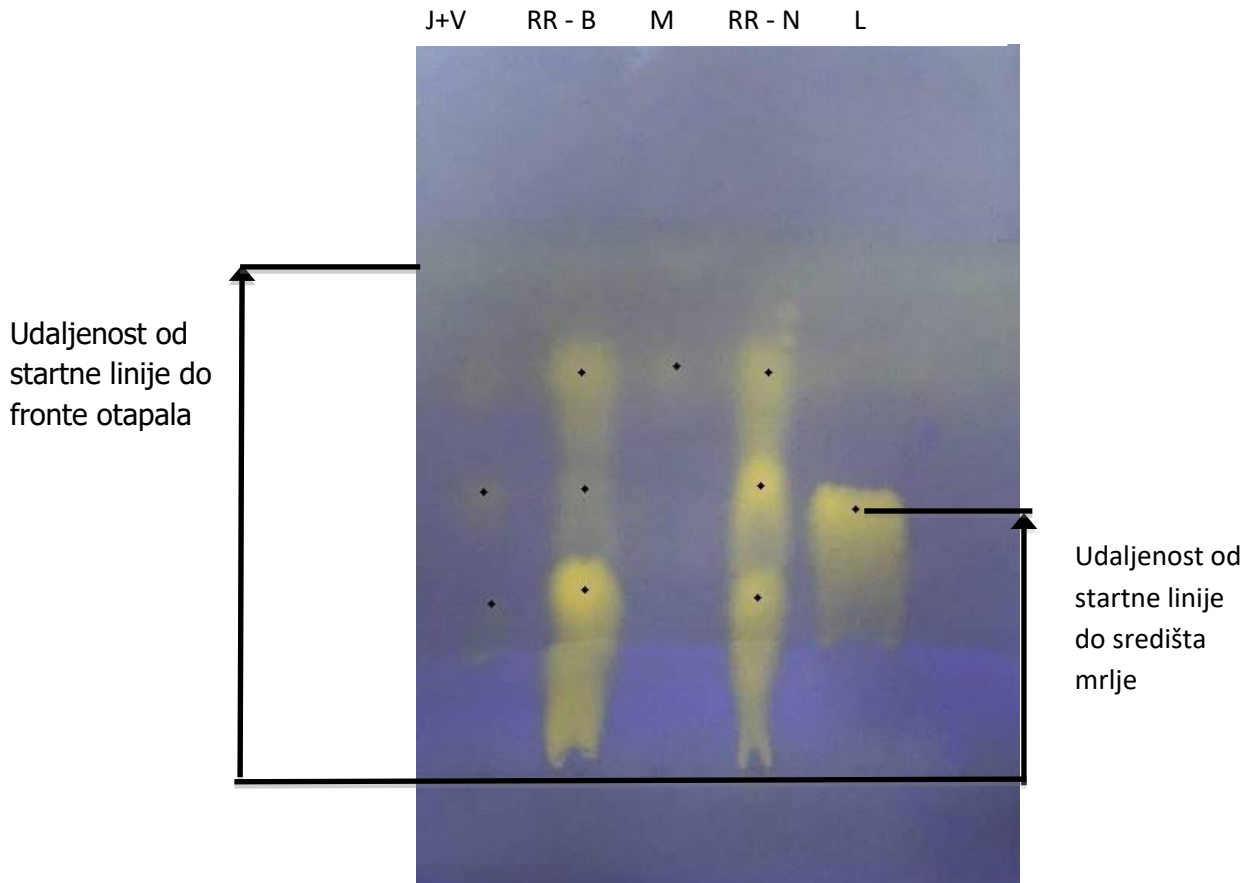
	<b>Reducirajuće supstance [g/L]</b>	<b>Volumni udio etanola [% vol]</b>	<b>pH</b>	<b>Ukupne kiseline [g/L]</b>	<b>Hlapive kiseline [g/L]</b>	<b>SO<sub>2</sub> slobodni [mg/L]</b>	<b>SO<sub>2</sub> vezani [mg/L]</b>	<b>SO<sub>2</sub> ukupni [mg/L]</b>
<b>Bijelo vino</b>	1,50	11,75	3,01	5,40	0,42	11,20	67,20	78,40
<b>Narančasto vino</b>	2,81	12,01	3,06	5,61	0,48	6,40	6,40	12,80

### 4.1.1. Rezultat određivanja alkohola denzimetrijski

Analizirano bijelo vino Rajnski rizling sadržavalo je 10,84 vol. % alkohola, a narančasto vino sadržavalo je 11,43 vol. % alkohola.

## 4.2. Rezultati papirne kromatografije

Analizirano bijelo vino sadrži: vinsku kiselinu ( $R_f = 0,26$ ), jabučnu kiselinu ( $R_f = 0,486$ ) i mliječnu kiselinu ( $R_f = 0,774$ ). Narančasto vino sadrži: vinsku kiselinu ( $R_f = 0,22$ ), jabučnu kiselinu ( $R_f = 0,489$ ), mliječnu kiselinu ( $R_f = 0,774$ ), kao što je prikazano na Slici 8.



**Slika 8.** Kromatogram (J - jabučna kiselina; V - vinska kiselina; RR-B - bijelo vino Rajnski rizling; M - mliječna kiselina; RR-N - narančasto vino Rajnski rizling; L - limunska kiselina)

### 4.3. Rezultati dobiveni tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC)

U Tablici 2. prikazani su rezultati za glukozu, glicerol, mliječnu kiselinu, octenu kiselinu, vinsku kiselinu, jabučnu kiselinu i etanol nakon provedene tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC) za analizirana vina sorte Rajnski rizling (berba 2017.). Analizirani uzorci razrijeđeni su u omjeru 1:10.

**Tablica 2.** Prikaz rezultata za vino Rajnski rizling na HPLC uređaju.

	<i><b>Bijelo vino</b></i>	<i><b>Narančasto vino</b></i>
$\gamma$ glukoza [g/L]	0,12	0,29
$\gamma$ glicerol [g/L]	4,49	4,21
$\gamma$ mliječna kiselina [g/L]	0,00	0,54
$\gamma$ octena kiselina [g/L]	0,19	0,14
$\gamma$ vinska kiselina [g/L]	6,61	8,35
$\gamma$ jabučna kiselina [g/L]	3,70	1,96
$\phi$ etanol [%]	11,64	13,48

#### 4.4. Rezultati plinske kromatografije

U Tablici 3. se nalaze rezultati analize provedene pomoću plinske kromatografije. Tablica sadrži retencijska vremena i koncentracije nekih hlapivih spojeva prisutnih u vinu. Interni standard *N*-butanol koji se koristio u ovoj metodi također je vidljiv u Tablici 3. Rezultati su izraženi kao srednje vrijednosti. Tijekom analize provedene su tri paralele radi bolje statističke pouzdanosti.

**Tablica 3.** Retencijska vremena i koncentracije nekih hlapivih spojeva prisutnih u analiziranom vinu određene HS-GC-FID metodom.

Spoj	$t_R$ /min	Narančasto vino	Bijelo vino
		$\gamma$ (mg L <sup>-1</sup> )	$\gamma$ (mg L <sup>-1</sup> )
acetaldehid	4,14	88,35	43,79
propan-1-ol	6,37	52,12	34,92
butan-2-ol	7,46	n.d.	n.d.
etil-acetat	7,71	153,63	86,28
2-metil-propan-1-ol ( <i>i</i> -propanol)	8,23	108,14	61,23
<i>N</i> -butanol (IS)	9,51	-	-
3-metil-butan-1-ol	12,26	367,54	221,88
2-metil-butan-1-ol	12,43	101,74	51,43
Etil-butirat	14,49	3,86	0,70
isoamil acetat	16,80	0,36	1,73
etil heksanoat	19,95	1,29	0,89
etil-oktanoat	24,25	0,00*	0,73
2-feniletilacetat	26,11	n.d.	n.d.

\*ispod LOD; n.d. nije detektirano; IS = interni standard

#### 4.5. Rezultati određivanja glicerola pomoću enzimskog kita

Koncentracija glicerola u vinu određena je pomoću enzimskog kita. Rezultat je prikazan kao srednja vrijednost triju paralela (Tablica 4.).

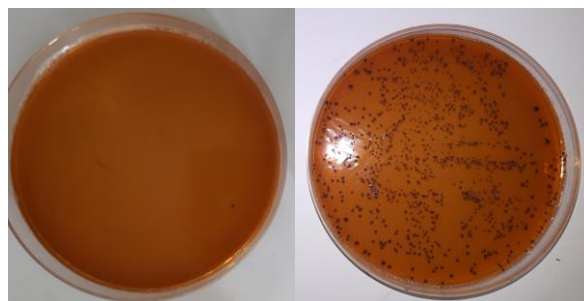
**Tablica 4.** Koncentracija glicerola u vinima (N-narančasto vino, B-bijelo vino).

Uzorak	C <sub>g</sub> (g/L) razrjeđenje 1:20	20xC <sub>g</sub> (g/L)	Srednja vrijednost C <sub>g</sub> (g/L)
<b>N1</b>	0,2729	5,358	5,219
<b>N2</b>	0,2975	5,130	
<b>N3</b>	0,2896	3,170	
<b>B1</b>	0,2538	5,172	5,125
<b>B2</b>	0,2642	5,108	
<b>B3</b>	0,2611	5,096	

Masena koncentracija glicerola u narančastom vinu iznosi 5,22 g/L, dok za bijelo vino iznosi 5,13 g/L, što je u skladu s Pravilnikom o vinu (2005).

#### 4.6. Rezultati rasta kvasaca na BiGGY agaru

U Petrijevoj zdjelici s BiGGY agarom, a naciepljenoj narančastim vinom došlo je do porasta kolonija divljih sojeva kvasaca koji mogu reducirati bizmut sulfid iz podloge što se očituje pojavom tamnije obojenih kolonija kvasaca (Slika 9).



**Slika 9.** Petrijeve zdjelice bez kolonija (bijelo vino - lijeva slika) i s kolonijama divljih sojeva kvasaca narančasto vino - desna slika)



## **5. RASPRAVA**

U ovom radu provedena je analiza narančastog i bijelog vina sorte Rajnski rizling iz podregije Plešivica, vinogorje Plešivica-Okić, berba 2017. godina.

Prema pravilniku o vinu (NN 96/96), Članak 39., 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.

Najmanji sadržaj stvarnog alkohola u vinu, prema članku 39. Pravilnika o vinu, 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

Pravilnikom o proizvodnji vina Ministarstva poljoprivrede i šumarstva, člankom 12, 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;
- slatko vino više od 50 g/L.

Iznimno, vino s visokom ukupnom kiselosti može imati i veću količinu neprevrela šećera od propisane za:

- suho vino: ukupna kiselost uvećana za 2 g/L, ali ne više od 9 g/L;
- polusuho vino: ukupna kiselost uvećana za 10 g/L, ali ne više za 18 g/L.

Člankom 13 istog pravilnika, definirano je da ukupna kiselost vina u prodaji mora biti najmanje 4 g/L, izraženo kao vinska kiselina, a najviše do 14 g/L.

U članku 7. pravilnika o proizvodnji vina definirana je najviša dozvoljena hlapiva kiselost, izražena kao octena kiselina, za pojedine kategorije i to:

- 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 ukupne alkoholne jakosti veće od 13 vol%.

Ukupni sadržaj sumporovog 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 46. vino u prometu mora sadržavati najmanje 5,0 g/L glicerola.

Prema Pravilniku o proizvodnji vina (NN 96/96), oba analizirana vina pripadaju kategoriji suhих vina, jer sadrže manje od 4 g/L neprevrelog šećera. Ukupna kiselost propisna člankom 13. istog pravilnika je u propisanom intervalu 4 – 14 g/L kiseline izraženo na vinsku kiselinu, te hlapiva kiselost, izražena kao octena kiselina, ne prelazi granicu od 1 g/L propisanu za bijela vina. Sadržajem alkohola određenog kemijski, denzimetrijski i HPLC-om oba vina odgovaraju parametrima propisanim Pravilnikom o vinu za zonu proizvodnje B kojoj pripada podregija Plešivica. Količine sumpora u vinima odgovaraju maksimalno propisanim vrijednostima. Koncentracija glicerola određena enzimskim kitom u oba vina zadovoljava prema Pravilniku propisane vrijednosti, dok je neznatno odstupanje u propisanim granicama određeno pomoću HPLC-uređaja, a što se može pripisati grešci prilikom razrjeđivanja uzoraka i pipetiranja. Na BiGGY agaru potvrđena je prisutnost divljih kolonija kvasaca u Petrijevoj zdjelici nacjepljenoj narančastim vinom.

Analiza hlapivih spojeva vina pokazala je, plinskom kromatografijom, prisutnost "viših" alkohola, aldehida i estera, odnosno spojeve alkoholne fermentacije. Detektirani su "viši" alkoholi u oba analizirana vina: 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 3-metil-1-butanol (367,54 mg/L – narančasto; 221,88 mg/L – bijelo) i 2-metil-1-butanol. Butan-2-ol nije detektiran u uzorcima. Prisutnost viših alkohola izrazito doprinosi aromi vina.

Od aldehida je detektiran acetaldehid u visokoj koncentraciji, koji je ujedno i najzastupljeniji aldehyd u vinu, a daje vinu miris po kiselim i zelenim jabukama.

Karakteristični esterski spojevi za sortu Rajnski rizling su etil-acetat i izoamil-acetat, koji joj daju izrazito prijatan, egzotično-voćni okus ili okus po začinskom bilju, s izraženom pitkošću i svježinom. Etil-acetat je u visokoj koncentraciji prisutan (153,63 mg/L) u narančastom vinu, dok se bijelom vinu nalazi u koncentraciji od 86,26 mg/L, što je skoro dva puta niža količina. Prisutan je i izoamil-acetat, dok su ostali esteri bili prisutni u znatno nižim koncentracijama. Etil-butirat je također detektiran u oba vina 3,86 mg/L (narančasto) i 0,70 mg/L (bijelo). U bijelom vinu je detektiran etil-oktanoat (0,73 mg/L), dok ga u narančastom nije bilo.

Kao i u radu Lukić i suradnika (2015) narančasto vino sadržavalo je veće koncentracije detektiranih viših alkohola, etila acetata i estera, pa je boja vina bila uslijed provedene maceracije i intenzivnija.

## **6. ZAKLJUČAK**

1. Rezultati kemijske analize bijelog i narančastog vina sorte Rajnski rizling (berba 2017.) podregije Plešivica, vinogorja Plešivica-Okčić bile su granicama propisane Pravilnikom o vinu (1996).
2. Oba analizirana vina mogu se svrstati u kategoriju suhих vina.
3. Primjenjenim metodama (papirna kromatografija i HPLC) dokazana je prisutnost vinske, jabučne i mliječne kiseline, pa se može zaključiti da se u oba vina odvila djelomična spontana jabučno – mliječna fermentacija.
4. Pomoću enzimskog kita utvrđena je koncentracija glicerola 5,13 g/L (bijelo), tj. 5,22 g/L (narančasto) što odgovara zakonski propisanom minimumu od 5,0 g/L.
5. U narančastom vinu određeni „viši“ alkoholi, esteri i acetaldehid bili su u znatno većim koncentracijama nego u bijelom vinu, što je rezultat dugog postupka maceracije i niže temperature fermentacije.

## **7. LITERATURA**

- Anonimus 1, (2013) <http://www.gospodarski.hr/Publication/2013/17/naranasto-vino/7860#.W4tkVUzaUI>, pristupljeno 26. 8. 2018.
- Anonimus 2, (2012) <http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=Pl%C5%A1ivica>, pristupljeno 27. 8. 2018.
- Anonimus 3, (2018) <http://www.vinopedia.hr>, pristupljeno 27. 8. 2018.
- Anonimus 4, (2018) <https://www.pinterest.com/pin/453034043743892027/>, pristupljeno 26. 8. 2018.
- Anonimus 5, (2014) <http://www.vinarija-safran.hr/rizling.html>, pristupljeno 27. 8. 2018.
- Anonimus 6, (2018) <http://www.spectralabsci.com/Products/Default.aspx?productId=242&categoryId=11>, pristupljeno 5. 9. 2018.
- Graf, S. (2017) Making orange wine – field notes on the world. (<https://medium.com/field-notes-on-the-world/making-orange-wine-8514e1cd7773>), pristupljeno 25.8.2018.
- Fazinić, N., Milat, V. (1994) Hrvatska vina, Mladinska knjiga, Zagreb, Hrvatska.
- Lukić, I., Jedrejčić, N., Kovačević Ganić, K., Staver, M., Peršurić, Đ. (2015) Phenolic and aroma composition of white wines produced by prolonged maceration and maturation in wooden barrels. *Food Technol. Biotechnol.*, 53(4), 407-418.
- Mirošević, N., Turković, Z. (2003) Ampelografski atlas, 1. izd., Golden marketing - Tehnička knjiga, Zagreb, Hrvatska.
- Pravilnik o vinu (1996) *Narodne novine* **96**, (NN 096/1996).
- Pravilnik o proizvodnji vina (2005) *Narodne novine* **2**, (NN 2/2005).
- Radeka, S., Herjavec, S., Peršurić, Đ., Lukić, I., Sladonja, B. (2008) Effect of different maceration treatments on free and bound varietal aroma compounds in wine of *Vitis vinifera* L. cv. Malvazija istarska bijela. *Food Technol. Biotechnol.*, 46(1), 86-92.
- Simon, J. (2004) Velika knjiga o vinu, Profil International, Zagreb, Hrvatska.
- Zakon o vinu (2003) *Narodne novine* **96**, (NN 96/2003).



## 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.*

Antonio Kolubasić

Ime i prezime studenta